

## PROTECCION DE LA FUNCION MIOCARDICA POST-ISQUEMIA POR EL VINO TINTO CABERNET-SAUVIGNON ARGENTINO

SUSANA M. MOSCA\*, HORACIO E. CINGOLANI\*

*Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata*

**Resumen** Nuestro objetivo fue evaluar la acción de extractos no-alcohólicos de vinos tintos argentinos, de origen mendocino, Cabernet-Sauvignon (CS) y un genérico (G) sobre el atontamiento miocárdico que sigue a la reperfusión post-isquemia. En un modelo de corazón de rata aislado y perfundido isovolúmicamente, la recuperación de la función sistólica y diastólica del miocardio después de una isquemia global de 20 min fue evaluada a través de la presión desarrollada por el ventrículo izquierdo (PDVI) y la presión diastólica final (PDF), respectivamente. A los 30 min de reperfusión la PDVI se recuperó un  $66 \pm 7\%$  en los controles post-isquémicos. La administración del extracto no-alcohólico de CS aumentó significativamente la recuperación post-isquémica ( $101 \pm 4\%$ ,  $p < 0.05$ ). La administración del extracto de G no modificó significativamente la recuperación. La contractura isquémica no fue modificada por los vinos y el CS y no el G disminuyó significativamente el aumento de la PDF observado en los corazones controles durante la reperfusión. Estos resultados muestran evidencias experimentales de que el extracto no alcohólico de vino tinto Cabernet-Sauvignon argentino induce protección de la función miocárdica post-isquémica en el modelo estudiado.

**Abstract** *Post-ischemic myocardial protection with Argentine Cabernet-Sauvignon red wine.* The objective was to assess the action of two Argentine (from Mendoza) non-alcoholic red wine extracts (Cabernet-Sauvignon (CS) and a generic control (G)) on myocardial stunning that follows the reperfusion period. In the isolated isovolumically perfused rat heart the recovery of systolic and diastolic functions after 20 min of global ischemia were assessed through left ventricular developed pressure (LVDP) and end diastolic pressure (EDP), respectively. After 30 min of reperfusion LVDP recovered to  $66 \pm 7\%$  in control ischemic hearts. The administration of non-alcoholic extract of CS not of G wine significantly increased the post-ischemic recovery ( $101 \pm 4\%$ ,  $p < 0.05$ ) of the hearts. The ischemic contracture was not modified by either of the wines. However, during reperfusion the CS, not the G wine, decreased significantly the increase in EDP observed in control ischemic hearts. These results present experimental evidence that the non-alcoholic extracts of CS and not of G Argentine red wine induces protection of posts ischemic myocardial function.

**Key words:** myocardial stunning, systolic function, diastolic function, red wine, Argentine Cabernet-Sauvignon

Estudios epidemiológicos sugieren que factores dietéticos, incluyendo vino tinto y vegetales disminuyen la incidencia de enfermedad coronaria en ciertas zonas, a pesar del alto consumo de grasas saturadas<sup>1</sup>. Esta es la base de la mal llamada paradoja francesa, dado que la menor incidencia de enfermedad coronaria comparada para iguales niveles de colesterol, no es patrimonio francés, sino algo compartido por países como España, Italia y tal vez otros.

Los polifenoles del vino tinto han sido sindicados como responsables del efecto benéfico. Es así que se han descrito efectos del vino tinto tales como aumento de HDL<sup>2</sup>, inhibición de las LDL<sup>3</sup>, disminución de agregación plaquetaria<sup>4</sup> y efectos sobre células endoteliales<sup>5</sup>. Respecto al efecto mediado sobre células endoteliales, trabajos recientes<sup>6</sup> sugieren que algunos vinos tintos añejados en vasijas de madera, poseen una sustancia que actuando sobre las células endoteliales genera óxido nítrico (NO), el cual posteriormente dilata las arterias coronarias elevando el GMP<sub>c</sub> en las células musculares lisas. Por otro lado estudios realizados en pacientes mostraron aumentos significativos de la reserva coronaria tras la administración de vino tinto y no de vodka o vino blanco<sup>7</sup>.

Recientemente investigadores italianos y norteamericanos<sup>8</sup> demostraron además disminución del tamaño del infarto experimental luego de un período de isquemia, si

Recibido: 21-VI-2000

Aceptado: 17-VIII-2000

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

**Dirección postal:** Dr. Horacio E. Cingolani, Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 120, 1900 La Plata, Argentina  
Fax (54-0221) 425-5861 e-mail: smosca@attas.med.unlp.edu.ar

la oclusión coronaria era producida luego de administrar un extracto no alcohólico de vino Syrah del norte de Italia.

En el presente trabajo presentamos evidencias experimentales de que un extracto no-alcohólico de vino tinto Cabernet-Sauvignon argentino, de origen mendocino induce protección de la función miocárdica post-isquemia.

La preparación experimental usada es la de corazón aislado perfundido de rata en condiciones isovolúmicas<sup>9</sup>. La contractilidad fue evaluada a través de la presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PDVI) y la rigidez diastólica a través de la presión diastólica final (PDF). Después de un período de estabilización de 10 min, se realizaron los siguientes protocolos utilizando preparados diferentes: I (n = 13): Los corazones aislados fueron sometidos a un período de isquemia global normotérmica de 20 min seguidos de 30 min de reperfusión; II (n = 6): Se repitió el esquema de isquemia y reperfusión del protocolo I pero en presencia de 0.5 mg/min de un extracto no-alcohólico de los vinos tintos Cabernet-Sauvignon (CS) o genérico (G) administrado durante 10 min previos a la isquemia y en los primeros 10 min de la reperfusión.

Preparación de los extractos: Ambos vinos tintos CS y G de origen mendocino fueron adquiridos en un supermercado de la zona. Del residuo obtenido por liofilización a -60 °C y vacío (entre 1 y 2 g) se hizo una solución de concentración 0.5 g% en agua bidestilada. La dosis a inyectar en el árbol coronario de la rata (0.5 mg/min/g) se determinó como equivalente aproximadamente a una ingesta de 100 ml de vino en un ser humano, cuyo flujo coronario fuera de 200 ml/min y el corazón pesara 250 g.

Para el análisis de los datos se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) con el test de Newman-Keul's para comparaciones múltiples. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando el valor de p fue menor de 0.05.

La Fig. 1 muestra los cambios de la PDVI durante los períodos de estabilización, de isquemia y de reperfusión en condiciones controles (sin ninguna droga) y en presencia del extracto no-alcohólico de los dos vinos ensayados: CS (panel A) y G (panel B). Se observa que sólo la administración intracoronaria del extracto no-alcohólico de CS mejoró significativamente ( $p < 0.05$ ) la recuperación de la contractilidad miocárdica postisquémica.

En la Fig. 2 se muestran los cambios de la PDF en ausencia y presencia de los vinos CS (panel A) y G (panel B). Se observa que la PDF aumentó significativamente durante la isquemia desde un valor inicial de  $9 \pm 1$  a  $31 \pm 3$  mmHg al final de los 20 min de isquemia global. Esta contractura no fue modificada por ninguno de los vinos utilizados (los valores de PDF con CS y con G fueron de  $31 \pm 6$  y  $33 \pm 6$  mmHg, respectivamente). El aumento de la PDF durante la reperfusión no fue modi-

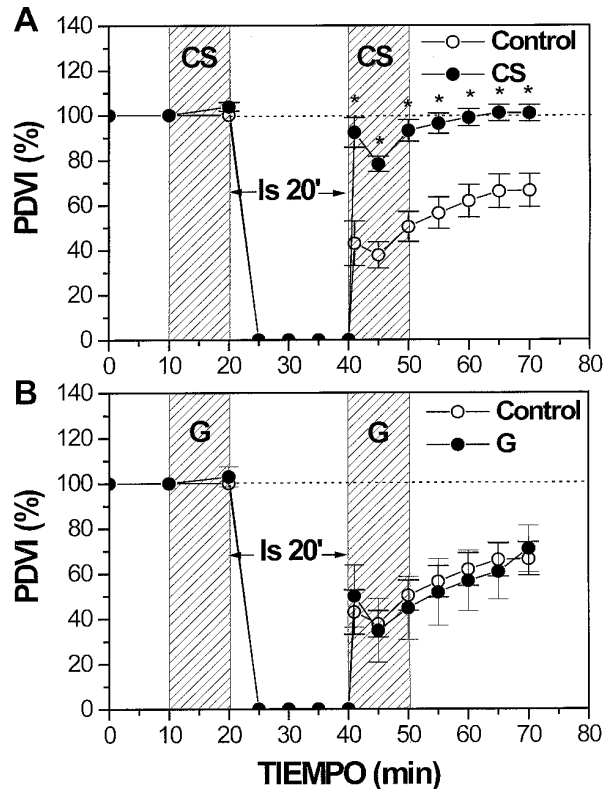


Fig. 1.— Efectos de la administración de los extractos no-alcohólicos de vinos tintos Cabernet-Sauvignon (CS: panel A) y genérico (G: panel B) sobre la presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PDVI) durante la isquemia y la reperfusión. Nótese que en presencia de CS pero no del G la PDVI se recuperó totalmente a los 30 min de reperfusión, alcanzando el valor observado antes de la isquemia. Los datos están expresados como la media  $\pm$  error estándar. \*  $p < 0.05$ .

ficado por el vino G y fue atenuado significativamente por el tratamiento con el vino CS (de  $38 \pm 7$  mmHg a  $19 \pm 4$  mmHg,  $p < 0.05$ ).

El déficit contráctil luego de un período de isquemia relativamente corto, como el usado por nosotros en este estudio es considerado como el resultado del atontamiento miocárdico. Esto ha sido validado en estudios realizados por nosotros<sup>9</sup> y otros<sup>10</sup>. La falta de necrosis con este tiempo de isquemia, ha sido confirmada<sup>10, 11</sup>.

El atontamiento miocárdico se acepta hoy en día que es el resultado de una disminución de la respuesta de los miofilamentos al calcio. Esta respuesta alterada puede provenir de una degradación parcial de la troponina I (TnI) inducida por proteasas que se activan por sobrecarga de calcio<sup>12</sup>. La producción de radicales libres inducida por la reperfusión puede inducir directamente o a través de la sobrecarga cálcica<sup>13</sup> el déficit contráctil.

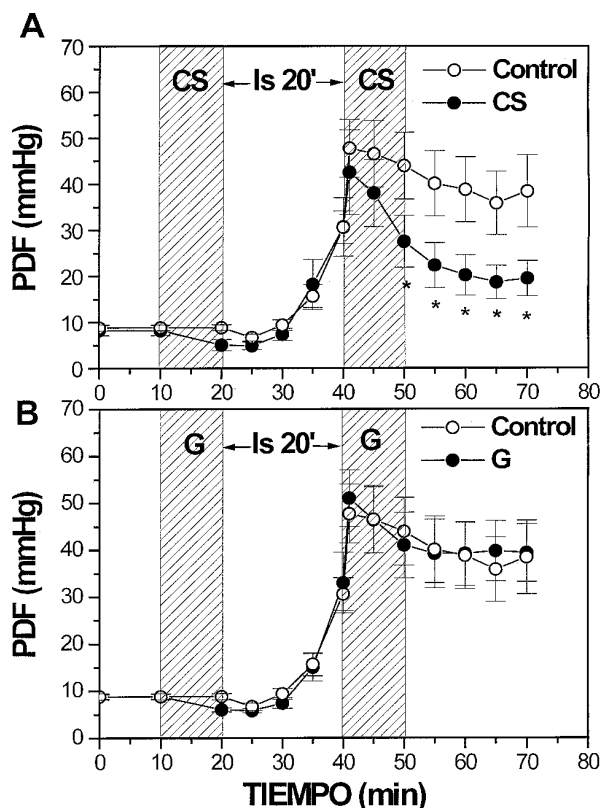


Fig. 2.— Cambios de la presión diastólica final (PDF) durante la isquemia y reperusión en corazones controles y tratados con los extractos no-alcohólicos de vinos tintos CS (panel A) y G (panel B). La contractura isquémica observada en los experimentos controles no fue modificada por ninguno de los dos vinos. Sin embargo en la reperusión sólo el CS fue efectivo para disminuir el aumento de la PDF observado en los controles. Los datos están expresados como la media  $\pm$  error estándar. \*  $p < 0.05$ .

El atontamiento miocárdico, puede reproducirse experimentalmente por generar radicales libres<sup>14</sup> y prevenirse con el uso de *scavengers* y antioxidantes<sup>15</sup>.

Aunque los resultados presentados en este estudio son la primera demostración de prevención del atontamiento miocárdico por un extracto no-alcohólico de vino, una publicación reciente<sup>8</sup> muestra que el vino Syrah del norte de Italia administrado antes de una isquemia prolongada (30 min) disminuye el tamaño del infarto. Estos investigadores atribuyen dicho efecto protector al resveratrol que el vino contiene. El resveratrol es un estrógeno vegetal, cuyo contenido en el vino depende de factores diversos, como la calidad de la uva, climas y técnicas enológicas.

Posiblemente el efecto protector del Syrah italiano sobre el infarto de miocardio sea el resultado de un mecanismo similar al que describimos aquí e involucre efectos antioxidantes.

El efecto antioxidante de los polifenoles que contiene el vino tinto es conocido<sup>2,3</sup>. Sin embargo sus efectos sobre el miocardio no han sido extensivamente estudiados. Han recibido una mayor atención los efectos sobre las arterias. Es así que investigadores alemanes describen un efecto vasodilatador coronario de un componente que posee el vino tinto que ha estado en contacto con toneles de madera<sup>6</sup>. Recientemente se ha descrito un incremento de la reserva coronaria en seres humanos, inducida por el vino tinto, pero no por el vino blanco o el vodka<sup>7</sup>. Existen también numerosos estudios sobre otros efectos beneficiosos de la ingesta moderada de vino tinto. Conocemos sólo una publicación respecto a los efectos del vino tinto sobre la isquemia miocárdica.

Los datos presentados aquí extienden la observación de Sato y col.<sup>8</sup>, que muestran un efecto protector del tamaño del infarto, a la protección del atontamiento miocárdico. El mecanismo íntimo de esta protección necesita de investigaciones detalladas que permitan responder a las siguientes preguntas: ¿Es la protección patrimonio del Cabernet-Sauvignon o compartida por otros vinos argentinos? ¿Juega el tonel de madera algún papel como lo sugieren los investigadores alemanes? ¿Es debida la protección al efecto antioxidante? Y de serlo ¿Cuál es su equivalencia con otros agentes antioxidantes? ¿Juegan las células endoteliales y el NO que ellas producen (la de los vasos y las del endocardio) algún papel en la protección? Todas estas preguntas y algunas más necesitan de investigaciones futuras.

## Bibliografía

1. Renaud S, De Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339: 1523-6.
2. Gaziano JM, Buring JE, Breslow JL, et al. Moderate alcohol intake, increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions and decreased risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993; 329: 1829-34.
3. Frankel EN, Kanner J, German JB. Inhibition of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 1993; 341: 454-7.
4. Renaud SC, Beswick AD, Fehily AM, Sharp DS, Elwood PC. Alcohol and platelet aggregation: the Caerphilly Prospective Heart Disease study. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 1012-7.
5. Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol* 1993; 265: H774-8.
6. Flesch M, Schwarz A, Böhm M. Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am J Physiol* 1998; 275 (Heart Circ Physiol 44): H1183-90.
7. Shimada K, Watanabe H, Hosoda K, Takeuchi K, Yoshikawa J. Effect of red wine on coronary flow-velocity reserve. *Lancet* 1999; 354: 1002.
8. Sato M, Ray PS, Maulik G, et al. Myocardial protection with red wine extract. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000; 35: 263-8.
9. Mosca SM, Gelpi RJ, Cingolani HE. Adenosine and

- dipyridamole mimic the effects of ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 1403-9.
10. Kusuoka H, Porterfield JK, Weissman HF, Weisfeldt ML, Marban E. Pathophysiology and pathogenesis of stunned myocardium: depressed  $Ca^{2+}$  activation of contraction as a consequence of reperfusion-induced cellular calcium overload in ferret hearts. *J Clin Invest* 1987; 79: 950-61.
  11. Mosca SM, Gelpi RJ, Milei J, Fernández G, Cingolani HE. Is stunning prevented by ischemic preconditioning? *Mol Cell Biochem* 1998; 186: 123-9.
  12. Gao WD, Atar D, Liu Y, Pérez NG, Murphy AM, Marban E. Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned heart. *Circ Res* 1997; 80: 393-9.
  13. Correti M, Koretsune Y, Kusuoka H, Chacko VP, Zweier JL, Marban E. Glycolytic inhibition and calcium overload as consequences of exogenously-generated free radicals in rabbit hearts. *J Clin Invest* 1991; 88: 1014-25.
  14. Gao WD, Liu Y, Marban E. Selective effects of oxygen free radicals on excitation-contraction coupling in ventricular muscle: implications for the mechanism of stunned myocardium. *Circulation* 1996; 94: 2597-04.
  15. Koerner JE, Anderson BA, Dage RC. Protection against postischemic myocardial dysfunction in anesthetized rabbits with scavengers of oxygen-derived free radicals: superoxide dismutase plus catalase, N-2-mercaptopropionyl glycine and captopril. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17: 185-91.

---

*Western civilization, it seems to me, stands by two great heritages. One is the scientific spirit of adventure - the adventure into the unknown, an unknown that must be recognized as unknown in order to be explored, the demand that the unanswerable mysteries of the universe remain unanswered, the attitude that all is uncertain. To summarize it: humility of the intellect. The other great heritage is Christian ethics - the basis of action on love, the brotherhood of all men, the value of the individual, the humility of the spirit. These two heritages are logically, thoroughly consistent.*

La civilización occidental, a mi parecer, se basa en dos grandes herencias. Una es el espíritu científico de aventura - la aventura hacia lo desconocido, un desconocido que debe ser reconocido como tal para poder explorarlo, la exigencia que los misterios del universo se mantengan como tales, la actitud de que todo es incierto. Para resumirlo: la humildad del intelectual. La otra gran herencia es la ética cristiana - con el amor como base de acción, la hermandad de todos los hombres, el valor del individuo, la humildad del espíritu. Estas dos herencias son lógicamente enteramente consistentes.

Richard P. Feynman (1918-1988)

*The meaning of it all. Thoughts of a citizen-scientist.* Reading MA: Perseus Books, 1998, p 47