

## EFFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE ASPIRINA SOBRE EL PRECONDICIONAMIENTO CONTRA EL ATONTAMIENTO EN OVEJAS

ELENA C. LASCANO, HECTOR F. DEL VALLE, JORGE A. NEGRONI

*Departamento de Fisiología, Farmacología y Bioquímica, Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina*

**Resumen** Se ha postulado que los antiinflamatorios no esteroideos que actúan inhibiendo la ciclooxigenasa (COX) podrían tener efectos nocivos sobre el corazón. Recientemente se ha demostrado que los inhibidores de la COX-2 bloquean la protección por acondicionamiento tardío (PT). Se desconoce sin embargo, el efecto que pudiera tener la aspirina, el antiinflamatorio no esteroide más ampliamente utilizado en la clínica, sobre el PT en mamíferos grandes. La aspirina actúa inhibiendo las dos isoenzimas de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), siendo empleada en dosis altas como droga antiinflamatoria y en dosis bajas como agente antitrombótico. El propósito de este estudio fue analizar qué efecto tienen distintas dosis de aspirina sobre la protección del PT contra el atontamiento y las arritmias en ovejas conscientes. Se consideraron 5 grupos; control (C): 12 min de isquemia (I) y 2 hr de reperfusión (R); PT: 6 períodos de 5 min I-5 min R, 24 hr antes de la I de 12 min, y tres grupos igual que PT, pero con 1.5 (PTA1.5), 8 (PTA8) y 20 (PTA20) mg/kg de aspirina respectivamente, administrados 10 min antes de la primera I de acondicionamiento. Los resultados demostraron que la dosis antiinflamatoria de aspirina (20 mg/kg) fue capaz de inhibir el PT contra el atontamiento (C vs PTA20, NS), mientras que las dosis bajas (1.5 mg/kg) e intermedia (8 mg/kg) no afectaron la protección (C vs PT, PTA1.5 y PTA8,  $p < 0.01$ ). Asimismo, ninguna de las tres dosis alteró la protección contra las arritmias. Conclusión: Las dosis antiagregantes plaquetarias de aspirina no producirían riesgo de inhibir la protección contra el atontamiento por PT, mientras que dosis antiinflamatorias elevadas serían perjudiciales. Como la aspirina se administró antes de los períodos acondicionantes, la inhibición de la cardioprotección sugiere que la COX actúa como mecanismo gatillador del PT contra el atontamiento.

**Palabras clave:** acondicionamiento tardío, aspirina, atontamiento, arritmias

**Abstract** *Effect of different doses of aspirin on preconditioning against stunning in conscious sheep.*

Non-steroid antiinflammatory drugs, inhibitors of cyclooxygenase (COX), have been postulated to have deleterious effects on the heart. Recently, COX-2 inhibitors have also been found to block late preconditioning (LP) protection. Aspirin is the most widely clinically used non-steroid antiinflammatory drug; yet its effect on LP in big mammals has not been determined. It inhibits the two cyclooxygenase isoenzymes (COX-1 and COX-2), at high doses being used as an antiinflammatory drug and at low doses as an antithrombotic agent. The goal of this study was thus, to analyse the effect of different aspirin doses on LP protection against stunning and arrhythmias in a conscious sheep model. The animals were divided in 5 groups: control (C): 12 min ischemia (I)-2 hr reperfusion (R); LP: 6 periods of 5 min I-5 min R, 24 hr before 12 min I, and three groups same as LP, but with 1.5 (LPA1.5), 8 (LPA8) and 20 (LPA20) mg/kg aspirin respectively, administered 10 min before the first preconditioning I. Results showed that the antiinflammatory dose of aspirin (20 mg/kg) was able to inhibit LP against stunning (C vs LPA20, NS), whereas low (1.5 mg/kg) and intermediate (8 mg/kg) doses did not interfere with the protection (C vs LP, LPA1.5 and LPA8,  $p < 0.01$ ). Moreover, no dose altered the protection against arrhythmias. Conclusion: Antithrombotic aspirin doses would not inhibit LP protection against stunning, whereas high antiinflammatory doses would be potentially deleterious. Since high doses of aspirin blocked LP when administered before the triggering episodes, our results show that the COX pathway might be involved as a trigger of LP against stunning.

**Key words:** late preconditioning, aspirin, stunning, arrhythmias, conscious sheep

El acondicionamiento isquémico es un fenómeno de protección natural por el cual uno o varios períodos breves de isquemia-reperfusión protegen al corazón del

daño provocado por una isquemia posterior prolongada, reduciendo el tamaño del infarto, las arritmias y la disfunción mecánica o atontamiento postisquémico. Existen dos fases de acondicionamiento: a) el acondicionamiento clásico o temprano, durante el cual el corazón está protegido durante las 2-3 horas posteriores a los períodos de isquemia-reperfusión y b) el acondicionamiento tardío en el cual la protección reaparece a partir de las 12 horas posteriores al último episodio acondicio-

Recibido: 9-VI-2003

Aceptado: 1-IX-2003

**Dirección postal:** Elena C. Lascano, Universidad Favaloro, Solís 453, 1078 Buenos Aires, Argentina  
Fax: (5411) 4381-0323

e-mail: lascano@favaloro.edu.ar

nante y se extiende durante 72 horas, con un pico de protección máxima a las 24 horas.

Numerosos trabajos han hallado protección por acondicionamiento temprano y tardío contra el infarto, el atontamiento postisquémico y las arritmias<sup>1, 2, 3</sup>. Entre los mecanismos que posiblemente intervienen en el desarrollo del acondicionamiento, se destaca muy particularmente la vía de activación de la ciclooxigenasa (COX) debido a que los antiinflamatorios no esteroides (AINE) tales como el celecoxib o el NS-398, impiden el desarrollo de la protección contra la disfunción contráctil y el infarto en conejos<sup>4</sup>. Estos resultados experimentales y otros ensayos clínicos han llevado a reconsiderar la utilización de los AINE en pacientes cardiovasculares<sup>5, 6, 7</sup>. Los inhibidores de la COX pueden actuar sobre la COX-1 (constitutiva), la COX-2 (inducible) o ambas. En particular las dudas surgen respecto de la utilización de los inhibidores selectivos de la COX-2 (Coxibs), debido a que se ha postulado que sus supuestos efectos cardiovasculares adversos en pacientes se deberían a una disminución de la producción de prostaciclina, afectando así el balance entre los eicosanoides protrombóticos y antitrombóticos<sup>5, 7</sup>. A diferencia de los inhibidores de la COX-1, los Coxibs no poseen el deseado efecto antitrombótico. Por el contrario, al disminuir la producción de prostaciclina vuelcan el balance a favor de los tromboxanos y pueden determinar un incremento en los eventos cardiovasculares trombóticos<sup>8</sup>. El estudio VIGOR<sup>9</sup> parece corroborar esta posibilidad puesto que pacientes con afecciones reumáticas tratados con Coxibs presentaron mayor mortalidad de causa cardiovascular con respecto a aquellos tratados con antiinflamatorios convencionales. Sin embargo, el resto de los AINE también podrían tener efectos cardiovasculares no deseados, por cuanto no sólo inhiben a la COX-1 sino también a la COX-2. En este contexto tiene entonces relevancia clínica el estudiar los probables efectos de la aspirina, el AINE más frecuentemente utilizado, sobre la respuesta del miocardio en situaciones de isquemia y reperfusión.

La aspirina es un inhibidor de las dos isoenzimas de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), actuando en dosis altas como droga antiinflamatoria y en dosis bajas como droga antiagregante plaquetaria. En el acondicionamiento temprano, se ha encontrado que la aspirina cancela<sup>10</sup> o no tiene efecto sobre la protección antiarrítmica<sup>11, 12</sup>. Por otra parte, los efectos de la aspirina sobre el desarrollo de acondicionamiento tardío no están completamente definidos. En conejos conscientes existe una dependencia de la dosis para la inhibición de la cardioprotección<sup>13</sup>. En este modelo los autores postulan que los efectos deletéreos de la aspirina se deben fundamentalmente a la inhibición de la COX-2, una vía que los autores consideran como efectora de la cardioprotección. Sin embargo, existen serias dudas respecto de la participación de la vía de la COX como mecanismo

efector del acondicionamiento<sup>14</sup>, y no existen estudios en animales grandes conscientes en los que se haya analizado el rol gatillador o iniciador de la COX ni el efecto de diferentes dosis de aspirina sobre la inducción de cardioprotección por acondicionamiento isquémico tardío contra el atontamiento y las arritmias.

Debido a que el efecto beneficioso del acondicionamiento se ha comprobado en pacientes cardiovasculares sometidos a revascularización miocárdica<sup>15</sup>, angioplastia<sup>16</sup> y ejercicio<sup>17</sup>, y a que la aspirina es ampliamente usada crónicamente en la práctica clínica como antiagregante plaquetario en pacientes cardiovasculares, los cuales pueden además recibir dosis altas de la misma frente a procesos inflamatorios agudos o crónicos (artritis, artrosis, etc), resulta de particular interés conocer si la aspirina podría afectar la génesis de cardioprotección.

Por lo tanto, el propósito de este trabajo fue analizar el efecto de tres diferentes dosis de aspirina sobre el mecanismo gatillador o iniciador de la cardioprotección por acondicionamiento isquémico tardío contra el atontamiento postisquémico y las arritmias por reperfusión.

## Material y métodos

Se utilizaron 45 ovinos macho Hampshire Down (25-30 Kg). Al ingresar al bioterio, los animales fueron tratados con ivermectina (antiparasitario) y vacunados contra tétanos, carbunco, gangrena gaseosa y enterotoxemia por clostridium. Su estado sanitario fue evaluado por profesionales veterinarios a través de exámenes clínicos y pruebas de laboratorio. Durante 10 días antes de la cirugía, los animales se adaptaron al entorno y personal del bioterio de la Universidad Favaloro, acreditado de acuerdo a los estándares de cuidado y uso humanitario de los animales de laboratorio por el Public Health Service, National Institutes of Health (número de acreditación; #A5556-01).

En esta investigación, los animales fueron tratados de acuerdo a la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, publicado por el US National Institute of Health (No 85-23, revisado en 1996).

### Instrumentación quirúrgica

El procedimiento quirúrgico fue similar al realizado con anterioridad en nuestro laboratorio<sup>3, 18, 19</sup>. El día de la cirugía, el animal, con un ayuno previo de 24 hs, fue sedado con acepromacina (0.3 mg/kg) antes de ser llevado al quirófano. Una vez allí, se indujo la anestesia con tiopental sódico (20 mg/Kg). Luego de la intubación y conexión a ventilación mecánica (*Neumovent 910*, Córdoba, Argentina), la anestesia se mantuvo con citrato de fentanilo (0.1 mg) y halotano 2-3% vaporizado con oxígeno. Se realizó una toracotomía en el 5to espacio intercostal izquierdo y se procedió a la instrumentación del animal bajo condiciones de esterilidad (Fig. 1). Se disecó la vena mamaria y se introdujo en la misma un catéter K31 de Tygon para la infusión de drogas. Una vez efectuada la pericardiotomía, se introdujo un microtransductor de presión (*Konigsberg P7*, Pasadena, Cal, USA) a través de una incisión en el ápex del corazón, junto con un catéter K31 de Tygon lleno de solución fisiológica para su posterior calibración. Se disecó la arteria coronaria descendente anterior luego de la segunda rama diagonal y se ocluyó mecánicamente la porción disecada para verificar visualmente que la zona que

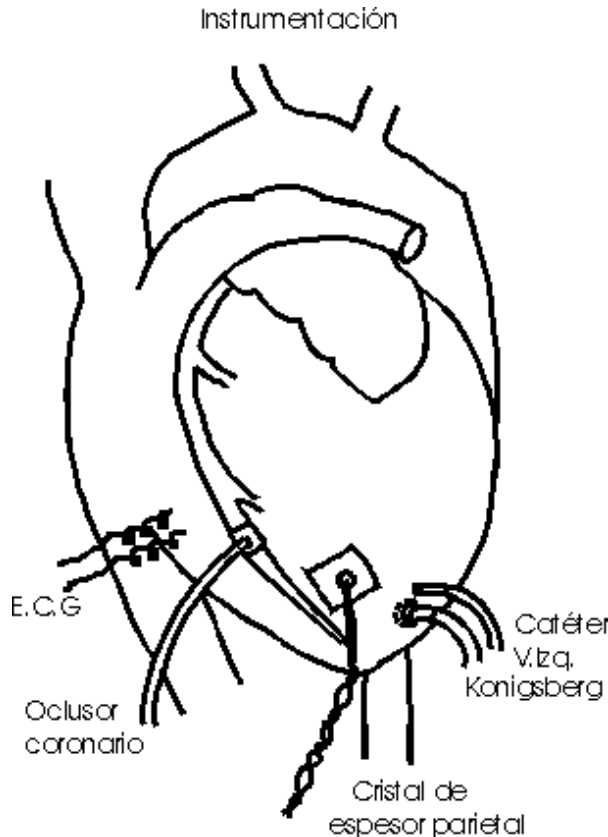


Fig. 1.- Esquema de la instrumentación quirúrgica. E.C.G.: electrocardiograma.

sería sometida a isquemia (zona de riesgo) no fuera mayor al 20% de la masa ventricular izquierda. Se colocó un par de cristales piezoeléctricos de 5 MHz manufacturados en nuestro laboratorio, insertándose un cristal en el subendocardio y suturándose el otro al epicardio en el centro de la zona de riesgo para medir espesor parietal regional. Se ubicó un ocluidor neumático alrededor de la arteria disecada y se probó su correcto funcionamiento inflándolo durante 1 min. Se verificó en un monitor que la señal de espesor parietal disminuyera hasta hacerse disquinética durante la sístole mientras el ocluidor permaneciera inflado y que al desinflarlo se restableciera completamente la misma. Se colocaron cables de marcapaso en la aurícula derecha para registrar el electrocardiograma. Finalmente, se tunelizaron todos los cables y catéteres haciéndolos emerger entre las escápulas y la toracotomía se cerró por planos. Al finalizar la cirugía y durante 3 o más días se inyectó por vía endovenosa 1 g/día i.m de cefalomicina. El cuidado postquirúrgico de los animales estuvo a cargo del personal veterinario y técnico del bioterio.

Antes del protocolo experimental y a partir del segundo día postquirúrgico, cada animal fue sometido a 5-7 sesiones diarias de acostumbramiento al entorno donde se realizarían las experiencias, controlándose la calidad de las señales y que la frecuencia cardíaca disminuyera paulatinamente con la habituación hasta valores normales para un animal consciente (70-80 latidos/min). Al finalizar el protocolo experimental, el animal fue sacrificado con una sobredosis de tiopental sódico seguida de una inyección en bolo de cloruro de potasio. En la necropsia se verificó el correcto posicionamiento de los cristales de espesor.

### Protocolo experimental

Siete a 10 días después de la cirugía, los animales fueron estudiados dentro de un carro rodante en estado consciente, sin sedación. En los flancos, a nivel del corazón, se colocaron 2 paletas de desfibrilación autoadhesivas. El microtransductor de presión Konigsberg y los cables de los cristales de sonomicrometría se conectaron a los respectivos módulos de un equipo System 6 (Triton Technology, San Diego, Cal). Los cables del marcapaso se conectaron a un transductor diferencial universal (Instituto de Ingeniería Biomédica, UBA). El catéter con fluido para calibrar el microtransductor de presión se conectó a un transductor de presión tipo Statham (DT-XX, Viggo-Spectramed, Oxnard Cal) previamente calibrado mediante un calibrador de presión (Xcaliber, Viggo-Spectramed, Oxnard Cal). El punto de presión cero se estableció aproximadamente a nivel de la aurícula derecha y la señal generada por el microtransductor Konigsberg se ajustó en nivel y amplificación con la del Statham. La señal de espesor se calibró en mm usando la calibración interna del sonomicrómetro.

Si durante la isquemia o reperusión se desencadenaban episodios de arritmia, se continuaba el experimento cuando había reversión espontánea al ritmo sinusal. Si la arritmia evolucionaba a una taquicardia ventricular de más de 30 seg de duración, se administraba un bolo de lidocaína (1-2 mg/kg) y si la taquicardia ventricular no revertía y evolucionaba a fibrilación ventricular se aplicaba un electroshock (200-300 Joules) con el desfibrilador. En caso de que dos intentos de cardioversión fueran infructuosos, se sacrificaba al animal con una sobredosis de tiopental sódico. Los animales a los cuales se efectuó cardioversión fueron descartados para el análisis mecánico.

Los animales se dividieron en los siguientes grupos (Fig. 2):

- Control (CONT): se efectuaron 12 min de isquemia seguido de 2 hs de reperusión.
- Precondicionamiento tardío (PT): se realizaron seis períodos de 5 min de isquemia-5 min de reperusión, 24 hs antes de los 12 min de isquemia y 2 hs de reperusión;
- Precondicionamiento tardío con 1.5 mg/kg de aspirina (PTA1.5): igual a PT, excepto que el primer día se administraron 1.5 mg/kg de acetilsalicilato de lisina i.v. (dosis antiagregante plaquetaria de aspirina)<sup>20</sup> 10 min antes de la primera isquemia de preconditionamiento.
- Precondicionamiento tardío con 8 mg/kg de aspirina (PTA8): igual que PTA1.5, excepto que la dosis de acetil-

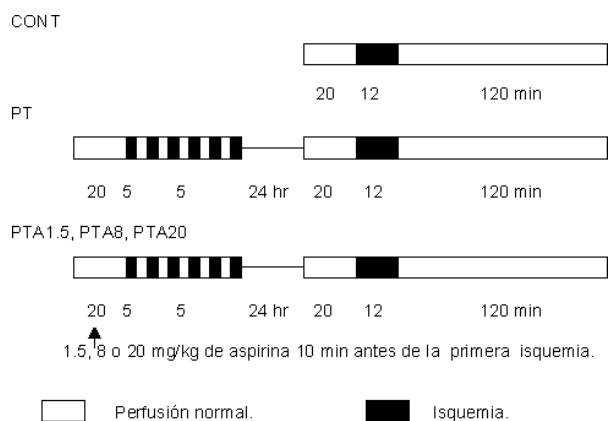


Fig. 2.- Protocolos experimentales. CONT: control (N=9); PT: preconditionamiento tardío (N=12); PTA1.5, PTA8 y PTA20: preconditionamiento tardío con 1.5 (N=8), 8 (N=7) y 20 (N=6) mg/kg de acetil salicilato de lisina administrados en bolo antes de las isquemias de preconditionamiento.

salicilato de lisina fue de 8 mg/kg i.v. (dosis intermedia analgésica y antipirética de aspirina)<sup>21</sup>.

e) Precondicionamiento tardío con 20 mg/kg de aspirina (PTA20): igual que PTA1.5, excepto que la dosis de acetilsalicilato de lisina fue de 20 mg/kg i.v. (dosis antiinflamatoria de aspirina)<sup>20</sup>.

La efectividad del número y duración de los períodos precondicionantes para producir protección mecánica, así como la duración de la isquemia prolongada (12 min) fueron determinadas previamente<sup>3, 22, 23</sup>.

En cada tiempo de registro, se digitalizaron las señales de latidos estables consecutivos durante 15 seg, con una frecuencia de muestreo de 4 mseg, usando una computadora personal equipada con un conversor analógico-digital (*National Instruments Lab-Pc*; Austin, Texas, USA) y un software desarrollado en nuestro laboratorio. Las señales fueron capturadas cada 5 min durante los 20 min previos a la isquemia (el promedio de estas medidas corresponde al valor de la condición basal), en el último minuto de la isquemia, cada 10 min durante la primera hora de reperusión y cada 20 min durante la segunda hora de reperusión. En el día 1, se monitorearon las señales para verificar que la oclusión hubiera sido efectiva, con presencia de disquinesia durante las isquemias precondicionantes.

#### Procesamiento de datos

Se definió como fin de diástole al comienzo de la deflexión positiva de la derivada de la presión ventricular izquierda (dP/dt), y el fin de sístole como el tiempo en el que la derivada alcanzó el 10% de su valor mínimo<sup>3,19</sup>. La función mecánica se evaluó por medio del cálculo del porcentaje de la fracción de espesamiento regional (FER):

$$FER = 100 (ERs-ERd) / ERd$$

donde ERs es espesor regional de fin de sístole y ERd es espesor regional de fin de diástole.

El procesamiento de señales fue realizado para cada tiempo de la adquisición de datos. Las presiones de fin de sístole y de fin de diástole, la frecuencia cardíaca y FER fueron calculados en cada latido registrado, y el promedio de los latidos procesados (15 a 30) fue el valor asignado a la muestra para el correspondiente tiempo de adquisición. El grado de atontamiento fue evaluado por medio de la recuperación de FER. Los valores de isquemia y reperusión de FER fueron expresados como porcentaje del valor basal (%FER) considerado como 100<sup>3, 22, 23</sup>.

Las arritmias fueron detectadas a partir de las señales de electrocardiograma y presión intraventricular durante la isquemia y la reperusión, y diagnosticadas de acuerdo a la convención de Lambeth como latidos ectópicos prematuros (LEP), salvas de taquicardia ventricular (STV), taquicardia ventricular (TV) y fibrilación ventricular<sup>24</sup>. La gravedad de las arritmias se evaluó con el índice de gravedad de Bernauer (IGA)<sup>25, 26</sup> para permitir la comparación estadística en experimentos con taquiarritmias. Los valores asignados a cada tipo de episodio arritmico fueron los siguientes: ritmo sinusal=0, LEP=1, STV=2, TV=3, fibrilación ventricular reversible (FVR)=4 y fibrilación ventricular irreversible (FVI)=5. La suma de los distintos episodios de arritmia determinó el valor del IGA para cada animal.

#### Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media  $\pm$  error estándar (EE). Las diferencias estadísticas se detectaron mediante el empleo del test de ANOVA (una vía o dos vías según el caso) seguido de test de Scheffé y se consideraron significativas para  $p < 0.05$ .

## Resultados

Las variables globales: presión de fin de diástole, presión de fin de sístole, la dP/dt máxima (dP/dtmax) y la frecuencia cardíaca se mantuvieron estables a lo largo de todo el experimento, indicando que la zona isquémica fue lo suficientemente pequeña para no afectar la función de bomba del ventrículo<sup>15, 22, 23</sup> (Tabla 1).

En la Fig. 3 se presentan los resultados del efecto de las diferentes dosis de aspirina sobre la recuperación de la disfunción contráctil postisquémica. El precondicionamiento tardío redujo el atontamiento, evidenciado por una mejor recuperación del %FER durante la reperusión. Esta protección fue inhibida en el grupo que recibió 20 mg/kg de aspirina pero no en los que recibieron la dosis antiagregante e intermedia de la droga.

La Tabla 2 muestra que el precondicionamiento tardío redujo la incidencia de arritmias y que este efecto no fue abolido por la administración de ninguna de las tres dosis de aspirina.

## Discusión

El presente estudio demuestra que la acción deletérea de la aspirina sobre el desarrollo de cardioprotección por precondicionamiento isquémico es dosis dependiente, al tiempo que indica que la activación de la COX interviene en el mecanismo de gatillamiento o iniciación del precondicionamiento isquémico tardío contra el atontamiento. Por otra parte, es notable que las tres diferentes dosis de aspirina no hayan afectado el desarrollo de pro-

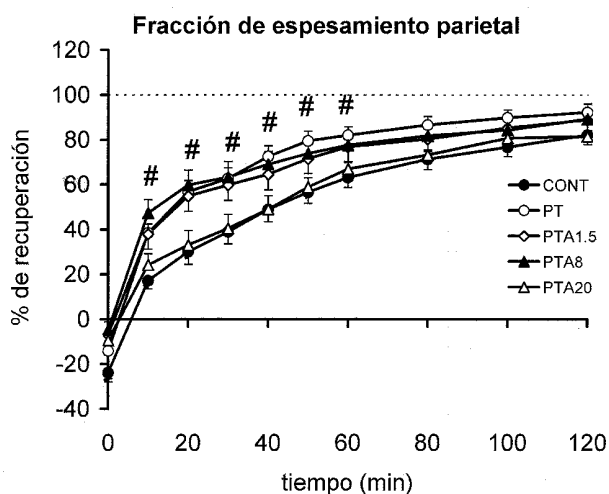


Fig 3.— Curso temporal medio de la fracción de espesamiento parietal expresada como porcentaje del valor basal (media de los valores adquiridos 20 minutos antes de la isquemia de 12 min considerado 100). #  $p < 0.01$  CONT vs PT, PTA1.5 y PTA8 (ANOVA 1 vía, tratamiento de los grupos, seguido de Scheffé). Abreviaturas como en la Fig. 2.

TABLA 1.— Valores hemodinámicos globales

		Basal	Isquemia	Rep 30 min	Rep 60 min	Rep 120 min
Pfs	CONT	104.3 ± 2.5	94.5 ± 4.0	97.0 ± 1.7	96.2 ± 1.4	97.4 ± 2.0
	PT	101.4 ± 3.7	95.5 ± 7.0	99.5 ± 1.9	99.4 ± 1.4	102.3 ± 2.5
	PT1.5	93.1 ± 1.5	94.4 ± 2.8	97.0 ± 1.6	97.3 ± 1.8	99.7 ± 2.2
	PT8	95.6 ± 2.3	88.5 ± 3.0	97.2 ± 2.9	94.6 ± 0.9	98.7 ± 2.3
	PT20	93.9 ± 2.5	89.0 ± 3.5	91.8 ± 2.5	94.5 ± 2.9	95.1 ± 6.5
Pfd	CONT	10.4 ± 0.7	123.4 ± 10.2	105.3 ± 9.7	96.7 ± 9.5	87.4 ± 8.7
	PT	9.4 ± 0.4	127.1 ± 28.9	109.6 ± 8.2	113.0 ± 7.4	121.8 ± 13.0
	PT1.5	9.8 ± 1.0	126.9 ± 8.0	116.4 ± 11.9	106.7 ± 5.1	102.8 ± 6.1
	PT8	10.9 ± 0.6	99.2 ± 13.3	84.1 ± 11.4	91.3 ± 9.1	93.2 ± 12.2
	PT20	11.9 ± 2.6	115.8 ± 10.1	105.6 ± 7.1	118.0 ± 13.2	103.8 ± 13.4
dP/dtmax	CONT	2542 ± 89	88.5 ± 3.0	92.2 ± 2.4	97.0 ± 2.1	97.3 ± 2.6
	PT	2337 ± 112	85.8 ± 5.2	97.1 ± 3.2	100.5 ± 2.6	103.2 ± 3.2
	PT1.5	2329 ± 95	92.7 ± 2.0	95.5 ± 1.3	95.6 ± 3.0	97.9 ± 3.2
	PT8	2233 ± 79	94.3 ± 1.3	99.6 ± 2.3	98.7 ± 1.4	102.3 ± 1.3
	PT20	2364 ± 72	94.8 ± 2.5	94.2 ± 1.2	97.3 ± 2.2	97.6 ± 6.7
FC	CONT	88.4 ± 5.5	104.7 ± 2.4	101.6 ± 2.4	99.7 ± 1.9	97.5 ± 2.1
	PT	74.4 ± 4.6	103.8 ± 1.5	99.1 ± 2.9	97.5 ± 3.2	95.9 ± 2.8
	PT1.5	88.5 ± 7.0	103.6 ± 4.3	95.4 ± 3.1	95.8 ± 2.8	90.5 ± 3.2
	PT8	67.4 ± 2.6	101.1 ± 1.9	102.4 ± 2.3	97.4 ± 2.9	95.1 ± 2.3
	PT20	96.7 ± 8.2	101.9 ± 1.8	93.4 ± 2.0	90.2 ± 2.8	87.6 ± 5.3

Pfs: presión de fin de sístole; Pfd: presión de fin de diástole; dP/dtmax: máxima derivada de la presión intraventricular; FC: frecuencia cardíaca; CONT: control; PT: preconditionamiento tardío; PT1.5: PT con aspirina (1.5 mg/kg); PT8: PT con aspirina (8 mg/kg); PT20: PT con aspirina (20 mg/kg). Los valores basales están expresados en las unidades correspondientes a cada variable; Pfs (mmHg); Pfd (mmHg); dP/dtmax (mmHg/seg); FC (latidos/min). Los valores en isquemia y reperfusión (Rep.) están expresados como porcentaje del valor basal considerado 100. Los datos están expresados como media ±EE; ANOVA (2 vías, tiempo y tratamiento de los grupos, seguido de Scheffé).

TABLA 2.— Incidencia de arritmias

	LE	Salvas	TV	FVR	FVI	IGA
C	6/12	6/12	6/12	3/12	3/12	5.2 ± 1.8
PT	2/12	2/12	1/12	0/12	0/12	0.7 ± 0.5†
PTA1.5	3/8	2/8	2/8	0/8	0/8	1.6 ± 0.9†
PTA8	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0 ± 0†
PTA20	3/6	1/6	1/6	0/6	0/6	1.3 ± 0.9†

Los datos de latidos ectópicos (LE), salvas de taquicardia ventricular (STV), taquicardia ventricular (TV), fibrilación ventricular reversible (FVR) y fibrilación ventricular irreversible (FVI) indican el número de animales que sufrieron el episodio arritmico sobre el número total de animales del grupo; IGA: índice de gravedad de arritmias. Abreviaturas de los grupos como en la Tabla 1; † p<0.01 vs C (ANOVA, una vía, seguido de Scheffé).

tección contra las arritmias, lo cual indica la existencia de vías de cardioprotección distintas a las involucradas en el preconditionamiento contra el atontamiento.

La elección de la oveja como modelo experimental para realizar este estudio obedeció a las siguientes razones: 1) es un mamífero grande con desarrollo embrionario del

corazón y circulación coronaria similar a la humana<sup>27, 28</sup>; 2) es un animal dócil que permanece en estado consciente, quieto y calmo, sin sedación, durante el curso del experimento<sup>3, 18, 19, 23</sup>; 3) no desarrolla circulación colateral con la oclusión coronaria, como fuera observado con estenosis progresiva con Ameroid<sup>28</sup>. Este punto es importante ya que en el preconditionamiento tardío se efectúan isquemias en dos días consecutivos en el mismo animal, y el desarrollo de circulación colateral inducido el primer día podría interferir en la interpretación de los resultados de protección regional; 4) la FER es similar a la obtenida en cerdos<sup>29</sup> y perros<sup>30</sup>, sugiriendo que la oveja es una especie animal adecuada para estudiar mecánica regional; 5) estudios realizados en fibras de Purkinje de oveja y perro muestran un mecanismo similar en el desarrollo de post-despolarizaciones propuestas como causa de ciertas arritmias<sup>31</sup>, indicando que la oveja es similar a otros mamíferos para el estudio de alteraciones eléctricas

Existen numerosos estudios que describen atontamiento postisquémico en corazón aislado<sup>32, 33</sup>, animales a tórax abierto<sup>34</sup> y conscientes<sup>35</sup>, y su mejoría por preconditionamiento<sup>36, 37</sup>. En el caso particular de la oveja consciente, el presente trabajo arrojó resultados similares a trabajos pre-

vios en lo referente al grado de disfunción postisquémica y arritmias<sup>3, 22</sup>, y su atenuación por acondicionamiento tardío<sup>3</sup>.

El efecto deletéreo de la aspirina en dosis antiinflamatorias pero no antiagregantes sobre el acondicionamiento tardío coincide con estudios previos en conejos, en los cuales la administración de aspirina y/o celecoxib luego de los períodos acondicionantes inhibió el desarrollo de la protección contra la disfunción contráctil postisquémica<sup>4, 13</sup>. Los resultados de estos estudios señalan que la COX es el mecanismo efector del acondicionamiento. Nuestro estudio señala que la COX también puede actuar como mecanismo iniciador o gatillador, una posibilidad que hasta el momento no había sido explorada en animales grandes conscientes.

La interesante observación de que sólo las dosis antiinflamatorias de aspirina y no las antiagregantes son capaces de inhibir el acondicionamiento tiene relevancia clínica, por cuanto gran parte de los pacientes cardíacos son tratados preventivamente con aspirina en bajas dosis<sup>38, 39</sup>. Muchos de estos pacientes podrían estar al mismo tiempo recibiendo dosis importantes de aspirina u otros AINE por presentar enfermedades inflamatorias agudas o crónicas concomitantes. ¿Están estos pacientes sometidos a un riesgo cardiovascular adicional? Evidencia clínica preliminar parece indicar que esto es posible: diferentes estudios coinciden en indicar la existencia de acondicionamiento en el miocardio humano, y en particular esta posibilidad surge de la observación de que la presencia de episodios anginosos (¿acondicionamiento?) en las horas previas al infarto agudo de miocardio mejora la evolución y pronóstico del paciente. El acondicionamiento en el paciente con dolencia cardíaca diversa parece ofrecer ventajas sustanciales en la respuesta cardiovascular a otras situaciones muy diferentes al infarto pero que implican eventos de isquemia/reperusión aguda (test de ejercicio, angioplastia, etc)<sup>15, 16, 17</sup>. Si el acondicionamiento isquémico existe en el corazón humano, tal como se mencionara anteriormente, entonces el uso clínico de los AINE puede resultar deletéreo en pacientes cardíacos, tal y como parece demostrar el estudio VIGOR<sup>9</sup>. El estudio VIGOR señala que el riesgo de eventos agudos es mucho más importante cuando se trata al paciente con Coxibs que cuando se utilizan otros AINE clásicos. Sin embargo, nuestros resultados y los previamente mencionados respecto del efecto de la aspirina, el celecoxib y otras drogas similares (NS398)<sup>4, 13</sup> sobre la cardioprotección por acondicionamiento, permiten evidenciar que no sólo los inhibidores de la COX-2 sino también los inhibidores no selectivos (COX-1 y COX-2) como lo son la mayoría de los AINE son potencialmente deletéreos. En el caso particular de la aspirina el efecto no deseado, tal y como lo señalan los presentes resultados, está directamente vinculado con la dosis utilizada.

En conclusión, la aspirina en dosis antiinflamatoria pero no antiagregante plaquetaria inhibe el gatillamiento de acondicionamiento isquémico tardío contra el atontamiento pero no contra las arritmias de reperusión. Este resultado experimental y otros previos respecto de los probables efectos deletéreos de los AINE selectivos (Coxibs) plantea la necesidad de reconsiderar las dosis de los antiinflamatorios utilizados en pacientes cardíacos con patología articular aguda o crónica asociada.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a los médicos veterinarios, Dres. María Inés Besansón Delbo, Pedro Iguain y Marta Tealdo la ejecución de las anestésias durante la cirugía, a los médicos veterinarios y al personal técnico del bioterio, Sres. Juan Ocampo, Juan Carlos Mansilla y Osvaldo Sosa el cuidado postquirúrgico de los animales y al personal técnico del quirófano, Sres. Julio Martínez y Fabián Gauna la preparación de los microcristales y apoyo experto en las cirugías.

## Bibliografía

1. Qiu Y, Tang XL, Park SW, Sun JZ, Kalya A, Bolli R. The early and late phases of ischemic preconditioning. A comparative analysis of their effects on infarct size, myocardial stunning, and arrhythmias in conscious pigs undergoing a 40-minute coronary occlusion. *Circ Res* 1997; 80: 730-42.
2. Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W. Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circ Res* 1990; 66: 1133-42.
3. Negroni JA, Lascano EC, del Valle HF, Crottogini AJ. ATP-sensitive potassium channels do not have a main role in mediating late preconditioning protection against arrhythmias and stunning in conscious sheep. *Basic Res Cardiol* 2002; 97: 55-64.
4. Shinmura K, Tang XL, Wang Y, et al. Cyclooxygenase-2 mediates the cardioprotective effects of the late phase of ischemic preconditioning in rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10197-202.
5. Konstam MA, Weir MR. Current perspective on the cardiovascular effects of coxibs. *Cleve Clin J Med* 2002; 69, Suppl 1: S147-S152.
6. Bing RJ, Lomnicka M. Why do cyclo-oxygenase-2 inhibitors cause cardiovascular events? *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 521-2.
7. FitzGerald GA. Cardiovascular pharmacology of nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and coxibs: clinical considerations. *Am J Cardiol* 2002; 89(6A): 26D-32D.
8. Cheng Y, Austin SC, Rocca B, et al. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A2. *Science* 2002; 296: 539-41.
9. Bombardier C, Laine L, Reicin A, et al. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1520-8.
10. Arad M, Oxman T, Leor R, Rabinowitz B. Prostaglandins and the antiarrhythmic effect of preconditioning in the isolated rat heart. *Mol Cell Biochem* 1996; 160-161: 249-55.
11. Li Y, Kloner RA. Cardioprotective effects of ischaemic preconditioning are not mediated by prostanoids. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 226-31.
12. Miura T, Ishimoto R, Sakamoto J, et al. Suppression of reperfusion arrhythmia by ischemic preconditioning in the

- rat: is it mediated by the adenosine receptor, prostaglandin, or bradykinin receptor? *Basic Res Cardiol* 1995; 90: 240-6.
13. Shinmura K, Kodani E, Xuan YT, Dawn B, Tang XL, Bolli R. Effect of aspirin on late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1183-94.
  14. Camitta MG, Gabel SA, Chulada P, et al. Cyclooxygenase-1 and -2 knockout mice demonstrate increased cardiac ischemia/reperfusion injury but are protected by acute preconditioning. *Circulation* 2001; 104: 2453-8.
  15. Wu ZK, Iivainen T, Pehkonen E, Laurikka J, Tarkka MR. Ischemic preconditioning suppresses ventricular tachyarrhythmias after myocardial revascularization. *Circulation* 2002; 106: 3091-6.
  16. Mason MJ, O'Rourke B, Al-Bustami M, Lisle C. Differential response of coronary collateral channels to atrial pacing and balloon occlusion at angioplasty. *Cor Artery Dis* 2003; 14: 81-7.
  17. Li JJ, Huang CX, Jiang H, et al. Ischemic preconditioning detected by treadmill exercise tests in patients with stable angina. *Angiology* 2003; 54: 45-50.
  18. Lascano EC, Negroni JA, del Valle HF, Crottogini AJ. Left ventricular systolic and diastolic function in conscious sheep undergoing ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 77-86.
  19. del Valle HF, Lascano EC, Negroni JA, Crottogini AJ. Glibenclamide affects reperfusion-induced malignant arrhythmias and left ventricular mechanical recovery from stunning in conscious sheep. *Cardiovasc Res* 2001; 50: 474-85.
  20. Goodman y Gilman. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Mc Graw-Hill Interamericana 9a Ed, 1996.
  21. Rose J, Ehring T, Sakka SG, Skyschally A, Heusch G. Aspirin does not prevent the attenuation of myocardial stunning by the ACE inhibitor ramiprilat. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 603-13.
  22. Lascano EC, Negroni JA, del Valle HF. Ischemic shortening of action potential duration as a result of KATP channel opening attenuates myocardial stunning by reducing calcium influx. *Mol Cell Biochem* 2002; 236: 53-61.
  23. del Valle HF, Lascano EC, Negroni JA. Ischemic preconditioning protection against stunning in conscious diabetic sheep: role of glucose, insulin, sarcolemmal and mitochondrial KATP channels. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 642-59.
  24. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, et al. The Lambeth conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1998; 22: 447-55.
  25. Baczkó I, Leprán I, Papp JG. K<sub>ATP</sub> channel modulators increase survival rate during coronary occlusion-reperfusion in anaesthetized rats. *Eur J Pharmacol* 1997; 324: 77-83.
  26. Bernauer W. Concerning the effect of the K<sup>+</sup> channel blocking agent glibenclamide on ischaemic and reperfusion arrhythmias. *Eur J Pharmacol* 1997; 326: 147-56.
  27. Smolich JJ. Ultrastructural and functional features of the developing heart: a brief overview. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7: 451-61.
  28. Schaper W. Coronary occlusion in mammals. In: Black DAK (ed) Clinical studies, Vol. 1: the collateral circulation of the heart, Amsterdam: North-Holland, 1971, pp19-28.
  29. Crottogini AJ, Guth BD, Barra JG, Willshaw P, Lascano EC, Pichel RH. Interventricular coronary steal induced by stenosis of left anterior descending coronary artery in exercising pigs. *Circulation* 1991; 83: 1361-70.
  30. Gallaher KP, Matsuzaki M, Osakada G. Effects of exercise on the relationship between myocardial blood flow and systolic wall thickening in dogs with acute coronary stenosis. *Circ Res* 1983; 52: 716-29.
  31. January CT, Riddle JM, Salata JJ. A model for early afterdepolarizations: induction with the Ca<sup>2+</sup> channel agonist Bay K8644. *Circ Res* 1988; 62: 563-71.
  32. Gelpi RJ, Morales C, Rodriguez M, Bagnarelli A, Hita A, Scapin O. Effect of enalaprilat on postischemic systolic and diastolic dysfunction (stunned myocardium) on the isolated rabbit heart. *Medicina (Buenos Aires)* 1998; 58: 22-8.
  33. Donato M, Morales C, Dánunzio V, Scapin O, Gelpi RJ. The activation of A1 adenosine receptors attenuates myocardial stunning in the rabbit. *Medicina (Buenos Aires)* 2001; 61: 424-30.
  34. Ovize M, Przyklenk K, Hale SL, Kloner RA. Preconditioning does not attenuate myocardial stunning. *Circulation* 1992; 85: 2247-54.
  35. Sun JZ, Tang XL, Knowlton AA, Park SW, Qiu Y, Bolli R. Late preconditioning against myocardial stunning: an endogenous protective mechanism that confers resistance to postischemic dysfunction 24 h after brief ischemia in conscious pigs. *J Clin Invest* 1995; 95: 388-403.
  36. Bolli R, Bhatti ZA, Tang XL, et al. Evidence that late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is triggered by the generation of nitric oxide. *Circ Res* 1997; 81: 42-52.
  37. Tang XL, Takano H, Rizvi A, et al. Oxidant species trigger late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits. *Am J Physiol* 2002; 282: H281-91.
  38. Weisman SM, Graham DY. Evaluation of the benefits and risks of low-dose aspirin in the secondary prevention of cardiovascular and cerebrovascular events. *Arch Intern Med* 2002; 162: 2197-202.
  39. Di Micco B, Colonna G, Di Micco P, et al. Anti-thrombin action of low-dose acetylsalicylic acid. *Eur J Pharmacol* 2003; 460: 59-62.

---

*La plus expresse marque de la sagesse c'est une jouissance constante.*

La mejor expresión de la sabiduría es saber disfrutar de todo constantemente.

Michel de Montaigne (1533-1592)