

ADENOSINA EXOGENA Y DISFUNCION POSTISQUEMICA EN EL CORAZON AISLADO DE CONEJO

MARTIN DONATO*, CELINA MORALES, ANIBAL BAGNARELLI, OMAR SCAPIN, RICARDO J. GELPI**

Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires y Grupo de Estudios Multicéntricos en Argentina (GEMA)

Resumen Es conocido que la adenosina atenúa las alteraciones sistólicas de la disfunción ventricular postisquémica ("miocardio atontado"), pero poco se conoce acerca de los efectos de este compuesto sobre las alteraciones diastólicas y, por otra parte, existe controversia sobre la importancia del momento de su administración. El objetivo del presente trabajo fue determinar los efectos de la adenosina cuando es administrada: a) desde antes de la isquemia y b) a partir del inicio de la reperfusión, sobre la función sistólica y diastólica del "miocardio atontado". Un objetivo adicional fue determinar si la adenosina modifica la liberación de creatinfosfoquinasa (CPK) y lactodeshidrogenasa (LDH) que ocurre en el "miocardio atontado". Se utilizaron corazones aislados isovolúmicos de conejo, perfundidos según la técnica modificada de Langendorff, y sometidos a isquemia global de 15 minutos y reperfusión de 30 minutos. La colocación de un balón de látex en el ventrículo izquierdo, conectado a un transductor de presión, permitió registrar la presión intraventricular izquierda, su primera derivada (dP/dt) y la presión de perfusión coronaria (PP). Se midieron, la presión diastólica final (rigidez diastólica), la PP y la máxima velocidad de ascenso y de descenso de la presión ($+dP/dt_{\max}$ y $-dP/dt_{\max}$, respectivamente). Se calculó la presión desarrollada de ventrículo izquierdo, el cociente entre la $+dP/dt_{\max}$ y $-dP/dt_{\max}$ ($+P/-P$) y la constante de tiempo de decaimiento de la presión ventricular durante la fase de relajación isovolúmica (τ , Tau). La adenosina, administrada tanto antes del período de isquemia como al comienzo de la reperfusión, atenuó las alteraciones sistólicas y la rigidez diastólica sin modificar la relajación isovolúmica. Asimismo, la adenosina no modificó significativamente la liberación de CPK y LDH.

Abstract *Exogenous adenosine and postischemic dysfunction in the isolated rabbit heart.* It is recognized that adenosine lessens the systolic alterations of the postischemic ventricular dysfunction ("stunned myocardium"), but little is known about the drug's effects on the diastolic phase of the cardiac cycle. The aim of this work was to determine the effect of adenosine when it was administered: a) before ischemia and during reperfusion, and b) from the early reperfusion period to the end of the experiment on the systolic and diastolic function of the "stunned myocardium". An additional objective was to determine whether adenosine modifies the release of creatinophosphokinase (CPK) and lactatedehydrogenase (LDH), in the "stunned myocardium". Rabbit isolated isovolumic hearts were perfused according to Langendorff's technique, and subjected to 15 minutes global ischemia and 30 minutes reperfusion. A small latex balloon was inserted into the left ventricle via the left atrium which allowed to measure the ventricular end-diastolic pressure (diastolic stiffness) and calculate the developed pressure, the maximal rate of pressure generation and maximal rate of pressure decay ($+dP/dt_{\max}$ and $-dP/dt_{\max}$), the ratio between these two variables ($+P/-P$), and the time constant of isovolumic relaxation (τ , Tau). The adenosine administered both before the ischemia period, and at the beginning of reperfusion, attenuated the systolic and diastolic stiffness alterations without modifying the isovolumic relaxation. The administration of adenosine did not diminish the CPK and LDH release significantly when it was given before the ischemia period or the beginning of reperfusion.

Key words: myocardial stunning, adenosine, diastolic stiffness, isovolumic relaxation

La adenosina es un nucleósido que se genera principalmente en el miocito cardíaco y en menor medida en el

endotelio vascular¹ por desfosforilación del 5'-AMP en condiciones de hipoxia o isquemia y por hidrólisis de la S-adenosilhomocisteína (SAH) en condiciones de normoxia^{2,3}. Este nucleósido tiene una acción fisiológica de regulación de la circulación coronaria^{4,5} que es el resultado de su marcada propiedad vasodilatadora coronaria y sistémica³ que ocurre tanto en el corazón normal como en el isquémico². Este efecto vasodilatador está mediado por activación de un receptor purinérgico A_2 situado a nivel vascular⁶. Sin embargo, en los últimos años también se ha señalado un efecto protector de este compuesto contra el daño producido por la isquemia en el corazón. Dicho

Recibido: 3-XII-1998

Acceptado: 2-VI-1999

* Becario de Iniciación de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT)

** Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas)

Dirección postal: Ricardo J. Gelpi, Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Uriburu 950, 1114 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11)4962-4945

E-mail: rgelpi@fmed.uba.ar

efecto fue evidenciado por una reducción en el tamaño de infarto⁷ o por la atenuación de la disfunción postisquémica ("miocardio atontado")⁸, siendo estas acciones independientes de su efecto vasodilatador. Este fenómeno protector está mediado, al menos en ciertas especies, por la activación de los receptores A₁^{9, 10} y se lo denominó preconditionamiento isquémico¹¹.

Si bien existe consenso generalizado acerca del efecto protector de la adenosina, se plantean importantes discrepancias acerca de la forma y el momento en que ocurre. Pitarys y col.¹² observaron en perros un efecto protector sobre el tamaño de infarto y la función ventricular sistólica cuando la adenosina es administrada en la reperfusión. Norton y col.¹³ mostraron resultados similares en el conejo. Por otro lado, Lasley y col.¹⁴ y Janier y col.¹⁵ refirieron similares hallazgos utilizando modelos de corazón aislado y realizando isquemia global, pero administrando la droga desde antes de la isquemia. Whittaker y col.¹⁶ mostraron que la adenosina puede proteger de la injuria isquémica en un modelo de isquemia regional en ratas. Sin embargo estas investigaciones¹²⁻¹⁶ utilizaron tiempos prolongados de isquemia con infartos que comprometen gran porcentaje de la pared ventricular y además no han estudiado en forma extensa las alteraciones diastólicas de la disfunción postisquémica.

En otros estudios se utilizaron tiempos más cortos de isquemia regional (≤ 15 minutos)¹⁷⁻¹⁹, pero en sólo uno de ellos se administró la droga en la reperfusión¹⁹ obteniendo resultados negativos. Por otro lado, la evaluación de la función diastólica se hizo parcialmente, mediante índices indirectos o solamente considerando la rigidez miocárdica^{17, 18}. Al menos en nuestro conocimiento, un solo trabajo evaluó los dos componentes de la función diastólica de un modo más extenso⁸, pero solamente administraron la adenosina antes de la isquemia.

Por lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue determinar si la administración de adenosina, antes del período de isquemia y hasta el final de la reperfusión o solamente en el período de reperfusión, atenúa las alteraciones mecánicas sistólicas del miocardio atontado. Un segundo objetivo, fue evaluar la fase diastólica, considerando sus dos componentes: el pasivo, a través de la rigidez miocárdica, y el activo, a través de la relajación isovolúmica. Para evitar los inconvenientes de la isquemia regional²⁰ utilizamos un modelo de corazón aislado con isquemia global y estricto control de variables. Un objetivo adicional fue determinar si las alteraciones funcionales se acompañan de cambios en dos enzimas específicas: creatinfosfoquinasa (CPK) y lacticodehidrogenasa (LDH).

Material y métodos

Modelo experimental

Se utilizaron conejos con un peso de 1.8 a 2.0 kg, que se anestesiaron con tiopental sódico (35 mg/kg) y ketamina (75 mg/kg). Se abrió el tórax rápidamente y se aisló la arteria aorta, para luego colocar y ligar con hilo de lino una cánula en la mencionada arteria. Una vez removido el corazón, se lo colocó en un sistema de perfusión según la técnica modificada de Langendorff.

El corazón se perfundió con solución de Ringer, compuesta de la siguiente manera: ClNa 118 mM, Cl₂Ca 2 mM, ClK 5.9 mM, SO₄ Mg 1.2 mM, Co₃HNa 20 mM y dextrosa 11.1 mM, la misma fue termostatazada a 36.5 ± 0.03 °C y equilibrada con una mezcla de 95% O₂-5% CO₂, para obtener un pH de 7.45 ± 0.01 . Se suturaron dos electrodos para estimular al corazón y así poder mantener la frecuencia cardíaca constante en un valor de 175 LAT/min. El corazón se dejó estabilizar durante 20 minutos.

En el ventrículo izquierdo se colocó un balón de látex atado a uno de los extremos de un tubo rígido de polietileno, pasándolo por el anillo mitral a través de un ojal practicado en la orejuela izquierda. El otro extremo del tubo se conectó a un transductor de presión Deltram II (Utah Medical System), el cual nos permitió registrar la presión en el interior del ventrículo izquierdo. El globo de látex se llenó con solución acuosa hasta lograr una presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI) de 8-12 mmHg, y se mantuvo este volumen constante durante todo el experimento. Considerando que la rigidez ventricular diastólica se expresa a través de la relación dP/dV, entonces, en el corazón isovolúmico la presión diastólica final es índice de rigidez ventricular.

También se registró la presión de perfusión coronaria (PP) a través de otro transductor de presión conectado a la línea de perfusión. El flujo coronario, controlado con una bomba peristáltica, se reguló para conseguir una PP de 74 ± 2 mmHg. Debido a que la resistencia vascular está definida por la relación entre la presión y el flujo, en un corazón perfundido a flujo coronario constante, la presión de perfusión coronaria indica la resistencia vascular coronaria.

La presión intraventricular izquierda (PVI), su primera derivada (dP/dt) y la PP se registraron en una computadora PC 486 con plaqueta conversora analógica-digital que permite registros en tiempo real. Se calculó la presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PDVI), que se obtuvo restando la PDFVI a la presión ventricular sistólica pico. La fase de relajación fue evaluada utilizando dos índices: la constante de tiempo de decaimiento de la presión ventricular durante la fase de relajación (τ , Tau)²¹ y el cociente entre la $+dP/dt_{\max}$ y la $-dP/dt_{\max}$ (+P/-P)²². Durante el período isquémico los corazones se mantuvieron en normotermia mediante inmersión en una cámara termostatazada conteniendo solución acuosa.

Determinaciones bioquímicas

Se recogió el efluente coronario en tubos enfriados. Las muestras se tomaron inmediatamente antes de iniciar el protocolo experimental (situación control), durante la administración de la adenosina antes de la isquemia y durante el período de reperfusión de 30 minutos (cada 15 segundos en los dos primeros minutos y a los 5 y 30 minutos). Se mantuvieron congeladas hasta el momento de su análisis, que se realizó el

TABLA 1.— Valores de variables hemodinámicas, pH y temperatura, luego de la estabilización del modelo experimental

Frecuencia cardíaca (lat/min)	Flujo coronario (ml/min)	Presión de perfusión (mmHg)	Temperatura (°C)	Presión desarrollada (mmHg)	+dP/dt _{max} (mmHg/seg)	Presión de Fin de diástole (mmHg)	pH
175	22 ± 1	74 ± 2	36.50 ± 0.08	100 ± 2	748 ± 19	9.14 ± 0.50	7.45 ± 0.01

TABLA 2.— Valores de variables de función ventricular, en situación control, y en respuesta a un bolo de isoproterenol en presencia y en ausencia de adenosina

	Control	Isoproterenol	Adenosina	Isoproterenol + adenosina
Presión desarrollada (mmHg)	96.05 ± 9.03	130 ± 10.07**	92.34 ± 6.16	113 ± 13.67*
+dP/dt _{max} (mmHg/seg)	653 ± 57.01	1256 ± 262**	621 ± 31.81	960 ± 252*

* $P < 0.05$ vs isoproterenol. ** $P < 0.05$ vs control

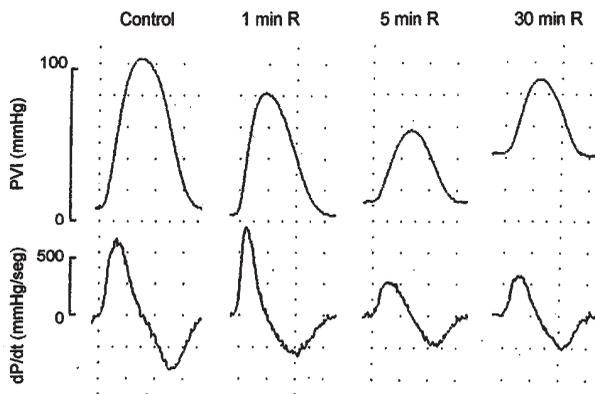


Fig. 2.— Registro típico en donde se observa la presión ventricular izquierda y su primera derivada, en situación control y durante diferentes tiempos del período de reperusión, luego de 15 minutos de isquemia. Se observa, en el período de reperusión las alteraciones tempranas de la relajación isovolúmica y la disminución de la función ventricular sistólica con aumento de la rigidez diastólica ("miocardio atontado").

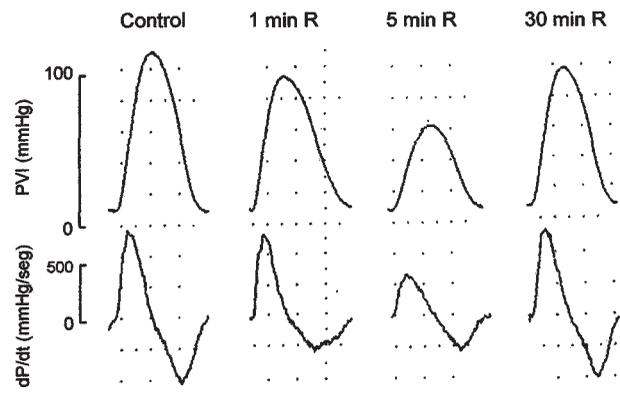


Fig. 3.— Registro típico que muestra la presión ventricular izquierda y su primera derivada, en situación control y durante diferentes tiempos del período de reperusión, luego de 15 minutos de isquemia, en un corazón al cual se le administró adenosina al comienzo de la reperusión. Se observa persistencia de las alteraciones tempranas de la relajación isovolúmica, con recuperación de la función ventricular sistólica y la disminución de la rigidez diastólica.

similar: alcanzó en el primer minuto un $80 \pm 9\%$ ($P < 0.05$ con respecto al valor preisquémico), $48 \pm 3\%$ a los 5 minutos ($P < 0.05$) y $57 \pm 5\%$ a los 15 minutos ($P < 0.05$), manteniéndose en valores cercanos hasta el final del período de reperusión. Con la administración de

adenosina, ya sea antes de la isquemia o al comienzo de la reperusión los valores de la presión desarrollada a los 30 minutos de la reperusión fueron de un $86 \pm 7\%$ ($P < 0.05$) y $80 \pm 3\%$ ($P < 0.05$), respectivamente, con respecto a sus valores control. El otro índice de contractilidad

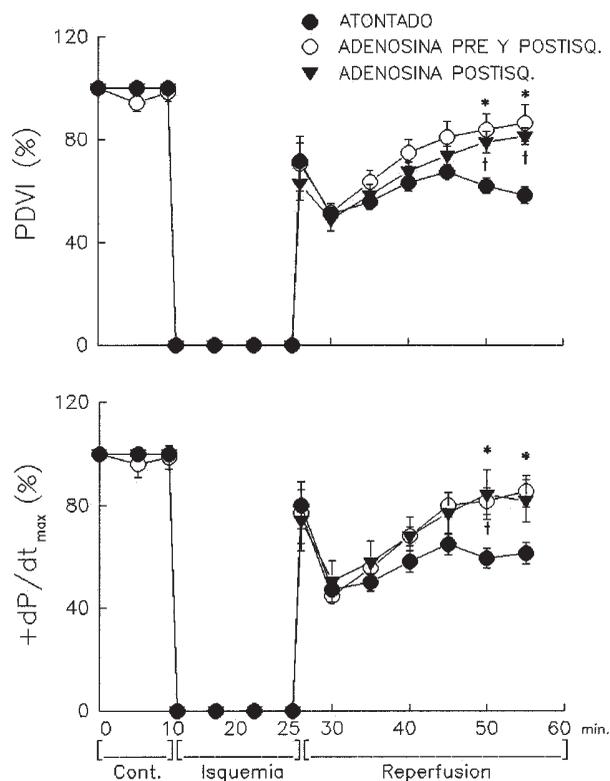


Fig. 4.- Se representan los valores de presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PDVI) (panel superior) y de la $+dP/dt_{max}$ (panel inferior), en los tres grupos estudiados, en situación control y durante 30 minutos de reperfusion, después de 15 minutos de isquemia; obsérvese que la adenosina independientemente del tiempo de administración atenuó las alteraciones sistólicas de la disfunción postisquémica. Preisq.: Preisquémico. Postisq.: Postisquémico. *: $P < 0.05$ adenosina pre. y postisq. vs atontado; †: $P < 0.05$ adenosina postisq. vs atontado.

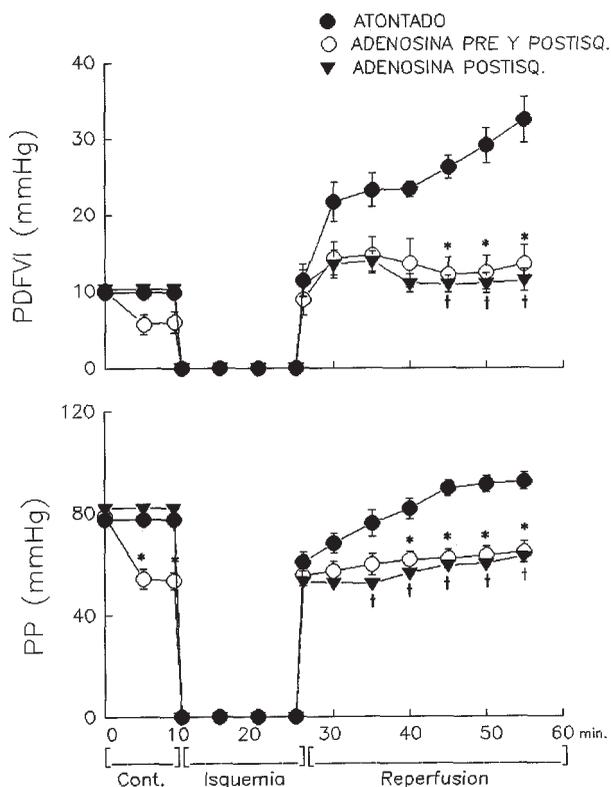


Fig. 5.- Se muestran los valores de presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI) (panel superior) y de la presión de perfusión coronaria (PP) (panel inferior), en los tres grupos estudiados, en situación control y durante 30 minutos de reperfusion, después de 15 minutos de isquemia, se observa que la adenosina, independientemente del tiempo de administración, atenuó el aumento de la rigidez diastólica, y de la presión de perfusión coronaria. *: $P < 0.05$ adenosina pre y postisq. vs atontado, †: $P < 0.05$ adenosina postisq. vs atontado.

evaluado, la $+dP/dt_{max}$ se recuperó en un $87 \pm 6\%$ ($P < 0.05$) y en un $83 \pm 9\%$ ($P < 0.05$) respectivamente. Como se observa, la adenosina independientemente del momento de su administración atenuó la disfunción postisquémica sistólica.

En el panel superior de la Fig. 5 se puede observar el comportamiento de la presión diastólica final en el miocardio atontado sin intervención farmacológica, la cual aumentó durante la reperfusion hasta un $205 \pm 36\%$ a los 30 minutos de reperfusion ($P < 0.05$). Con la administración de adenosina, antes de la isquemia o en el momento de la reperfusion, la presión diastólica final no aumentó significativamente, alcanzando un $46 \pm 17\%$ ($P < 0.05$) y $10 \pm 13\%$ ($P < 0.05$) respectivamente a los 30 minutos de reperfusion, siendo estos valores significativos con respecto al "miocardio atontado" (Grupo 2). En el panel inferior de la misma figura, evaluamos las

variaciones de la presión de perfusión coronaria, en el grupo control y en los dos grupos tratados con adenosina. Se observa que en el grupo control, inmediatamente después del período de isquemia, la presión comienza a elevarse progresivamente hasta alcanzar un $19 \pm 4\%$ ($P < 0.05$) a los 30 minutos del período de reperfusion, con respecto al control. En el grupo que recibió el nucleósido antes de la isquemia, se observa la caída de la presión de perfusión coronaria durante la administración de la droga, antes de la isquemia, hasta un $68 \pm 4\%$ ($P < 0.05$). Luego del período de isquemia, tanto en el grupo mencionado como en el que recibió la adenosina en el momento de iniciarse la reperfusion, la presión a los 30 minutos de la reperfusion alcanzó un $82 \pm 6\%$ y $76 \pm 2\%$, respectivamente. Estos resultados muestran la atenuación del aumento de la rigidez diastólica y de la resistencia coronaria, por parte de la

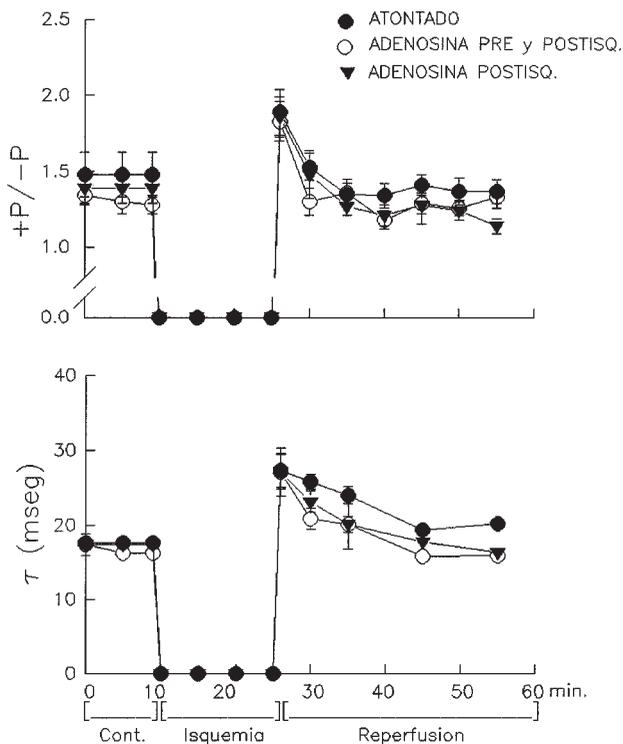


Fig. 6.— Se observan los dos índices utilizados para evaluar la relajación isovolúmica: el cociente +P/-P (panel superior) y la constante de tiempo de decaimiento de la presión τ (panel inferior), antes y después de la administración de adenosina. Obsérvese que el nucleósido no atenuó las alteraciones tempranas de la relajación que ocurren en el "miocardio atontado" en ninguno de los grupos evaluados.

adenosina, independientemente del momento de su administración.

La Fig. 6 muestra el comportamiento de dos índices de relajación miocárdica: el cociente +P/-P y la constante de tiempo de decaimiento de la presión, τ . Se observa que en el "miocardio atontado" hay un enlentecimiento transitorio de la velocidad de relajación que se refleja en un aumento del cociente +P/-P y del τ , desde 1.43 ± 0.12 y 17.68 ± 0.3 mseg., respectivamente en situación control hasta valores de 1.83 ± 0.17 ($P < 0.05$) y 27.37 ± 2 mseg ($P < 0.05$) al minuto de la reperfusión, respectivamente, para normalizarse progresivamente durante el transcurso de la reperfusión. La adenosina no modificó las alteraciones de esta fase de la diástole, independientemente del tiempo en el que fue administrada.

La Fig. 7 muestra los valores de CPK y LDH durante la reperfusión en los tres grupos estudiados. Se observa que en el "miocardio atontado", durante la reperfusión, hubo un aumento transitorio de la liberación enzimática, que se fue normalizando en función del tiempo y volvió a los valores preisquémicos a los 5 minutos. La administración de adenosina no modificó significativamente la liberación de CPK y LDH.

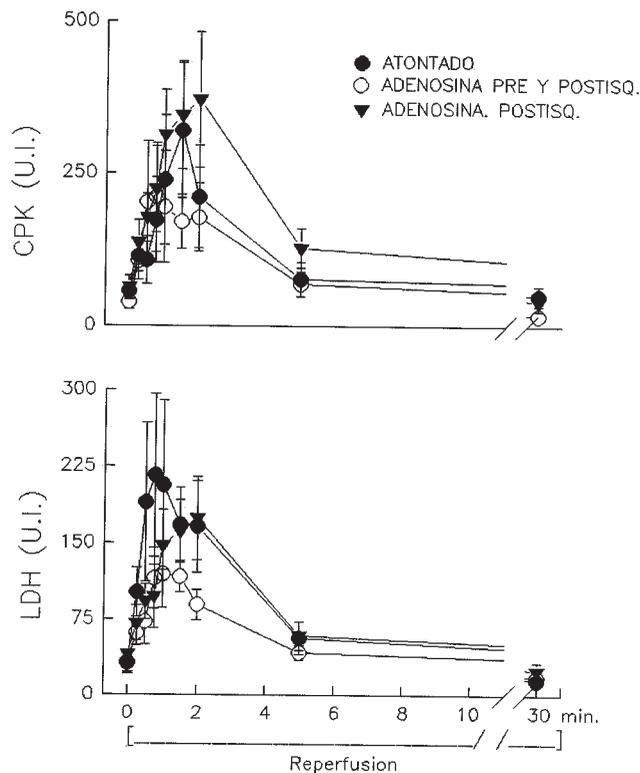


Fig. 7.— Muestra las concentraciones de creatinfosfoquinasa (CPK) (panel superior) y de lactodeshidrogenasa (LDH) (panel inferior) durante la reperfusión, en situación control y durante la reperfusión. Obsérvese que la adenosina, administrada antes del período de isquemia o desde el inicio de la reperfusión, no modificó significativamente la concentración de enzimas en el efluente coronario.

Discusión

En el presente trabajo se muestra evidencia experimental indicando que la administración de adenosina exógena antes de la isquemia y hasta el final de la reperfusión, en un modelo animal de isquemia global, protege al miocardio de las alteraciones sistólicas y de la rigidez diastólica de la disfunción postisquémica. Sin embargo la adenosina no modificó el componente activo diastólico evaluado a través de la relajación isovolúmica. Un hallazgo interesante es el hecho de que la protección se manifestó aun cuando la adenosina fue administrada sólo desde el comienzo de la reperfusión.

Si bien estudios previos mostraron el efecto protector de este nucleósido sobre la función sistólica del "miocardio atontado"¹⁹, el nuestro extiende ese concepto de protección en varios aspectos importantes. En primer lugar algunos de los trabajos que mostraron efecto cardioprotector utilizaron modelos de isquemia regional¹⁸.¹⁹. En estos modelos el estado contráctil puede ser influenciado por la presencia de circulación colateral y contracción ventricular asincrónica, que son variables difíciles de controlar y complican la evaluación del esta-

do contráctil²⁵. Si los modelos de isquemia regional se realizan en organismos intactos, la función sistólica es modificada también por variaciones en la pre y la poscarga. En estos modelos la administración de adenosina, puede provocar una mejoría de los parámetros eyectivos, posiblemente debido a una disminución de la poscarga en vez de un efecto directo sobre el miocardio. Otra variable a considerar en estos modelos es que los cambios en las condiciones de carga del corazón disminuyen el consumo de oxígeno y por lo tanto mejoran la relación aporte-demanda de la isquemia. Al utilizar, en nuestro estudio, un modelo de corazón aislado isovolúmico, con isquemia global y flujo coronario constante eliminamos la influencia de los factores mencionados.

Un segundo aspecto es que analizamos los dos componentes de la fase diastólica: la relajación isovolúmica y la rigidez ventricular. Es conocido que en el "miocardio atontado" existe durante la reperfusión una disociación entre estas dos fases de la diástole²⁶ que se manifiesta según evaluemos la reperfusión precoz o tardía: mientras que en la primera existe alteración de ambas subfases diastólicas, en la reperfusión tardía persiste el aumento de la rigidez ventricular pero con relajación normal. La adenosina atenuó el aumento de la rigidez ventricular diastólica, pero no modificó las alteraciones tempranas de la relajación isovolúmica. En general los trabajos evaluaron la protección farmacológica de la disfunción postisquémica sistólica a través de la administración de adenosina, pero poco es lo que se ha mostrado acerca de la protección de las alteraciones diastólicas. Lasley y col.¹⁴ mostraron atenuación del aumento de la rigidez diastólica durante la reperfusión, administrando adenosina 10 minutos antes del período de isquemia, pero utilizando un tiempo prolongado de isquemia (30 minutos) por lo que es válido pensar que la adenosina actuó disminuyendo el tamaño de infarto, y de esta manera indirectamente mejoró la función ventricular. Además este grupo no evaluó el efecto del nucleósido sobre las alteraciones de la relajación isovolúmica. Rynning y col.¹⁷ utilizando bloqueantes de los receptores de adenosina no obtuvieron diferencias al evaluar la rigidez diastólica en un modelo de 10 minutos de isquemia regional. Mosca y col.⁸ estudiaron los dos componentes de la diástole, pero la adenosina no fue administrada en la reperfusión.

Una tercera diferencia con trabajos previos es que hemos evaluado el efecto de la droga según el momento de la administración. Nuestros datos muestran que la adenosina protege al miocardio no sólo cuando es administrada antes del período de isquemia como ha sido mostrado por otros autores^{8, 18}, sino que también lo hace cuando es dada desde el comienzo de la reperfusión. Por lo menos en nuestro conocimiento sólo un trabajo previo administró la droga al comienzo de la reperfusión,

en un modelo de isquemia regional de 15 minutos¹⁹, sin embargo en dicho estudio no se logró proteger la función ventricular sistólica, y no se evaluó la función diastólica. En nuestro trabajo logramos proteger las alteraciones del estado contráctil y de la rigidez diastólica en la disfunción postisquémica administrando adenosina sólo en la reperfusión, en un modelo de corazón aislado sometido a 15 minutos de isquemia global con estricto control de variables.

En el presente estudio hemos evaluado, también, los efectos de la adenosina sobre la liberación de enzimas en el "miocardio atontado"²⁷. En el grupo de animales tratados con adenosina desde antes del período de isquemia y hasta el final del experimento, la concentración de enzimas fue levemente menor, aunque no significativa, con respecto al grupo "miocardio atontado". Cuando la adenosina fue administrada desde el inicio de la reperfusión, la concentración de enzimas no se modificó con respecto al grupo control. Dado que la liberación de CPK y LDH durante la reperfusión se relaciona con el daño producido en la membrana celular y la presencia de injuria irreversible, estos datos descartan que la mejoría de la función ventricular ocurra como consecuencia de un efecto beneficioso de este compuesto sobre las pequeñas zonas de necrosis²⁸, sugiriendo un efecto beneficioso directo sobre el miocardio.

Si bien nuestro protocolo experimental no fue diseñado para estudiar los mecanismos involucrados en la protección miocárdica por adenosina, nuestros datos permiten realizar algunas especulaciones. En primer lugar, en el grupo tratado con adenosina durante todo el experimento se podría, como ya fuera mencionado, estar activando el mecanismo de preconditionamiento isquémico descrito por Liu y col.⁷ y de esta manera se mejoraría la función ventricular^{7-9, 29, 30}. En segundo lugar, algunos autores³¹ sugieren la posibilidad de que la adenosina mejore la función sistólica por un incremento del flujo coronario ("fenómeno de Gregg"), y que éste en forma análoga a la ley de Frank-Starling, condicione la longitud de los miocitos circundantes ("precarga interna"). Este no sería el caso en nuestro modelo experimental, debido a que nosotros trabajamos con flujo coronario constante. En tercer lugar, la reperfusión provoca un significativo deterioro de la respuesta vasodilatadora en el lecho previamente isquémico³², con liberación de endotelinas, una de las más potentes sustancias vasoconstrictoras³³, que tendrían un importante rol en la reducción del flujo sanguíneo durante la reperfusión³⁴. Velasco y col.³⁵ describieron que la adenosina puede disminuir durante la reperfusión temprana, la liberación de endotelinas mejorando la función ventricular aun cuando la adenosina es administrada durante la reperfusión. Por último, debemos considerar el efecto antioxidante que posee la adenosina³⁶ por atenuar la activación y adherencia de los neutrófilos², aunque debemos descartarlo en nuestro

modelo por tratarse de corazones perfundidos con solución de Ringer.

En resumen, hemos mostrado en un modelo experimental con estricto control de variables e isquemia global, que la administración de adenosina protege al miocardio de las alteraciones postisquémicas sistólicas y del aumento de la rigidez diastólica, sin modificar la relajación isovolúmica. Esta protección se manifiesta en forma independiente del momento de la administración de la droga. Si bien la extrapolación de datos obtenidos en animales de experimentación a pacientes debe ser hecho con extrema cautela, el hecho de que la administración de la adenosina posterior al período de isquemia posea también un efecto protector, podría representar una interesante propuesta terapéutica. Sin embargo, se deben considerar sus efectos hipotensores debidos a la activación del receptor A_2 , la fugacidad de la acción de este compuesto y la aparición de tolerancia con su administración crónica³⁷.

Agradecimientos: Agradecemos a la estudiante de medicina, Verónica D'Annunzio su colaboración técnica en el trabajo, al Dr. José Manuel Rodríguez su desinteresada y valiosa ayuda en la corrección del manuscrito y a la División Diagnóstica de Roche por la donación de reactivos para la determinación de enzimas.

Bibliografía

- Ely S, Berne R. Protective effects of Adenosine in myocardial ischemia. *Circulation* 1992; 85: 893-904.
- Hori M, Kitakaze M. Adenosine, the heart, and coronary circulation. *Hypertension* 1991; 18: 565-74.
- Belardinelli L, Lindell J, Berne R. The cardiac effects of Adenosine. *Progress in Cardiovascular Diseases* 1989; 32: 73-97.
- Berne RM. Cardiac nucleotides in hypoxia: Possible role in regulation of coronary blood flow. *Am J Physiol* 1963; 204: 317-22.
- Berne R. The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. *Circ Res* 1980; 47: 807-13.
- Ralevic V, Burnstock G. Roles of P2-purinoceptors in the cardiovascular system. *Circulation* 1991; 84: 1-14.
- Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350-6.
- Mosca S, Gelpi RJ, Cingolani HE. Adenosine and dipyridamole mimic the effects of ischemic preconditioning. *J Moll Cell Cardiol* 1994; 26: 1403-9.
- Cave AC, Collis CS, Downey JM, Hearse DJ. Improved functional recovery by ischaemic preconditioning is not mediated by adenosine in globally ischaemic, isolated rat heart. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 663-8.
- Downey JM, Cohen MV, Ytrehus K, Liu Y. Cellular mechanism in ischemic preconditioning: The role of adenosine and protein kinase C. En: Das DK, Editor. Cellular, biochemical and molecular aspects of reperfusion injury. *Ann NY Acad Sc* 1994; 723: 82-98.
- Murry CE, Jennings R, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36.
- Pitavys C, Virmani R, Vildibill H, Jackson E, Forman M. Reduction of myocardial reperfusion by intravenous adenosine administered during the early reperfusion period. *Circulation* 1991; 83: 237-47.
- Norton E, Jackson E, Virmani R, Forman M. Effect of intravenous adenosine on myocardial reperfusion injury in a model with low myocardial collateral blood flow. *Am Heart J* 1991; 122: 1283-91.
- Lasley R, Mentzer R Jr. Adenosine improves recovery of postischemic myocardial function via an adenosine A1 receptor mechanism. *Am J Physiol* 1992; 32: H1460-5.
- Janier M, Vanoverschelde JL, Bergman S. Adenosine protects ischemic and reperfused myocardium by receptor-mediated mechanism. *Am J Physiol* 1993; 264: H163-70.
- Whittaker P, Klöner R, Przyklenk K. Intramyocardial injection and protection against myocardial ischemia. *Circulation* 1996; 93: 2043-51.
- Rynning S, Hexeberg E, Birkeland S, Wetsby J, Grong K. Blockade of adenosine receptors during ischaemia increases systolic dysfunction but does not affect diastolic creep in stunned myocardium. *Eur Heart J* 1994; 15: 1705-11.
- Ogawa T, Miura T, Kazuaki S, Iimura OJ. Activation of adenosine receptors before ischemia enhances tolerance against myocardial stunning in the rabbit heart. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 225-33.
- Sekili S, Jeroudi M, Tang X, Zughaib M, Zhong-Sun J, Bolli R. Effect of adenosine in myocardial "Stunning" in the dog. *Circ Res* 1995; 76: 82-94.
- Verdouw P, Van den Doel M, Zeeuw S, Duncker D. Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes. *Cardiovasc Res* 1998; 39: 121-35.
- Gelpi RJ, Mosca SM, Cingolani HE. The effect of Bay K 8644 on diastolic function in the dog heart. *J Moll Cell Cardiol* 1990; 22: 1285-96.
- Grassi de Gende AO, Pérez Alzueta AD, Cingolani HE. Effect of isoproterenol on the relation between maximal rate of contraction and maximal rate of relaxation. *Am J Physiol* 1977; 233: H404-9.
- Szasz G, Gruber W, Bernt E. Creatinkinase in serum. Determination of optimum reaction condition. *Clin Chem* 1976; 22: 650-6.
- Keidinz R, Horder M, Gerhard L. Recommended methods for determination of four enzymes in blood. *Scand J Clin Lab Invest* 1974; 33: 291-306.
- Brunvand H, Rynning SE, Hexeberg E, Westby J, Grong K. Non uniform recovery of segment shortening during reperfusion following regional myocardial ischaemia despite uniform recovery of ATP. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 138-46.
- Mosca SM, Carriquirborde M, Cingolani HE. Biphasic changes in relaxation following reperfusion after myocardial ischemia. *Mol Cell Biochem* 1996; 160/161: 123-8.
- Gelpi RJ, Morales C, Rodríguez M, Bagnarelli A, Hita A, Scapin O. Efecto del Enalaprilato sobre la disfunción postisquémica sistólica y diastólica ("miocardio atontado") en el corazón aislado de conejo. *Medicina (Buenos Aires)* 1998; 58: 22-8.
- Miura T, Downey JM, Ooiwa H, Ogawa S, Adachi T, Noto T, Shizukuda Y, Iimura O. Progression of myocardial infarction in a collateral flow deficient species. *Jpn Heart J* 1989; 30: 695-708.
- Miura T, Iimura O. Infarct size limitation by preconditioning: its phenomenological features and the key role of adenosine. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 36-42.

30. Parrat J. Possibilities for the pharmacological exploitation of ischaemic preconditioning. *J Moll Cell Cardiol* 1995; 27: 991-1000.
31. Stahl L, Aversano T, Becker L. Selective enhancement of function of stunned myocardium by increased flow. *Circulation* 1986; 74: 843-51.
32. Babbitt D, Virmani R, Forman M. Intracoronary adenosine administered after reperfusion limits vascular injury after prolonged ischemia in the canine model. *Circulation* 1989; 80: 1388-99.
33. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 415-5.
34. Forman M, Velasco C, Jackson E. Adenosine attenuates reperfusion injury following regional myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 9-17.
35. Velasco CE, Jackson EK, Morrow J, Vitola JV, Inagami T, Forman M. Intravenous adenosine suppresses cardiac release of endothelin after myocardial ischaemia and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1993; 24: 121-28.
36. Karmazyn M, Cook M. Adenosine A1 receptor activation attenuates cardiac injury produced by hydrogen peroxide. *Circ Res* 1992; 71: 1101-10.
37. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. Conscious rabbits become tolerant to multiple episodes of ischemic preconditioning. *Circ Res* 1994; 74: 998-1004.

In 1971 Burnet stated: "None of my juniors seem to be worried as I am by the fact that the contribution of laboratory science to medicine has virtually come to an end". A similar outlook on the future of surgery was held in 1930 by the famous surgeon Lord Moynihan. "We can surely never hope to see the craft of surgery made much more perfect than it is today. We are at the end of a chapter". Yet would not both Burnet and Moynihan be greatly surprised and pleased by the technological breakthroughs and novel experimental approaches that have given us so much new knowledge both in surgery and immunology? And although we can employ numerous strategies to allow better survival of transplants, to deal with various forms of immunological aberrations, and to produce new vaccines, we still have to learn a great deal, in particular how to apply clinically the fundamental knowledge obtained from our bench work. I am thus in full agreement with the late Sir Karl Popper that "the deeper our learning, the more conscious, specific and articulate will be our knowledge of what we do not know, our knowledge of our ignorance". As Sir Winston Churchill once said. "So much accomplished, so much still to be done".

En 1971 Burnet dijo: "Ninguno de mis discípulos parece preocupado por el hecho de que la contribución de la investigación a la medicina ha llegado virtualmente a su fin". Un punto de vista similar sobre el futuro de la cirugía había tenido en 1930 el famoso cirujano Lord Moynihan: "Ciertamente no podemos esperar que el arte de la cirugía se perfeccione aún más que en la actualidad. Hemos llegado al final del capítulo". Sin embargo ¿no estarían tanto Burnet como Moynihan de lo más agradablemente sorprendidos con los descubrimientos y las nuevas tecnologías que nos han proporcionado tantos nuevos conocimientos tanto en inmunología como en cirugía? No obstante, a pesar de las nuevas estrategias que permiten mejor supervivencia de los trasplantes, mejor manejo de las aberraciones inmunológicas y mejor producción de vacunas, todavía tenemos mucho que aprender, en particular como llevar a la clínica los resultados de la investigación básica. Por eso estoy en total acuerdo con Sir Karl Popper que "cuanto más profundo nuestro conocimiento, cuanto más consciente, específica y articulada será nuestra apreciación de lo que no sabemos, y de la profundidad de nuestra ignorancia". Como dijo Sir Winston Churchill alguna vez: "Tanto cumplido, y tanto más por hacer".

Jacques F.A.P. Miller

Discovering the origins of immunological competence. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 1-17