

## VASODILATADORES EN ARTERIAS RADIALES HUMANAS AISLADAS

GUSTAVO RINALDI<sup>1</sup>, DANIEL NAVIA<sup>2</sup>, GUILLERMO VACCARINO<sup>2</sup>, ELISEO SEGURA<sup>2</sup>, JORGE ALBERTAL<sup>2</sup><sup>1</sup> Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata;<sup>2</sup> Servicio de Cirugía Cardiovascular, Instituto Cardiovascular de Buenos Aires

**Resumen** Este trabajo se diseñó para evaluar la efectividad de diversos vasodilatadores aplicados tópicamente para prevenir la hiperreactividad de las arterias radiales (AR) implantadas como bypass aortocoronario. De cada uno de los remanentes de AR provenientes de 20 pacientes operados se obtuvieron 4 anillos que se incubaron por 30 minutos en condiciones control (n = 20) o en presencia de 30 µM de diltiazem (DILT, n = 6), mibefradil (MIBE, n = 4) o mezcla de verapamil + nitroglicerina (VP-NTG, n = 6). La subsiguiente exposición a CIK 80 mM (en ausencia de vasodilatadores) provocó una contracción sostenida en los anillos control, que fue atenuada en un 35 ± 9% por DILT, 48 ± 13% por VP-NTG y 69 ± 20% por MIBE (p < 0.05). La preincubación con vasodilatadores provocó también la disminución de frecuencia e intensidad de contracciones rítmicas espontáneas de la AR. En anillos almacenados en frío por 24 hs y luego reestimulados con CIK 80 mM el efecto depresor fue aun evidente: DILT 53 ± 6%, VP-NTG 46 ± 14% y MIBE 61 ± 9% (p < 0.05). El efecto del MIBE fue más intenso y persistente que el de DILT o VP-NTG, aún a concentraciones que provocan un igual efecto depresor inicial. Se concluye que la exposición a vasodilatadores durante un período equivalente a la duración de la preparación de la AR a implantar produce una atenuación de la reactividad arterial que proporcionaría una protección adicional contra el espasmo durante el postoperatorio inmediato.

**Abstract** *Vasodilators in isolated human radial arteries.* This paper was designed to evaluate the effectivity of several vasodilators, applied topically, to attenuate the hyperreactivity of radial arteries (RA) implanted as aorto-coronary bypass. Remnant segments of the RA were obtained from 20 operations, and each of the segments was divided into 4 rings. The rings were incubated for 30 minutes in control conditions (n = 20) or in presence of 30 µM of Diltiazem (DILT, n = 6), 30 µM of mibefradil (MIBE, n = 4) or a mixture of 30 µM of verapamil + 30 µM of nitroglycerin (VP-NTG, n = 6). A subsequent exposure to KCl 80 mM (in absence of vasodilators) evoked a sustained contraction in control rings, which was attenuated by 35 ± 9% by DILT, 48 ± 13% by VP-NTG and by 69 ± 20% by MIBE (p < 0.05). Preincubation with vasodilators also attenuated the rate and intensity of rhythmic contractions of the RA. In rings that were cold-stored during 24 hs and then restimulated with KCl 80 mM the depressing effect was still evident: DILT 53 ± 6%, VP-NTG 46 ± 14% and MIBE 61 ± 9% (p < 0.05). The effect of MIBE was more intense and persistent than that of DILT or VP-NTG, even at concentrations eliciting a similar initial depression of contraction. It is concluded that the exposure to vasodilators during a period equivalent to the duration of the surgical preparation of the RA produces an attenuation of the arterial reactivity that might provide an additional protection against RA spasm during the immediate postoperative period.

**Key words:** radial artery, aortocoronary bypass, mibefradil, diltiazem, verapamil, nitroglycerin

Desde la introducción de las técnicas de revascularización miocárdica directa<sup>1, 2</sup> se han utilizado con este propósito diversos vasos como la vena safena, las arterias mamaria interna y radial, y algunas arterias viscerales<sup>3</sup>. El uso de la arteria radial fue propuesto y realizado inicialmente por Carpentier en 1971<sup>4, 5</sup>, pero dos años más tarde el mismo autor recomendó el abandono de la técnica debido a la alta incidencia de espasmo u oclusión de este vaso demostrados en controles

angiográficos postoperatorios. Sin embargo, quince años más tarde se encontraron arterias radiales funcionantes en pacientes en los cuales inicialmente se las había considerado ocluidas<sup>6</sup>. Este hecho, unido a la disponibilidad de vasodilatadores más efectivos y a técnicas más cuidadosas para la exéresis y preservación del vaso, llevó a que este equipo quirúrgico retomara el uso de la arteria radial para la revascularización miocárdica<sup>6</sup>.

Para prevenir la aparición de espasmos se han utilizado dos técnicas principales, a veces combinadas entre sí<sup>6, 9</sup>: 1) El tratamiento tópico de la arteria con diversos vasodilatadores, unido a su dilatación hidrostática, y 2) El tratamiento sistémico intra y postoperatorio con vasodilatadores. Debido a los riesgos que implica la administración sistémica de vasodilatadores, especialmente en pacientes con disfunción ventricular severa, es inte-

Recibido: 9-XI-1999

Aceptado: 3-V-2000

**Dirección postal:** Dr. Gustavo Rinaldi, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, 47 y 115, 1900 La Plata, Argentina  
Fax: 54-0221-15-4592506 e-mail: rinaldi@nahuel.biol.unlp.edu.ar

resante la posibilidad de disponer de tratamientos tópicos efectivos que permitan eliminar o al menos disminuir cuantitativamente el tratamiento sistémico.

En este trabajo intentamos evaluar, utilizando segmentos de arterias radiales humanas en una cámara de órgano aislado, la efectividad de diversos vasodilatadores aplicados tópicamente para atenuar la reactividad de la arteria radial frente a un estímulo contráctil. A diferencia de otros estudios existentes en vasos aislados, no nos proponíamos detectar la relajación vascular en presencia de vasodilatadores, sino la persistencia de dicho efecto residual cuando la droga ya no estaba en contacto con el preparado. Nuestra hipótesis de trabajo fue que la exposición *in vitro* a las drogas mencionadas durante un período breve podría atenuar la posterior respuesta contráctil de la arteria radial aislada. Si esto ocurría, podría interpretarse como un efecto protector de la droga ante la aparición de espasmos, y las condiciones más controladas que se emplean *in vitro* permitirían comparar la efectividad de las diferentes drogas utilizadas.

## Materiales y métodos

### Obtención de las muestras

Las muestras de arteria radial empleadas en este estudio fueron obtenidas de 20 pacientes operados en el Servicio de Cirugía Cardiovascular del Instituto Cardiovascular de Buenos Aires, en los cuales este vaso fue usado para el bypass aortocoronario. Una vez que la arteria fue extraída y en forma previa a otro tratamiento, se obtuvo un segmento de 10 a 15 mm de largo, el cual se colocó en un frasco plástico con solución fisiológica. Dicho frasco fue transportado en hielo hasta la ciudad de La Plata, donde los vasos fueron estudiados *in vitro* en el Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. Debido al tiempo transcurrido entre la obtención de la muestra y la llegada al laboratorio, en 15 casos los segmentos se guardaron en el mismo frasco en la heladera hasta el día siguiente, cuando fue iniciado el estudio experimental. En los restantes 5 casos el estudio fue comenzado el mismo día de obtención de las muestras. Algunos datos clínicos de los enfermos pueden consultarse en la Tabla 1.

### Registro de la fuerza de contracción arterial

El segmento arterial fue colocado en una cápsula de Petri conteniendo una solución de Krebs-Henseleit (SKH) modificada, burbujeada con una mezcla de 95% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub>. La composición de la SKH fue la siguiente (en mM): ClNa 130, ClK 4.7, PO<sub>4</sub>H Na<sub>2</sub> 1.17, SO<sub>4</sub> Mg 1.16, CO<sub>3</sub> HNa 24.0, Cl<sub>2</sub> Ca 1.6 y glucosa 11.0. Luego de extirpar el tejido conectivo circundante, el

segmento se cortó en 4 anillos de 2-3 mm de largo y cada uno de ellos se montó en una cámara de órgano aislado mantenida a 37 °C y llena de SKH burbujeada con la mezcla mencionada. Cada anillo se suspendió entre dos alambres de acero inoxidable, uno de ellos fijo y el otro vinculado a un transductor de fuerza Grass modelo FT.03D (Astro-Med, West Warwick, RI, USA). Los alambres podían ser separados con un micrómetro, permitiendo así aplicar una fuerza de reposo al preparado. La señal del transductor fue amplificada e introducida en una placa conversora analógico-digital (DT 16 EZ, Data Translation Inc., Marlboro, MA, USA) montada en una computadora personal. Un software especial (Labtech Notebook Pro, Laboratory Technology Corp., Wilmington, MA, USA) permitió obtener registros *on line* en pantalla y archivos en disco rígido para su posterior procesamiento y análisis<sup>10</sup>.

### Protocolo experimental

Después de cortados, los anillos fueron transferidos durante 30 minutos a cápsulas de Petri descartables de 5 ml, una de ellas llena con SKH (control) y las otras tres con una solución de 1) mibefradil, 2) nitroglicerina + verapamil o 3) diltiazem. En una serie inicial de experimentos la concentración de las drogas fue de 30 µM en todos los casos; y en una serie posterior la concentración de mibefradil fue disminuida a 15 µM y la de diltiazem fue aumentada a 50 µM por razones que se mencionarán en Resultados y en Discusión.

Es necesario destacar que los anillos arteriales fueron expuestos a los vasodilatadores únicamente durante estos 30 minutos. Todo lo que sigue del protocolo se realizó en ausencia de vasodilatadores, de modo que los efectos a describir reflejan una acción residual de las drogas emergente de esos 30 minutos de exposición a las mismas.

Una vez colocados los anillos en las cámaras, se los sometió a una fuerza de reposo de aproximadamente 4 g, y se dejaron estabilizar por 60 minutos, con reajustes de la fuerza cada 20 minutos. Al fin del período de estabilización los anillos fueron expuestos a una SKH con ClK elevado (80 mM) con una correspondiente disminución de la concentración de ClNa para preservar la isoosmolaridad. Esta maniobra provocó una contracción sostenida de los anillos, que fue seguida durante 2 hs. En 16 casos los anillos fueron desmontados y guardados toda la noche en la heladera en frascos rotulados y llenos con SKH; y al día siguiente se repitió el protocolo descripto, pero esta vez sin una nueva exposición a vasodilatadores (Fig. 1).

Al final de cada estudio los anillos fueron secados en papel de filtro y pesados, y la superficie de sección de los mismos fue calculada en base al peso y dimensiones de los anillos, asumiendo una densidad tisular de 1.05 g/cm<sup>3</sup><sup>11</sup>. Las fuerzas se expresaron en g/mm<sup>2</sup> o en porcentajes con respecto a la respuesta del anillo control en los mismos tiempos.

### Drogas

Las drogas utilizadas en la preparación de la SKH fueron de grado analítico y adquiridas a proveedores locales. Se utilizaron preparados comerciales de verapamil y nitroglicerina, y el mibefradil (droga pura) fue una donación de Hoffmann-La Roche AG (Basilea, Suiza). El diltiazem (droga pura) se adquirió en Sigma Chemical Company.

### Estadística

Los datos fueron expresados como la media ± 1 error estándar de la media. Las diferencias entre grupos fueron evaluadas mediante el test de t de Student o mediante el análisis de varianza de una vía, utilizando un software comercial (Sigma Stat, Jandel Corp.).

TABLA 1.— Datos de 20 pacientes del sexo masculino cuyas arterias se utilizaron en el estudio

Edad (años)	Fumadores	Diabéticos
58 ± 2 (rango de 46 a 71)	12 (60%)	4 (20%)

## Resultados

En total se enviaron para su estudio *in vitro* 23 anillos, de los cuales 3 fueron descartados por defectos de preservación durante el transporte. El peso, superficie de sección y fuerza de reposo de los anillos finalmente utilizados están detallados en la Tabla 2. El registro de un experimento individual en 4 anillos estudiados simultáneamente puede verse en la parte derecha de la Fig. 1.

Los anillos de arteria radial controles, es decir los no incubados con vasodilatadores, fueron difíciles de montar sobre los alambres para el registro de fuerza *in vitro* debido a su marcada tendencia al espasmo. Por el contrario, una vez incubados con vasodilatadores, y especialmente con mibefradil, se volvieron más distensibles. Esto se reflejó en los milímetros de estiramiento necesarios para obtener cada gramo de fuerza de reposo,

que como puede observarse en la Fig. 2 mostraron un incremento en el caso de todos los vasodilatadores estudiados, alcanzando significación en el caso del mibefradil. En los anillos controles aparecieron contracciones espontáneas rítmicas en un 60% de los casos, que desaparecieron luego de la incubación con vasodilatadores. Un ejemplo de contracción espontánea y su desaparición con verapamil + nitroglicerina puede observarse en la Fig. 3.

En los 20 anillos control, la exposición a CIK 80 mM el mismo día de recibidas las arterias provocó una contracción sostenida durante las 2 hs del experimento, y el almacenamiento en frío durante 24 hs provocó una muy ligera disminución de la fuerza desarrollada (Tabla 3). No obstante lo anterior, hay que tener en cuenta que como 15 experimentos se comenzaron luego de 24 hs de almacenamiento en frío y solamente 5 en el mismo

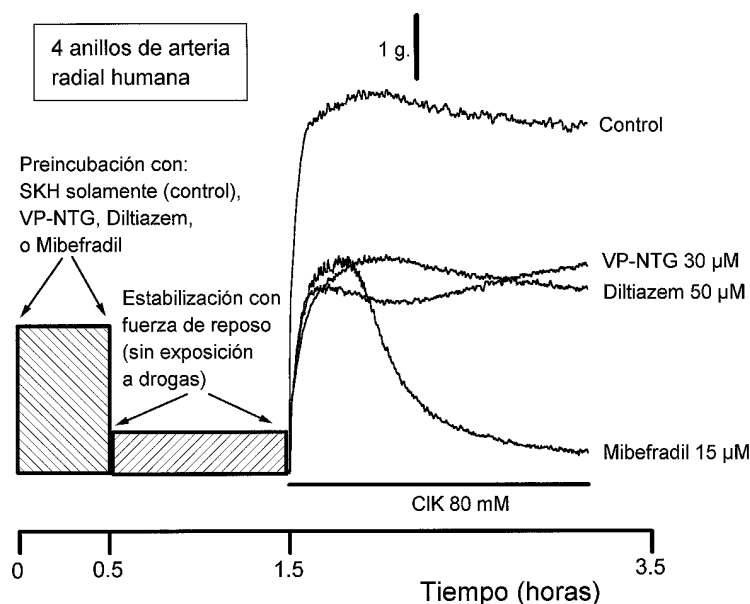


Fig. 1.- Esquema del protocolo empleado para el estudio del efecto de la preincubación con vasodilatadores. Los trazados ubicados a la derecha corresponden a un experimento en 4 anillos de una misma arteria radial, uno sin incubar (control) y los restantes incubados con vasodilatadores. Todas las incubaciones fueron previas al comienzo del experimento, y durante el trazado mostrado ninguno de los anillos estuvo en contacto con vasodilatadores. *SKH*: solución Krebs-Henseleit; *VP-NTG*: verapamil + nitroglicerina.

TABLA 2.- Datos morfológicos en 20 anillos de arteria radial en condiciones control

Peso (mg)	Superficie de sección de los anillos (mm <sup>2</sup> )	Fuerza de reposo (g/mm <sup>2</sup> )	Volumen de los anillos (cm <sup>3</sup> )
12.5 ± 1.7	3.7 ± 0.05	0.99 ± 0.16	0.011 ± 0.006

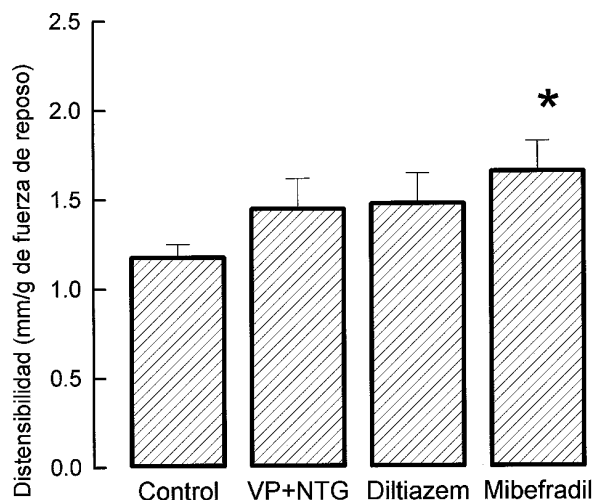


Fig. 2.— Distensibilidad de los anillos de arteria radial y efecto sobre la misma de los distintos vasodilatadores. Si bien la preincubación con todos ellos hace a la arteria más distensible con respecto al control, solamente es significativo el efecto del mibefradil.

día de la operación, los datos mencionados podrían estar enmascarando un deterioro ocurrido selectivamente en estos 5 anillos durante las primeras 24 hs. La Tabla 3 muestra que no fue así, ya que las contracciones en los 5 anillos control utilizados el mismo día de la operación no muestran valores significativamente diferentes del resto de los anillos, y conservan también intacta la relación endotelial durante las primeras 24 hs.

En una primera serie de experimentos en 16 arterias radiales, los anillos se incubaron con una concentración de 30 µM de cada vasodilatador: mibefradil (n = 4), diltiazem (n = 6) o verapamil + nitroglicerina (n = 6). La exposición posterior a CIK 80 mM produjo los efectos mostrados en la Fig. 4, en la cual la fuerza promedio obtenida en los anillos preincubados con droga, medida en el pico de la contracción, se muestra junto a la fuerza desarrollada por los respectivos anillos controles (no incubados con ninguna droga) en el mismo tiempo. Midiendo en la contracción pico de cada grupo (10 a 13 minutos luego de la exposición a CIK 80 mM), la

TABLA 3.— Fuerza de contracción con CIK 80 mM y relajación de la misma con acetilcolina 1 µM en 5 arterias usadas el mismo día de la operación y nuevamente a las 24 hs

Fuerza de contracción con CIK 80 mM (g/mm <sup>2</sup> )				Relación con acetilcolina 1 µM (% de la respuesta con CIK 80 mM)	
Mismo día		A las 24 hs		Mismo día	A las 24 hs
10 min	120 min	10 min	120 min		
1.28 ± 0.28	1.01 ± 0.29	1.18 ± 0.27	0.82 ± 0.27	45 ± 6%	43 ± 8%

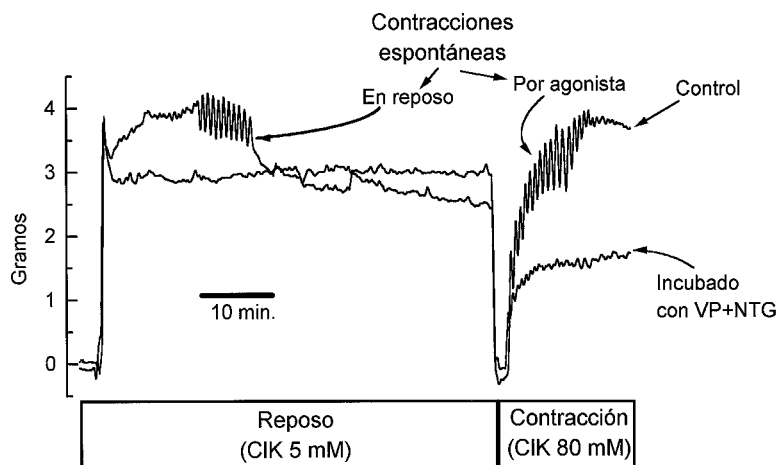


Fig. 3.— Contracciones espontáneas rítmicas de la arteria radial desarrolladas en forma espontánea, durante el período de reposo (CIK 5 mM) y durante la contracción por CIK 80 mM. Recuérdese (ver métodos) que la arteria no estuvo expuesta a vasodilatadores durante el período que se muestra en la figura, sino durante 30 minutos previos a su montaje en la cámara de órgano aislado. La subida de la fuerza al comienzo del trazado es pasiva, por estiramiento del preparado. El retorno a la línea de base previo al CIK elevado se efectuó electrónicamente para ver mejor la contracción siguiente.

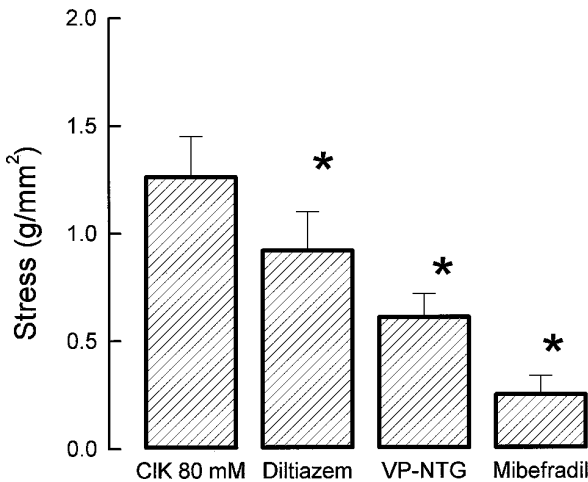


Fig. 4.— Fuerza por unidad de superficie desarrollada por anillos de arteria radial en respuesta a CIK 80 mM, medida en el pico de la contracción. Previamente a su montaje en las cámaras, los anillos de la columna de la izquierda (controles) fueron incubados simplemente en SKH; y los del resto de las barras en SKH más 30  $\mu$ M de cada uno de los vasodilatadores mostrados. Durante el experimento ninguno de los anillos estuvo en contacto con vasodilatadores. Controles n = 16, diltiazem n = 6, VP-NTG n = 6, mibefradil n = 4.

preincubación con los tres vasodilatadores produjo una disminución significativa de la fuerza con respecto al control: verapamil + nitroglicerina =  $48 \pm 13\%$  ( $p < 0.05$ ), diltiazem =  $35 \pm 9\%$  ( $p < 0.05$ ), y mibefradil  $69 \pm 20\%$  ( $p < 0.05$ ) (ANOVA por rangos [test de Kruskal-Wallis], método de Dunn). Los efectos producidos por los diferentes vasodilatadores no fueron significativamente diferentes entre sí. Midiendo a los 120 minutos de la exposición a CIK 80 mM la depresión producida por los vasodilatadores fue aún más pronunciada: verapamil + nitroglicerina =  $84 \pm 9\%$  ( $p < 0.05$ ), diltiazem =  $62 \pm 10\%$  ( $p < 0.05$ ), y mibefradil  $94 \pm 4\%$  ( $p < 0.05$ ). La depresión producida por mibefradil fue significativamente superior a la del diltiazem pero no a la de la mezcla verapamil-nitroglicerina (ANOVA por rangos [test de Kruskal-Wallis], método de Dunn).

Al final de estos 16 experimentos, los anillos fueron guardados durante la noche en la heladera en SKH, y al día siguiente se repitió el protocolo del día anterior pero sin nueva exposición a las drogas. El efecto depresor fue aún evidente, ya que midiendo a los 8-12 minutos de la exposición a CIK 80 mM la depresión porcentual con respecto al control fue de: verapamil + nitroglicerina =  $46 \pm 14\%$  ( $p < 0.05$ ), diltiazem =  $53 \pm 6\%$  ( $p < 0.05$ ), y mibefradil  $61 \pm 9\%$  ( $p < 0.05$ ) (ANOVA por rangos [test de Kruskal-Wallis], método de Dunn). Los efectos producidos por los diferentes vasodilatadores no fueron significativamente diferentes entre sí. Midiendo a los 120

minutos de la exposición a CIK 80 mM la depresión producida por los vasodilatadores fue: verapamil + nitroglicerina =  $76 \pm 27\%$  ( $p < 0.05$ ), diltiazem =  $51 \pm 6\%$  ( $p < 0.05$ ), y mibefradil  $93 \pm 7\%$  ( $p < 0.05$ ). La depresión producida por mibefradil fue significativamente superior a la del diltiazem pero no a la de la mezcla verapamil-nitroglicerina (ANOVA por rangos [test de Kruskal-Wallis], método de Dunn).

En los experimentos vistos el mibefradil se mostró aparentemente como más potente con respecto a los otros vasodilatadores empleados, pero eso podría deberse a que el efecto precoz (8 a 12 minutos) fue también más pronunciado que para el resto de las drogas. Por este motivo se realizaron experimentos adicionales en 5 arterias en las cuales la concentración de diltiazem se incrementó de 30 a 50  $\mu$ M y la del mibefradil se disminuyó de 30 a 15  $\mu$ M. En estos experimentos el efecto depresor temprano fue similar para todos los agentes empleados: verapamil + nitroglicerina =  $35 \pm 9\%$ , diltiazem =  $57 \pm 4\%$  y mibefradil =  $45 \pm 10\%$  (NS). A pesar de esto, el efecto a los 120 minutos fue el siguiente: verapamil + nitroglicerina =  $82 \pm 10\%$  ( $p < 0.05$ ), diltiazem =  $55 \pm 7\%$  ( $p < 0.05$ ) y mibefradil =  $91 \pm 4\%$  ( $p < 0.05$ ). La depresión producida por mibefradil fue significativamente superior a la producida por el diltiazem pero no a la producida por la mezcla verapamil-nitroglicerina (ANOVA por rangos [test de Kruskal-Wallis], método de Dunn).

## Discusión

Para facilitar el implante de la arteria radial en el bypass aortocoronario se suele recurrir a vasodilatadores aplicados en forma tópica al segmento a implantar con el objeto de suprimir la tendencia al espasmo. Combinando la irrigación con vasodilatadores con una suave dilatación hidrostática la arteria se relaja y se vuelve más adecuada para la anastomosis. Algunos vasodilatadores que han sido usados *in vitro* con este propósito son la papaverina, el diltiazem, la nitroglicerina, o mezclas de algunos de ellos<sup>6, 8, 12, 13</sup>. El objetivo de este trabajo fue doble: 1) evaluar dichos vasodilatadores de forma más sistemática en un preparado de arteria radial humana aislada bajo condiciones controladas y procurando respetar *in vitro* los tiempos de exposición a los vasodilatadores que se usan intraoperatoriamente; y 2) incluir además en el estudio un antagonista cálcico como el mibefradil que tiene marcada selectividad por el músculo liso vascular<sup>14, 19</sup>.

En los trabajos que abordaron más específicamente el tema<sup>12, 13</sup> lo que se hizo fue evaluar, en cámaras de órgano aislado, la efectividad de diversos vasodilatadores para inhibir la contractura provocada por agonistas en presencia continua de la droga, situación que se ase-

meja más a un uso postoperatorio sistémico de vasodilatadores. Teniendo en cuenta que en su uso tópico los vasodilatadores están solamente en contacto con la arteria durante el período de preparación pre-implante (aproximadamente 30 minutos), incubamos los anillos arteriales durante ese tiempo. Sin embargo, a diferencia del resto de los trabajos evaluamos su efecto sobre la contracción en ausencia de la droga. De este modo, todo el efecto observado fue debido a la acción residual de la droga, similar al que se obtendría en el postoperatorio con la aplicación tópica.

Utilizamos en nuestro estudio tres drogas ampliamente estudiadas: el diltiazem y el verapamil, que son drogas bloqueantes de la entrada de calcio y actúan en distintos sitios receptores vinculados a los canales lentos de entrada de calcio<sup>19</sup>; y la nitroglicerina, vasodilatador clásico que estimula a la gluanilato ciclasa incrementando los niveles de GMP cíclico intracelular<sup>20</sup>.

Otro aspecto novedoso del estudio fue utilizar el mibefradil<sup>14, 19</sup>, bloqueante de la entrada de calcio de acción prolongada y marcada selectividad vascular con escasos efectos inotrópicos negativos, y que se caracteriza por tener más afinidad por los canales de calcio de tipo T (activados por bajo voltaje) que por los de tipo L (activados por alto voltaje).

En más de la mitad de los preparados se observaron contracciones espontáneas, que desaparecieron luego de la incubación con los vasodilatadores. Esta tendencia a las contracciones ha sido descrita en coronarias humanas<sup>21, 23</sup>, y ha sido atribuida a oscilaciones del calcio citosólico provocadas por secuestros y liberaciones sucesivas en el retículo sarcoplásmico. Sin embargo, la abolición de las mismas por antagonistas cálcicos hace que no se pueda descartar una participación del calcio extracelular, cuyo ingreso es bloqueado por estas drogas.

Dada la ubicación distante del lugar de extracción de las arterias y el laboratorio donde se llevó a cabo el estudio experimental (60 km), se hizo necesario preservar y transportar las muestras y utilizarlas en la mayoría de los casos al día siguiente de la operación, lo cual puede crear una incógnita acerca de la viabilidad de los preparados en estas condiciones. Sin embargo, ha sido reiteradamente demostrado que, si se lo preserva en frío y en una solución adecuada, el músculo liso vascular conserva su respuesta contráctil por varios días<sup>24, 25</sup>, y durante los primeros dos días casi sin modificaciones con respecto a la respuesta contráctil del primer día. En forma coincidente, nosotros no observamos disminuciones significativas de la fuerza en los preparados a las 24 hs de la primera estimulación con CIK 80 mM. Incluso tomando en cuenta que 15 arterias fueron usadas por primera vez a las 24 hs de la operación (lo que hace que la primera estimulación sea en realidad a las 24 hs y la segunda a las 48 hs), su primera respuesta (a las 24 hs

reales de la operación) no difiere significativamente de la respuesta a las 24 hs en las 5 arterias que se usaron por primera vez el mismo día de la operación.

En las arterias usadas a las 48 hs podría estar algo deteriorada la vasodilatación mediada por endotelio, pero si así ocurriera este efecto se opondría a la vasodilatación observada con las drogas que empleamos, es decir que su efecto con el endotelio presente eventualmente se magnificaría. Por otra parte, el deterioro endotelial sería un factor común a todos los experimentos y que no anularía las diferencias observadas con los diferentes vasodilatadores.

El vasodilatador que se une al anillo de arteria radial durante el período de incubación es lavado durante la permanencia en la cámara de órgano aislado, cuyo volumen (40 ml) es unas 3 500 veces superior al de un anillo promedio. Esta situación la homologamos a la que ocurre *in vivo* cuando un segmento irrigado con vasodilatadores se implanta y la droga es lavada por los líquidos corporales.

El estímulo que usamos para contraer las arterias fue la exposición a una alta concentración de potasio extracelular, que despolariza la membrana, abre canales voltaje-operados, promueve influjo de calcio, y desencadena de esta forma la contracción vascular. A pesar de que es obviamente no fisiológico, elegimos este estímulo porque produce una respuesta confiable, reproducible, y que se sostiene bien en el transcurso del tiempo por períodos al menos tres veces más largos que el usado por nosotros<sup>20</sup>. Adicionalmente, no puede descartarse que haya ocurrido un cierto grado de estimulación adrenérgica, ya que el alto potasio extracelular produce liberación de noradrenalina de las terminales nerviosas de la pared arterial, pero la misma no es máxima a la concentración de CIK usada por nosotros<sup>26</sup>.

A concentraciones equimolares (30  $\mu$ M), el mibefradil fue el más potente de los vasodilatadores usados, si bien todos ejercieron una significativa depresión de la respuesta contráctil. A pesar de la falta de diferencia significativa con respecto a la combinación de verapamil-nitroglicerina, debe tenerse en cuenta que en este caso se trata de la mezcla de dos vasodilatadores en forma simultánea. El mayor efecto observado con mibefradil fue evidente aun cuando se usaron concentraciones equipotentes a un tiempo precoz en lugar de equimolares, demostrando que el efecto observado a concentraciones equimolares no se debió solamente a la mayor depresión precoz ejercida por el mibefradil.

En cuanto al modo de acción de las drogas estudiadas, en todos los esquemas experimentales había presente un bloqueante de la entrada de calcio, razón por la cual al abrirse los canales voltaje-operados por exposición a CIK 80 mM el ingreso de este catión hacia el citosol está reducido, y de allí el menor pico de fuerza

en los segmentos incubados. La evolución posterior de la fuerza refleja un balance entre la efectividad de los mecanismos extrusores y/o secuestradores de calcio y el efecto residual de la droga (que tienden a disminuirla) y el del CIK elevado (que tiende a aumentarla). Como se encuentra descrito, el efecto del mibefradil es muy persistente<sup>14, 19</sup>, y al oponerse efectivamente a la entrada de calcio, los mecanismos extrusores y/o secuestradores llevan la fuerza casi hasta la línea de base y la conservan en esa situación por un tiempo prolongado. Probablemente el resto de las drogas haya tenido menor acción residual, y los mecanismos extrusores y/o secuestradores no pudieron oponerse eficazmente a un mayor ingreso de calcio por los canales, estabilizándose la fuerza en un nivel mayor.

Si bien son conocidas las diferencias que necesariamente separan a la situación *in vivo* de los diseños *in vitro* que intentan emularla, creemos que los experimentos presentados en este trabajo permiten concluir que el uso tópico de diltiazem, verapamil + nitroglicerina, y muy especialmente mibefradil en el segmento de arteria radial a implantar proporcionan los siguientes efectos benéficos:

- a) Mayor distensibilidad del segmento a implantar.
- b) Eliminación de las contracciones espontáneas.
- c) Menor reactividad a estímulos contráctiles durante un tiempo equivalente al postoperatorio inmediato.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen el aporte económico y la provisión de mibefradil por parte de los Laboratorios Roche.

## Bibliografía

1. Favalaro RG. Autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion: operative technique. *Ann Thorac Surg* 1968; 5: 334-9.
2. Favalaro RG. Saphenous vein graft in the surgical treatment of coronary artery disease. Operative technique. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1969; 58: 178-85.
3. He G-W, Yang CQ. Radial artery has higher receptor-mediated contractility but similar endothelial function compared with mammary artery. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 1346-52.
4. Carpentier A, Guermonprez JL, Deloche A, Frechette C, Dubost C. The aorta-to-coronary radial artery bypass graft: a technique avoiding pathological changes in grafts. *Ann Thorac Surg* 1973; 16: 111-21.
5. Carpentier A, Discussion of Geha AS, Krone RJ, McCormick JR, Baue AE. Selection of coronary bypass: anatomic, physiological and angiographic considerations of vein and mammary artery grafts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 70: 414-31.
6. Acar C, Jebara VA, Portoghese M, et al. Revival of the radial artery for coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1992; 54: 652-60.
7. Reyes AT, Frame R, Brodman RF. Technique for harvesting the radial artery as a coronary artery bypass graft. *Ann Thorac Surg* 1995; 59: 118-26.
8. Dietl CA, Benoit CH. Radial artery graft for coronary revascularization: technical considerations. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 102-10.
9. Borger MA, Cohen G, Buth KJ, et al. Multiple arterial grafts. Radial versus right internal thoracic arteries. *Circulation* 1998; 98 (Suppl. II): 7-14.
10. Milesi V, Rebolledo A, Ayala Paredes F, et al. Passive and active properties of human saphenous veins from normotensive and hypertensive patients. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: 455-61.
11. Dobrin PB. Mechanical properties of arteries. *Physiol Rev* 1978; 58: 397-460.
12. He G-W, Yang CQ. Use of verapamil and nitroglycerin solution in preparation of radial artery for coronary grafting. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 610-4.
13. He G-W. Verapamil plus nitroglycerin solution maximally preserves endothelial function of the radial artery: comparison with papaverine solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 115: 1321-7.
14. Clozel JP, Osterrieder W, Kleinbloesem CH, et al. Ro 40-5967: a new nondihydropyridine calcium antagonist. *Card Drug Rev* 1991; 9: 4-17.
15. Rutledge A, Triggle DJ. The binding interactions of Ro 40-5967 at the L-type Ca<sup>2+</sup> channel in cardiac tissue. *Eur J Pharmacol* 1995; 280: 155-8.
16. Mishra SK, Hermsmeyer K. Inhibition of signal Ca<sup>2+</sup> in dog coronary arterial vascular muscle cells by Ro 40-5967. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 24: 1-7.
17. Osterrieder W, Holck M. *In vitro* pharmacological profile of Ro 40-5967, a novel Ca<sup>2+</sup> channel blocker with potent vasodilator but weak inotropic action. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13: 754-9.
18. Luscher TF, Clozel JP, Noll G. Pharmacology of the calcium antagonist mibefradil. *J Hypertens* 1997; 15: S11-8.
19. Triggle DJ. Pharmacological and therapeutic differences among calcium channel antagonists: profile of mibefradil, a new calcium antagonist. *Am J Cardiol* 1996; 78 (Suppl. 9A): 7-12.
20. Rinaldi GJ, Cingolani HE. The effect of substituted sydnonimines on coronary smooth muscle relaxation and cyclic guanosine monophosphate levels. *Circulation* 1983; 68: 1315-20.
21. Toda N. Isolated human coronary arteries in response to vasoconstrictor substances. *Am J Physiol* 1983; 245 (Heart and Circulatory Physiology): 937-41.
22. Ross G, Stinson E, Schroeder J, Ginsburg R. Spontaneous phasic activity of isolated human coronary arteries. *Cardiovasc Res* 1980; 14: 613-8.
23. Ginsburg R, Bristow MR, Harrison DC, Stinson E. Studies with isolated human coronary arteries. Some general observations, potential mediators of spasm, role of calcium antagonists. *Chest* 1980; 78: 180-6.
24. Shibata S. Effect of prolonged cold storage on the contractile response of strips of rabbit aorta to various agents. *Circ Res* 1969; 24: 179-87.
25. Rinaldi GJ, Thompson LE. Cold storage for vascular preparations: differential effect on endothelium and vascular smooth muscle survival in spontaneously hypertensive and normotensive rats (abstract). XV Congreso Interamericano de Cardiología y IV Congreso de la International Society for Heart Research (Latin American Section), Santiago, Chile, 6 al 9 de diciembre de 1995. *Revista Chilena de Cardiología* 1995; 14: 113.
26. Borda L, Shuchleib R, Henry PD. Effects of potassium on isolated canine coronary arteries. Modulation of adrenergic responsiveness and release of norepinephrine. *Circ Res* 1977; 41: 778-86.