

3006278
lej



UNIVERSIDAD LA SALLE

Escuela de Ciencias Químicas

Incorporada a la U.N.A.M.

**ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES FUNCIONALES EN UN
MODELO EXPERIMENTAL DE INFARTO DEL MIOCARDIO
INDUCIDO CON ISOPROTERENOL EN EL CORAZON DE RATA
AISLADO Y PERFUNDIDO A LA MANERA DE LANGENDORFF**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

MARIA DOLORES COTA GARZA
Asesor de Tesis Dr. José D. Méndez

México, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1993



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

RESUMEN.....	1
OBJETIVOS.....	2
HIPOTESIS.....	3
INTRODUCCION.....	4
Fenómeno de Gregg.....	4
1) Hipoperfusión.....	5
2) Efecto de manguera de jardín.....	5
Endotelio: Regulador Cardíaco.....	8
Regulación Local de las Respuestas dependientes del Endotelio.....	9
Relación entre los Componentes Hidrodinámicos del Flujo Sanguíneo Coronario y el Endotelio Vascular.....	11
Velocidad de la corriente sanguínea.....	11
Estrés por fricción de la pared del vaso.....	12
Alteraciones de la Función Endotelial producidas por Factores Físicos.....	14
1. Estrés por fricción.....	14
2. Estiramiento y presión transmural.....	16
3. Temperatura.....	17
Infarto del Miocardio.....	18
Mecanismo de Producción del Infarto por la Administración de Isoproterenol.....	20
Relación del Infarto del Miocardio con las Alteraciones Sufridas en el Endotelio Vascular.....	22
Planteamiento del Problema.....	23
METODOLOGIA.....	25
Antecedentes a la Preparación de Langendorff.....	25
Solución de Perfusión.....	29
Procedimiento Quirúrgico.....	30
Producción del Infarto.....	36
Estudio de la Amplitud de la Contracción Ventricular...36	
Estudio de la Transmisión Aurículo-Ventricular (A-V)...37	
MEDICIONES EXPERIMENTALES.....	38

1. Efecto del Flujo Coronario sobre la Contracción Cardíaca en Corazones Infartados.....	38
2. Efecto de la Frecuencia de Estimulación sobre la Velocidad de Conducción en Corazones Infartados.....	39
3. Efecto del Flujo Coronario sobre la Velocidad de Conducción en Corazones Infartados.....	40
RESULTADOS.....	41
1. Efecto del Flujo Coronario sobre la Contracción Cardíaca en Corazones Infartados.....	41
2. Efecto de la Frecuencia de Estimulación sobre la Velocidad de Conducción en Corazones Infartados.....	42
3. Efecto del Flujo Coronario sobre la Velocidad de Conducción en Corazones Infartados.....	45
DISCUSION DE RESULTADOS.....	47
1. Efecto del Flujo Coronario sobre la Contracción Cardíaca en Corazones Infartados.....	47
2. Efecto de la Frecuencia de Estimulación sobre la Velocidad de Conducción en Corazones Infartados.....	49
3. Efecto del Flujo Coronario sobre la Velocidad de Conducción en Corazones Infartados.....	49
CONCLUSIONES.....	51
REFERENCIAS.....	54

R E S U M E N

Este trabajo se realizó con la finalidad de estudiar y comprender algunos de los cambios que tienen lugar en el corazón en diferentes etapas de un infarto producido de manera artificial.

El modelo experimental que se eligió para realizar estos estudios fue la rata Whistar, debido a que la caracterización del modelo de infarto producido con isoproterenol ya se ha realizado en esta especie.

Los parámetros que se estudiaron fueron básicamente de dos tipos; mecánico y eléctrico, reflejados al medir específicamente: a) la fuerza de contracción ventricular y b) la conducción aurículo-ventricular (A-V). Esto se hizo analizando la respuesta de estas dos variables al cambio de flujo coronario, ya que recientemente se descubrió que las fuerzas físicas asociadas al flujo pueden regular estos parámetros, con lo que se abre una nueva puerta hacia lo que al conocimiento del órgano cardíaco se refiere.

Los resultados obtenidos corroboran la hipótesis planteada, ya que en efecto respuestas dependientes del flujo coronario responden a alteraciones del endotelio vascular. Por otra parte, durante diferentes etapas del infarto producido se observan la variación de dichas respuestas.

O B J E T I V O S

1. Caracterizar las alteraciones fisiológicas que sufre el corazón en los siguientes parámetros: conducción aurículo-ventricular (A-V) y contracción ventricular durante un modelo de infarto experimental producido con isoproterenol.
2. Estudiar las alteraciones en la respuesta estimuladora del flujo coronario, sobre los parámetros mencionados durante las diferentes etapas del infarto experimental.

H I P O T E S I S

El fenómeno de Gregg dice que al aumentar la perfusión coronaria aumenta también el consumo de oxígeno y la contracción miocárdica. Dado que el mecanismo que explica dicho fenómeno aún no se conoce, existen evidencias que señalan que el flujo pudiera inducir la liberación de sustancias bioactivas por parte del endotelio vascular, las cuales actuarían en las células miocárdicas. Si ésto es cierto, se esperaría que durante situaciones patológicas que afectaran el endotelio vascular, la función reguladora del flujo coronario se vería también afectada.

Se sabe que el infarto experimental cursa con daño tisular que involucra tanto al parénquima como a la vasculatura cardíaca. Dado que el sitio de percepción del estímulo que desencadena el flujo coronario parece residir en el endotelio vascular y éste se encuentra dañado durante el infarto, es posible que la respuesta del corazón al flujo coronario se encuentre alterado.

I N T R O D U C C I O N

El flujo coronario es un parámetro que no sólo tiene que ver con la transferencia de masas, sino que genera el envío de señales regulatorias que afectan el funcionamiento y el metabolismo del corazón. Así, aunque la fisiología y el metabolismo cardíaco determinan el flujo coronario, éste último determina a su vez los dos primeros; se trata de una compleja interrelación donde ambos parámetros se retroalimentan continuamente.

FENOMENO DE GREGG

La relación entre trabajo ventricular, flujo coronario (FC) y consumo de oxígeno no se ha podido establecer todavía. Se cree que el FC, mediante sus efectos hidrodinámicos, activa el endotelio vascular, y las células endoteliales desencadenan una serie de señales que terminan en los miocitos. Dichos efectos hidrodinámicos son básicamente el estrés por fricción (shear stress) y el estiramiento por presión. El mecanismo de esto no se conoce.

Antiguamente se creía que la única relación entre estos parámetros era que el flujo coronario está sujeto

al metabolismo de oxígeno, pero en 1958 Gregg dijo: "Al aumentar la perfusión coronaria viene un aumento en el consumo de oxígeno en el miocardio, con lo cual la contracción cardíaca se ve igualmente afectada." Esto es lo que se conoce como fenómeno de Gregg. Para tratar de explicarlo existen varias hipótesis, entre las que destacan la hipoperfusión y el "efecto de manguera de jardín" como responsables del fenómeno de Gregg:

1) Hipoperfusión

Algunos autores opinan que el fenómeno de Gregg sólo ocurre en corazones que se encuentran en condiciones de isquemia, aunque ha sido observado en preparaciones con presiones normales o elevadas de oxígeno en las coronarias, o bien en corazones con un consumo neto de lactato.

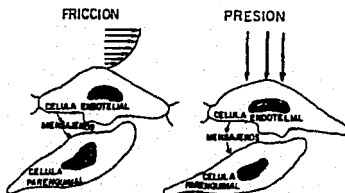
2) Efecto de manguera de jardín

En la actualidad, es la hipótesis más aceptada para explicar este fenómeno. Lo que se supone que ocurre es lo siguiente: Al aumentar el flujo coronario aumenta la presión intravascular, lo que genera un estiramiento longitudinal de los vasos sanguíneos (éste es el efecto de manguera de jardín), el cual es transmitido a los miocitos. Así, la longitud de los sarcómeros se incrementa y la contracción es más intensa.

Dicha distensión también se puede lograr al modificar la viscosidad de la solución de perfusión, por ejemplo agregándole dextrán.

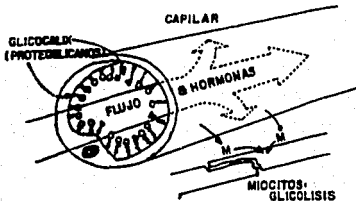
Una posibilidad que hasta ahora no se había considerado es que el flujo coronario genere una liberación de sustancias bioactivas por parte del endotelio, de las cuales no se conoce mucho, pero que serían las causantes de los cambios en la contractilidad y quizá incluso en otras funciones cardíacas. Se ha demostrado que ésto ocurre tanto *in vivo* (en vasos sanguíneos intactos) como *in vitro* (en células endoteliales en cultivo).

Para decir que el flujo coronario es un agente estimulador hay que identificar el parámetro físico (o parámetros) responsable de su efecto y el tipo de células que reciben dicho estímulo. Existen dos fuerzas hemodinámicas asociadas al flujo coronario: estrés por fricción y estiramiento por presión (figura 1). La primera resulta de la fricción del fluido con la superficie endotelial y es tangencial a él, mientras que la segunda actúa perpendicularmente.



F.1. Fuerzas hemodinámicas asociadas al flujo coronario: fricción y presión. La primera es tangencial al flujo, y la segunda, perpendicular al mismo.

Cualquiera de ellas o incluso ambas podrían ser el estímulo físico que actúa sobre las células que recubren interiormente a los vasos sanguíneos, las células endoteliales. Estas células están permanentemente expuestas a tales fuerzas, y responden a ellas (y a diversas hormonas) con cambios electrofisiológicos intracelulares (por movilización de calcio) y liberando una diversidad de sustancias biológicamente activas. Dichas sustancias podrían afectar el flujo y consecuentemente algunas funciones de las células del parénquima. Se desconoce el mecanismo por medio del cual estos estímulos se transmiten y la naturaleza de las estructuras de membrana que los reciben. Las fuerzas mencionadas podrían deformar las cadenas de mucopolisacáridos que se encuentran en la superficie de las células endoteliales (figura 2).



F.2. El flujo induce la deformación de las estructuras de membrana y la liberación de sustancias bioactivas por parte del endotelio. Dichas sustancias actúan directamente sobre los micocitos en diversas formas.

La idea de que el estrés por fricción y el estiramiento por presión puedan estar estimulando el endotelio para que libere sustancias bioactivas inotrópicas es viable, ya que el endotelio vascular efectivamente produce sustancias biológicamente activas como respuestas a fuerzas hemodinámicas y a diversas hormonas.

ENDOTELIO: REGULADOR CARDIACO

La discusión de que el endotelio vascular interviene en diversas funciones viene desde Starling, quien decía que estas células jugaban un papel muy importante en el transporte de sustancias de la sangre a los tejidos. Hoy, ésto se sigue discutiendo ampliamente.

Se sabe que las células endoteliales "limpian" la sangre de muchas sustancias, aunque lo hacen siempre de manera selectiva. También interactúan con las proteínas plasmáticas, por ejemplo en cuanto a la coagulación de la sangre se refiere; participan en fenómenos de respuesta inmunológica y sobre todo producen factores que inhiben o activan la musculatura lisa que rodea internamente a los vasos sanguíneos.

Hoy se sabe que existe el llamado "factor relajante derivado del endotelio" (EDRF, por sus siglas en inglés), el cual es un agente

que es liberado por el endotelio, que ha sido identificado como óxido nítrico y sin el cual los vasos sanguíneos no se relajan en presencia del neurotransmisor acetilcolina. Análogamente, se ha encontrado que existe un factor que favorece la contracción y que también es derivado del endotelio, el "factor de contracción derivado del endotelio" (o EDCF).

Para estudiar qué tanto dependen ciertas respuestas vasculares de las células endoteliales existen muchas herramientas, pero las más útiles hasta la fecha son las de tipo farmacológico (12). Otras, como la perfusión de órganos tales como el corazón, se prestan para hacer cambios en la presión de perfusión a flujo constante (o bien hacer cambios de flujo a presión de perfusión constante) y así determinar los cambios del tono vascular.

Se sabe que bajo cualquier circunstancia, la remoción del endotelio en un órgano perfundido tarde o temprano llevará a la formación de un edema a nivel de capilares (12).

REGULACION LOCAL DE LAS RESPUESTAS DEPENDIENTES DEL ENDOTELIO

Las células endoteliales liberan factores relajantes de manera espontánea, pero esto puede aumentar considerablemente por diversas causas (entre ellas sustancias tales como adrenalina, ácido araquidónico, acetilcolina, etc.), la mayoría locales. De

hecho, aunque muchas sustancias tienen un fácil acceso al endotelio, pocas pueden inducir respuestas que dependan directamente de él. Esto indica que la modulación del tono vascular dependiente del endotelio es primordialmente un mecanismo de regulación local. Por otra parte, en presencia de endotelio se pueden reducir las contracciones causadas por vasoconstrictores como los agonistas α -adrenérgicos.

Cuando las arterias intactas (ésto es, que tienen endotelio) se perfunden bajo condiciones controladas, el líquido arrojado contiene factores relajantes. Esto es debido a que el paso de la solución de perfusión produce estiramiento por fricción (shear stress), lo que estimula a las células endoteliales a liberar el EDRF.

RELACION ENTRE LOS COMPONENTES HIDRODINAMICOS DEL FLUJO SANGUINEO CORONARIO Y EL ENDOTELIO VASCULAR

El problema en el estudio del flujo pulsátil en el sistema cardiovascular es insuperable, ya que el corazón es una bomba complicada y su funcionamiento se ve afectado por una diversidad de factores químicos y físicos. Los vasos sanguíneos son conductos elásticos multirramificados de dimensiones muy variables. La sangre es una mezcla de células rojas y blancas, plaquetas y partículas lipídicas en una suspensión coloidal de proteínas.

A pesar de estos factores que hacen complicado el estudio de los componentes hidrodinámicos del flujo coronario, se puede entender bastante si se conocen algunos principios elementales de la mecánica de líquidos.

Velocidad de la corriente sanguínea

Para poder describir las variaciones en el flujo sanguíneo en diferentes vasos, es necesario primero distinguir entre los términos de *velocidad del flujo* y *volumen del flujo*. La velocidad se refiere al desplazamiento con respecto al tiempo y tiene dimensiones de distancia por unidad de tiempo, por ejemplo cm/s . El flujo tiene dimensiones de volumen por unidad de tiempo, por ejemplo cm^3/s . Definidos estos dos conceptos podemos entender que la velocidad del flujo puede variar independientemente del volumen del flujo.

Por ejemplo: si un líquido no compresible se hace pasar a flujo constante a través de un tubo de cierto calibre, la velocidad del flujo por unidad de área se mantendrá constante; pero si el tubo se hiciera más estrecho, el volumen del flujo no cambiaría, pero sí aumentaría la velocidad del flujo, y por el contrario si se ensanchara el tubo, la velocidad del flujo sería menor.

La estructura del sistema vascular sufre variaciones muy importantes en el calibre de los vasos sanguíneos. Es de

esperarse entonces que existan también dichas variaciones en las velocidades del flujo sanguíneo dependiendo de la región en estudio. Por otra parte, los vasos son elásticos y no tubos rígidos, por lo que pueden variar su calibre y con ésto la velocidad del flujo. Obviamente la velocidad del flujo depende también del volumen del mismo, existiendo una relación de estos dos parámetros con la presión desarrollada en el tubo. Siguiendo el ejemplo de tubos con diferentes calibres, es de esperarse que la presión aumente cuando se pasa de un calibre más ancho a uno más estrecho y de este modo se ve una relación directa con la velocidad y el flujo. La presión entonces depende de las dimensiones del tubo, la densidad del líquido, y de la velocidad y volumen del flujo.

Estrés por fricción de la pared del vaso

El flujo a través del sistema vascular es normalmente laminar; la turbulencia es relativamente rara.

El flujo laminar perturbado (una forma compleja de flujo laminar), ocurre sin embargo en regiones donde el flujo es redirigido en los vasos ramificados o curvaturas de los mismos, y cerca de las bifurcaciones de los grandes vasos. Existe una diferencia entre el flujo laminar perturbado y el flujo laminar turbulento, y es que en la turbulencia existe un rápido recambio

de la frecuencia, magnitud y dirección que actúan en la superficie endotelial. Aunque las líneas de flujo son extremadamente complejas en el flujo laminar, las fuerzas que actúan en el endotelio en amplitud y dirección son predecibles.

Las fuerzas del flujo pueden ser resueltas en dos componentes: presión que actúa perpendicular a la superficie y estrés por fricción, una fuerza de arrastre tangencial que resulta de la fricción del fluido con la superficie endotelial. La elasticidad de la colágena y de la musculatura lisa del vaso absorben mucho la presión, sin embargo, el endotelio está sujeto a todo el estrés por fricción. El estrés por fricción causado por el flujo es la fuerza hemodinámica principal asociada exclusivamente con el endotelio.

El estrés por fricción *in vivo* varía dependiendo de la geometría de los vasos. La magnitud depende de la viscosidad del fluido, la velocidad del flujo y el diámetro del vaso. En grandes vasos sin ramificaciones, por ejemplo la aorta torácica, el estrés por fricción va hasta 30 dinas/cm². En regiones de geometría compleja donde existen bifurcaciones de flujo y predomina el flujo laminar perturbado, se pueden presentar fenómenos como el reflujo con medidas de estrés por fricción de -8 dinas/cm² a 0 dinas/cm², con un regreso a cifras positivas altas cuando el flujo retorna a una dirección normal. Estas localizaciones, por ejemplo el seno carotídeo, son susceptibles de desarrollo de

lesiones arterioescleróticas. En vasos pequeños, por ejemplo arteriolas de 20 a 40 μm de diámetro, el estrés por fricción va de 5 a 25 dinas/cm².

Cuando el flujo cambia en las arterias ocurren dos fenómenos interesantes, uno agudo y el otro crónico. Un incremento de flujo resulta en una vasodilatación rápida y reversible; en cambio, un decremento en el mismo por largos periodos de tiempo (días o semanas) resulta en una reorganización de la arquitectura arterial para producir una disminución en el diámetro de la luz del vaso. Ambas respuestas son dependientes del endotelio. Estas observaciones han dado pie a la idea de que el endotelio es sensible al flujo y que un "mecanosensor" es el responsable por la transducción de una señal física a una respuesta intracelular bioquímica o fisiológica, que a su vez influenciará a las células parenquimales adyacentes.

ALTERACIONES DE LA FUNCION ENDOTELIAL PRODUCIDAS POR FACTORES FISICOS

1. ESTRES POR FRICCION

La pared de los vasos sanguíneos, y muy especialmente las células endoteliales, se ven expuestas continuamente al estiramiento por

fricción que produce la sangre circulante, y que lleva siempre una misma dirección que es longitudinal a la pared del vaso. De hecho, el eje mayor y el núcleo de estas células están alineados y orientados según la circulación de la sangre. Consecuentemente, las estructuras de membrana más superficiales, las cuales tienen una orientación perpendicular a la fuerza que reciben, sufren una deformación en sus estructuras hidratadas de membrana.

Si el flujo sanguíneo varía, habrá cambios en la liberación de EDRF y por lo tanto en el diámetro luminal de los vasos. De hecho, si este estiramiento por fricción aumenta, se verán favorecidas corrientes de K^+ a través de la membrana de las células endoteliales. Esta hiperpolarización del endotelio puede influir en la regularización del tono vascular.

In vitro, esto se ve en vasos perfundidos artificialmente con una solución fisiológica oxigenada. Si se hace aumentar el flujo, aumentará la cantidad de EDRF liberado y por lo tanto el diámetro interior será mayor. Lo mismo sucede si hay una estimulación de tipo mecánico; por ejemplo, haciendo pasar pequeñas burbujas de aire intraluminalmente.

In vivo, se ha reportado que diversos vasos se dilatan en respuesta al flujo, bien sea que se estén perfundiendo con plasma sanguíneo o con sustitutos del mismo, lo cual indica que no son

hormonas las que producen la relajación, sino la velocidad del flujo por se.

Sin embargo, si aumenta la viscosidad del medio de perfusión, cualquiera que éste sea, la respuesta será mayor, lo cual sugiere que el estiramiento por fricción local es la fuerza hemodinámica más importante que está asociada al endotelio y su vasculatura, y responde a él espontánea y rítmicamente.

Se sabe que si el endotelio vascular es removido (por ejemplo, utilizando un catéter con un globo en la punta), la respuesta se anula. Se concluye entonces que la dilatación como respuesta al flujo depende de la presencia de células endoteliales, bien sea por un aumento en la liberación del EDCF o por una reducción en la del EDRF, y todo esto tiene lugar tanto en los grandes vasos como en los que integran la microcirculación.

2. ESTIRAMIENTO Y PRESION TRANSMURAL

Sucede que la vasculatura puede sufrir contracciones por un aumento en el estiramiento o en la presión tras mural que recibe. Si esto ocurre *in vivo*, bien podría ser que dichas contracciones jugaran un importante papel en la autorregulación del flujo sanguíneo. De hecho, se han identificado canales iónicos activados por estiramiento en las células endoteliales. Dichos

canales son permeables al Ca^{2+} , y pueden actuar como transductores de fuerzas físicas, lo que explicaría el hecho de que el endotelio percibe los cambios que se dan en las fuerzas mecánicas involucradas y responde a ellas.

Los músculos lisos de la vasculatura responden a la presión por estiramiento de manera espontánea y rítmica, especialmente en venas portales-mesentéricas y en arterias coronarias y arteriolas humanas.

3. TEMPERATURA

En general se puede decir que un aumento en la temperatura disminuye la respuesta a la relajación inducida por el endotelio, y viceversa. En la aorta de rata, el bajar la temperatura puede aumentar la sensibilidad de la musculatura lisa al EDRF, como lo hace por activación β -adrenérgica (al menos en venas cutáneas) (12).

Existen otros factores que afectan al comportamiento de los vasos por acción del endotelio:

- La vasculatura que tiene más edad se vuelve hiperreactiva a estímulos vasoconstrictores, mientras que su respuesta a agentes vasodilatadores decrece progresivamente. Esto se debe a cambios en la capacidad de respuesta de la musculatura lisa de los vasos sanguíneos.

- En vasos sanguíneos con alta concentración de oxígeno, las relajaciones dependientes del endotelio son bastante pronunciadas. Esto se explica por el hecho de que se necesita del oxígeno para la producción y/o liberación del EDRF (12).

- En cuanto al sexo, se ha visto que el endotelio de las ratas macho tiene una capacidad menor para inhibir la contracción del músculo liso de la vasculatura, en comparación a la de las hembras, posiblemente porque en condiciones basales los primeros liberan menos EDRF.

INFARTO DEL MIOCARDIO

El infarto del miocardio es la máxima expresión de una insuficiencia coronaria, debida a un proceso de isquemia. Esto es, la falta de oxigenación y remoción de catabolitos por un descenso en la presión de perfusión sanguínea, con la necrosis de dicha área tisular (8). El infarto puede ser transmural o subendocárdico, según abarque o no todo el grosor del músculo cardíaco en el segmento afectado. En el primer caso se habla de una oclusión coronaria. Conforme el infarto del miocardio evoluciona, se irán dando una serie de cambios de adaptación, según sea el área infartada y su localización.

La isquemia afecta la función contráctil de las miofibrillas de manera directamente proporcional al daño, al igual que lo hace con la función hemodinámica del corazón. Con esto cae el gasto cardíaco, se agrava la hipoperfusión tisular y todo esto favorece la extensión del infarto. Además, un estado de isquemia ocasiona daños a nivel pulmonar, renal, intestinal, hepático, de nivel retículo-endotelial, en sistema hematopoyético, pancreático, en el equilibrio ácido-base, trastornos del ritmo, etc.

Si el infarto es transmural, las miofibrillas del área infartada sufrirán ruptura intramural, adelgazando y dilatando la misma. Esto es lo que se conoce como "extensión del infarto". Si la presión es mucha y el área infartada se encuentra muy adelgazada puede haber una ruptura de la misma. Sin embargo, generalmente se habrá formado una "cicatriz", que será de tipo fibroso. Mientras más grande sea el infarto más fácil se expandirá.

La evolución de un infarto del miocardio ocasiona secreción de catecolaminas, lo que a su vez provoca infartos de localización anterior. Además, vienen trastornos en la conducción A-V, lo cual complica el infarto. De cualquier forma, este bloqueo A-V generalmente es transitorio.

MECANISMO DE PRODUCCION DEL INFARTO POR LA ADMINISTRACION DE ISOPROTERENOL

El mecanismo por medio del cual el isoproterenol causa un daño tipo infarto al corazón, ha tratado de explicarse con varias teorías:

- Como consecuencia de una hipoxia relativa.
- Por un aumento en la entrada de calcio, una disminución en el contenido celular de ATP y un aumento de AMP cíclico.
- Por la producción de desechos de oxidación de catecolaminas y/o la formación de radicales libres de oxígeno, los cuales atacan enzimas y otras proteínas y desencadenan la peroxidación de ácidos grasos de membrana.

A ciencia cierta no se conoce lo que ocurre; nosotros pensamos lo siguiente: Con dosis altas de isoproterenol, el consumo de oxígeno aumenta y el flujo coronario disminuye, por lo que el trabajo cardíaco aumenta también. Esto origina un proceso necrótico tipo infarto, especialmente en el tejido que está irrigado por la última parte de la red capilar, que es la que tiene menor presión de oxígeno. De hecho, la mayor parte de los miocitos necrosados son aquéllos que están cerca de o irrigados por vénulas, donde el contenido de oxígeno es menor que en las

arteriolas. Esto demuestra que la necrosis es de origen hipóxico, no coronarogénico.

Por otra parte, el principal daño causado por el isoproterenol no es la toxicidad de sus productos de oxidación. Sin embargo, éstos contribuyen a la formación de radicales libres de oxígeno.

En cualquier caso, el grado de necrosis dependerá directamente de la dosis de isoproterenol e inversamente de la cantidad de oxígeno existente.

Cabe decir que los principales cambios sufridos por el corazón por la administración de isoproterenol son los siguientes:

- Ligero cambio de color en el ápice de los ventrículos (se tornan más claros).
- Aumento en el diámetro de las miofibrillas.
- Desarrollo de colágena celular en áreas focales del ventrículo izquierdo y el miocardio septal, especialmente en la parte apical.
- Formación de cicatrices que difícilmente se observarán en el ventrículo derecho, a menos de que la cantidad de isoproterenol sea muy alta.

RELACION DEL INFARTO DEL MIOCARDIO CON LAS ALTERACIONES SUFRIDAS EN EL ENDOTELIO VASCULAR

Referente a las diversas enfermedades que pueden sufrir las arterias coronarias, lo que sucede en el caso del infarto del miocardio a nivel de endotelio vascular es lo siguiente:

El principal evento que tiene lugar en un caso de infarto del miocardio es una oclusión aguda de una o más arterias coronarias epicárdicas. Para el desarrollo de dicho infarto son factores primordiales la fisura de las placas con hemorragias intravasculares y adhesión de plaquetas (12), vasoespasmos y formación de trombos. Estas hemorragias intravasculares que tienen lugar durante la ruptura de las placas pueden propiciar que se libere hemoglobina, la que posteriormente inhibirá al EDRF.

Las sustancias derivadas de las plaquetas y liberadas en los sitios de estenosis coronaria o ruptura de placas produce marcados efectos en la microcirculación coronaria y en los vasos sanguíneos colaterales encargados de irrigar al miocardio necrosado.

En pacientes se ha obtenido una sustancia, posiblemente serotonina, a partir de sangre tomada del seno coronario. Por otra parte se sabe que los vasos sanguíneos colaterales son muy sensibles a los efectos vasoconstrictores de algunos productos de

las plaquetas, especialmente de la serotonina. Así, si la agregación plaquetaria se iniciara *in vivo*, los vasos sanguíneos colaterales se contraerían vigorosamente, al contrario de la microcirculación nativa.

EFFECTO DE LOS AGENTES β -ADRENERGICOS SOBRE EL ENDOTELIO VASCULAR

Se sabe que en las células endoteliales existen receptores β -adrenérgicos (principalmente del tipo β_2). Se ha comprobado (12) en arterias aisladas que en ausencia de inhibidores de la ciclooxigenasa, estas células pueden afectar relajaciones inducidas por isoproterenol.

Con la administración de isoproterenol primero se dañan los miocitos, que son altamente diferenciados, después las células endoteliales y finalmente la microvasculatura, en especial la de las áreas cercanas a los miocitos ya dañados (22). Sin embargo, la activación β -adrenérgica no provoca la liberación de EDRF.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en lo anterior, se puede decir que el endotelio vascular es mecanosensible, ya que por variaciones de flujo (señales físicas) generará una serie de cambios bioquímicos y fisiológicos en cascada.

Estos cambios podrán afectar la contractilidad miocárdica y el consumo de oxígeno; está demostrado que tanto el estrés por fricción como la presión funcionan como estimulantes (4, 7). Recientemente se ha demostrado que el flujo coronario no sólo modifica la contractilidad, sino que es capaz de afectar otros parámetros funcionales cardíacos, como son: la conducción aurículo-ventricular (A-V), el ritmo ventricular espontáneo y el ritmo sinusal.

Por otra parte, se sabe que el flujo coronario, además de estimular la contractilidad miocárdica y el consumo de oxígeno (4, 7), también estimula el metabolismo glucolítico (20) y la liberación del factor natriurético auricular (13).

De acuerdo a lo anterior, es lógico pensar que en situaciones patológicas los efectos que ejerce el flujo coronario sobre diversos parámetros cardíacos no serán equivalentes a los que se presenten en un órgano sano, sino que pueden acentuarse o atenuarse.

Así, en el infarto agudo del miocardio, el cual cursa con alteraciones endoteliales y hemodinámicas, podemos esperar que las respuestas normales al flujo coronario se vean alteradas.

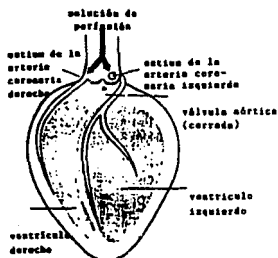
M E T O D O L O G I A

ANTECEDENTES A LA PREPARACION DE LANGENDORFF

Tan sólo unos cuantos métodos para realizar experimentos con animales se han venido usando desde su publicación tal y como fueron descritos entonces. Uno de ellos es el método de Langendorff para la perfusión del corazón aislado de mamíferos. Fisiólogos, farmacólogos, bioquímicos y otros científicos han usado este modelo experimental para realizar estudios de hemodinámica, metabolismo e histología cardíacas, y lo han modificado de múltiples formas para lograr propósitos específicos.

Oscar Langendorff fue el primero en diseñar un método que permitiera realizar investigaciones sobre la actividad mecánica del corazón de un mamífero estando completamente aislado del resto del organismo. El principio en el que se basa es impulsar la sangre o cualquier otro fluido apropiado y debidamente oxigenado a través de la aorta ascendente por medio de una cánula insertada en ella para mantener la actividad cardíaca. La perfusión retrógrada cierra las válvulas aórticas tal como ocurre en un corazón *in situ* durante la diástole, y la solución de perfusión se desplaza por todas las arterias coronarias. Después de recorrer el sistema vascular coronario, la solución sale a

través del seno coronario y la aurícula derecha abierta, respectivamente. Las cavidades cardíacas permanecen prácticamente vacías durante todo el experimento (figura 3). La solución de perfusión sale a través del seno coronario.



f.3. Vías de perfusión en el corazón aislado de Langendorff: La válvula aórtica se encuentra cerrada y ambos ventrículos permanecen vacíos.

Las preparaciones de órganos aislados como son el corazón de Langendorff y la preparación cardiopulmonar de Sterling pueden criticarse por varias razones: sirven para propósitos muy limitados o específicos y no brindan tanta información como la harían los estudios hechos con animales intactos. Sin embargo, este tipo de modelos tiene especial importancia en el campo de la Farmacología, donde para estudiar una nueva sustancia

potencialmente activa primero hay que determinar los efectos que causa sobre el órgano blanco, sin ninguna regulación de tipo humoral o nerviosa y sin ningún aporte adicional de sustratos.

En el caso del corazón preparado a la manera de Langendorff, hablamos de un sistema de perfusión artificial, no reflexivo y sin el entorno humoral normal. Esto implica que la preparación puede deteriorarse y la información obtenida de ella no sería del todo fisiológica. Sin embargo, la falta de regulación endógena tiene efectos limitados en la supervivencia y funcionamiento de cada célula o grupo de células, por lo que no se debe sobreestimar a estos factores.

Con todo, se han hecho extensos estudios referentes al funcionamiento de órganos aislados, y en la actualidad es ampliamente aceptado que las diversas funciones del corazón (entendiendo por éstas al sistema de conducción, la musculatura cardíaca y la musculatura lisa de las arterias coronarias) pueden estudiarse perfectamente en esta preparación del órgano aislado y perfundido.

Siempre, al comienzo de cada serie de experimentos habrá que evaluar el estado del órgano comparándolo contra estándares preestablecidos, además de que se deberá monitorear durante cada experimento con diferentes pruebas, según sea el tipo de estudio

realizado. Finalmente, los resultados obtenidos deben ser examinados a conciencia y de manera crítica.

Inicialmente Langendorff utilizó su modelo para registrar la contractilidad del corazón. Hoy en día tiene muchas aplicaciones; normalmente los parámetros que se miden en dicho modelo son cuatro: flujo coronario (y presión de perfusión), fuerza cardíaca, frecuencia cardíaca y parámetros electrocardiográficos. Recientemente ha recobrado popularidad, utilizándose cada vez más. Esto se debe a varias causas: Primero, las posibilidades técnicas para medir diversos parámetros biofísicos y bioquímicos han aumentado en gran medida. Segundo, el número de parámetros medibles y la exactitud con que ésto se puede hacer optimizan el significado de los resultados que se pueden obtener con un sólo corazón aislado. Por otra parte, trabajar con animales intactos entraña problemas de índole ética (y en algunos casos incluso política), por lo que cada vez es mayor el número de experimentos hechos con métodos "alternativos", y el corazón aislado a la manera de Langendorff es uno de ellos. Además, es apropiado para trabajar con cualquier animal, especialmente si es de sangre caliente, con un sistema vascular coronario. Incluso ha habido casos en que un corazón humano es mantenido vivo durante una cirugía utilizando los principios aquí descritos.

Cabe decir que a pesar de todas las modificaciones hechas al método desde principios de este siglo, sólo se consideran "corazones de Langendorff" aquéllos en que las arterias coronarias son perfundidas de manera retrógrada a través de la aorta sin que exista una circulación pulmonar o sistémica.

SOLUCION DE PERFUSION

La solución de Krebs-Henseleit modificada es una de las más usadas en la preparación de órganos aislados. Es recomendable filtrarla aunque los reactivos sean grado analítico, ya que pueden contener partículas insolubles que ocasionarían microembolismos en los vasos coronarios. No se recomienda utilizar papel filtro común, ya que pueden desprenderse residuos de fibrillas de celulosa. Es mejor usar filtros de membrana hechos de nitrocelulosa. Los de Millipore de 0.22 micras son adecuados.

La composición de esta solución es la siguiente: fosfato de sodio, 0.0012 M; etilendiaminetetracetato de sodio dihidratado, 0.0027 mM; cloruro de potasio, 0.006 M; cloruro de calcio dihidratado, 0.0016 M; sulfato de magnesio heptahidratado, 0.0012 M; cloruro de sodio, 0.1178 M; dextrosa anhidra, 0.005 M y bicarbonato de sodio, 0.0113 M.

El pH de la solución de perfusión influye mucho en el flujo coronario y en la fuerza de contracción del corazón. Su valor debe de estar entre 7.35 y 7.45. Si disminuye, habrá dilatación coronaria y disminución de la fuerza de contracción; si aumenta, se verá el efecto contrario. El contenido de calcio también puede afectar la fuerza de contracción de manera directamente proporcional.

La temperatura deberá mantenerse constante, a 37 °C. Esto se logra usando un baño de agua regulable.

Para mantener la solución debidamente oxigenada se estará burbujeando con carbógeno (una mezcla de gases con 95% de O₂ y 5% de CO₂) desde unos minutos antes de empezar a perfundir el corazón. Esto, junto con el bicarbonato de sodio le darán a la solución el pH adecuado. La presión parcial de oxígeno que se alcanza con el carbógeno llega a ser de aproximadamente 650 mmHg.

PROCEDIMIENTO QUIRURGICO

Se utilizaron ratas de entre 250 y 280 gramos de peso, a las que todo el tiempo se les dio agua y alimento *ad libitum*. Para evitar trombosis de las arterias coronarias durante el

experimento, al animal se le administrarán, por vía intraperitoneal, 500 UI de heparina por cada 100 gramos de peso para evitar la coagulación de la sangre.

Para la cirugía, se deberá utilizar anestesia general; los barbituratos son recomendables, ya que sus efectos y reacciones secundarias son bien conocidas. En este caso se utilizó una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico, en una dosis de 25 mg/kg de peso.

También se deberá contar con un sistema de ventilación artificial. El abastecimiento de oxígeno al corazón se ve interrumpido en el momento justo en que se detiene la respiración, y tan sólo en los siguientes 10 a 30 segundos comienzan a darse fenómenos de anoxia e isquemia, respectivamente, con subsecuentes cambios en el contenido tisular de ATP y creatinínfosfato y por ende el deterioro de los mecanismos cardíacos. Aún en el caso de que después haya reperfusión, la actividad mecánica del corazón volverá a la normalidad, no así su metabolismo (la deficiencia de ATP es irreversible).

Después de la aplicación de la anestesia, el animal será colocado en una mesa de operaciones apropiada y se le practicará una intubación endotraqueal para controlar la respiración con un ventilador de presión positiva. Después se hará una incisión en

la piel con un corte longitudinal que vaya de la mitad del abdomen hacia la garganta. Luego se abrirá el abdomen hasta el diafragma, el cual será separado de las costillas siguiendo la parte anterior de la apertura torácica inferior. Así, se podrán observar el corazón y los pulmones, que para ese entonces ya estarán siendo ventilados artificialmente. El tórax será abierto por ambos lados, siguiendo una línea paralela al esternón, empezando por el diafragma y terminando en la primera costilla. Después, la pared torácica anterior será vuelta hacia arriba por encima de la cabeza del animal, y detenida en esa posición con pinzas. Nunca se deberá cortar dicha pared, porque se produciría una hemorragia severa a partir de las dos arterias torácicas internas.

Ahora habrá que quitar el pericardio hasta el lugar de su unión con el tallo vascular. La aorta ascendente deberá ser desprovista de todo tejido conectivo que le rodee como sea posible. Después habrá que separarla de la arteria pulmonar usando pinzas sin punta, nunca tijeras. Se colocará un hilo alrededor de la aorta, para detenerla.

El corazón, con el hilo alrededor de la aorta, será ligeramente elevado con ayuda de este último, y será cortado con tijeras de la parte más alejada del tallo vascular. Hay que evitar lastimar la parte posterior de la aurícula derecha, por encontrarse ahí el nodo sinusal. Después, la aorta ascendente será cortada lo más

lejos cranealmente posible. La cánula será insertada en la aorta y finalmente el hilo, que seguirá alrededor de ésta, se apretará para detener al corazón. El paso del corazón hacia la cánula es crítico, y debe hacerse rápidamente. Además habrá que cuidar los siguientes detalles:

- Hay que dejar que salga un poco de solución de la cánula antes de colocar la aorta, para que no se acumulen burbujas de aire en la primera.

- Para facilitar la inserción en la cánula y que el área quirúrgica no se inunde con sangre proveniente de la misma aorta, se puede bañar al corazón, con un poco de la misma solución salina, pero fría (a unos 4 u 8 °C) para que los latidos sean más suaves o incluso cesen por un momento. Este choque térmico producirá un paro, que evitará la depleción de energía.

- Una vez insertada la cánula en la aorta, el hilo, que seguirá alrededor de ésta, se apretará para sostenerla. La punta de la cánula no deberá quedar muy abajo para que no obstruya las válvulas aórticas y éstas puedan cerrarse bien.

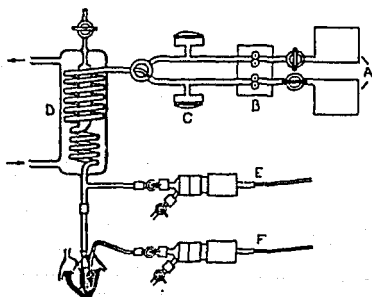
La cánula de perfusión puede estar hecha de vidrio, plástico (PVC) o metal; deberá tener una ligera concavidad en la punta que evite que la aorta se resbale. Su tamaño dependerá de la especie animal usada. Para cobayos o ratas (ésto es, animales de unos

250 a 350 gramos de peso aproximadamente) una de 20 mm de longitud está bien.

Una vez que el corazón esté perfundiéndose, se empezará a ver de un color rosa pálido, debido a que ya no queda sangre dentro de él y a que la solución de perfusión es incolora. Inmediatamente empezará a latir vigorosa y rítmicamente. En ese momento se eliminará cualquier resto de tejido que haya sido previamente cortado junto con el corazón, como puede ser tejido graso, tejido conectivo, restos de pericardio, trozos de pulmón o vasos rotos.

Mientras pasa el período de recuperación del corazón hay tiempo para apagar el respirador y limpiar el área de cirugía. Dicho tiempo puede variar según diversos autores, pero generalmente va de 15 a 30 minutos, hasta que el flujo coronario, presión ventricular y velocidad del corazón sean constantes. En cualquier caso, debe fijarse un tiempo de equilibrio y utilizarse el mismo en todos los experimentos. En el caso del presente estudio dicho tiempo fue de 10 minutos a flujo de 20 ml/min seguidos de 20 minutos a flujo de 10 ml/min. Todas las mediciones experimentales se hicieron pasado este tiempo. Un flujo coronario constante es el mejor indicador de la recuperación del corazón, ya que después de un período de hipoxia o isquemia hay una reacción inmediata de aumento en el flujo coronario.

La presión coronaria fue medida continuamente por medio de un transductor de presión comunicada con una de las vías laterales de la cánula de perfusión. A flujo de 10 ml/min ésta era de 47 ± 2.3 mmHg (figura 4).



F.4. Diagrama del equipo necesario para montar un corazón aislado de manífero a la manera de Langendorff: A) Reservorios para la solución de perfusión; B) bomba de infusión; C) cámara de aire (que amortigua los cambios de presión); D) intercambiador de calor; E) transductor 1 (registro de resistencia al flujo); F) transductor 2 (registro de presión intraventricular).

Una vez listo el órgano aislado se colocó un par de electrodos en el ápice de la aurícula derecha para estimular el corazón, con impulsos eléctricos de 2 mseg de duración y de un voltaje equivalente al doble del umbral de excitación del corazón.

Para registrar el electrocardiograma se colocó un electrodo en la aurícula izquierda y otro en el ventrículo izquierdo. Ambos fueron conectados con un osciloscopio sincronizado con el estimulador, y la conducción aurículo-ventricular (A-V) fue monitoreada continuamente.

En todos los experimentos se tuvo el cuidado de que los electrodos quedaran colocados en la misma posición.

PRODUCCION DEL INFARTO

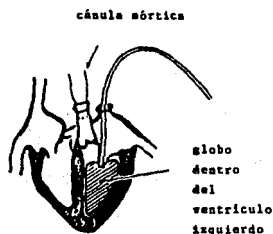
Se utilizó isoproterenol en una dosis de 67 mg/kg de peso, disuelto en solución salina (70 mg/ml). Este fue administrado por vía subcutánea en una sola vez.

Se trabajó con 5 diferentes grupos de animales: aquéllos a los que se les había administrado el isoproterenol 6, 24, 48 y 96 horas antes del experimento, y los utilizados como controles, que no lo recibieron.

ESTUDIO DE LA AMPLITUD DE LA CONTRACCION VENTRICULAR

Se insertó en el ventrículo izquierdo, y a través de la aurícula izquierda, un globo de látex con agua. La presión diastólica se

ajustó a 10 mmHg y la presión ventricular se monitoreó continuamente (figura 5). Es importante que en el globo no queden burbujas de aire, pues éstas amortiguarían la señal.



F.5. Posición del globo dentro del ventrículo izquierdo que registra la presión isovolumétrica en el corazón aislado de Langendorff.

Para estudiar los efectos del flujo coronario sobre la amplitud de la contracción ventricular, la frecuencia de estimulación se mantuvo constante y el flujo se incrementó gradualmente, de 10 ml/min a 25 ml/min, con intervalos de 5 ml/min.

ESTUDIO DE LA TRANSMISION AURICULO-VENTRICULAR (A-V)

Para definir los efectos del flujo coronario sobre la conducción A-V se hicieron dos tipos de gráficas:

1) Se determinó el tiempo de conducción A-V a flujo constante y a varias frecuencias de estimulación auricular, desde 3.5 Hz, con intervalos de 0.5 Hz y hasta el máximo valor donde el corazón daba un sólo latido por estímulo. Esto se hizo con dos diferentes velocidades de flujo: 10 y 25 ml/min.

2) Se determinó el tiempo de conducción A-V a diferentes velocidades de perfusión, desde 10 y hasta 25 ml/min con intervalos de 5 ml/min, de tal forma que no hubiera desfasamiento de señales. La frecuencia de estimulación se mantuvo constante, siendo de 5 Hz.

M E D I C I O N E S E X P E R I M E N T A L E S

1. EFECTO DEL FLUJO CORONARIO SOBRE LA CONTRACCION CARDIACA EN CORAZONES INFARTADOS

Este efecto se estudió registrando continuamente la amplitud de la contracción ventricular (que se expresa en términos de mmHg) en corazones obtenidos de acuerdo al procedimiento de Langendorff a medida que se iba aumentando la presión de perfusión. Esto es, haciendo que la velocidad de flujo coronario

umentara. Esto se llevó a cabo gradualmente desde 10 hasta 25 ml/min, con intervalos de 5 ml/min. La frecuencia de estimulación se mantuvo constante, a 5 Hz.

Lo anterior se hizo tanto en corazones control como con los grupos tratados con isoproterenol, a los tiempos de administración antes mencionados: 6, 24, 48 y 96 horas.

2. EFECTO DE LA FRECUENCIA DE ESTIMULACION SOBRE LA VELOCIDAD DE CONDUCCION EN CORAZONES INFARTADOS

Este efecto fue estudiado de la siguiente manera: En un osciloscopio se fue registrando el intervalo A-V a medida que se iba aumentando la frecuencia de estimulación, desde la mínima hasta la máxima en las cuales el órgano cardíaco diera un latido por estímulo. Esto es, desde 3 hasta 8 ó 9 Hz., con intervalos de 0.5 Hz. Bajo estas condiciones se hicieron dos tipos de experimentos, siempre manteniendo el flujo coronario constante: a 10 y 25 ml/min, respectivamente.

Lo anterior se hizo tanto en corazones control como en otros tratados con isoproterenol, a los mismos tiempos de la administración del mismo: 6, 24, 48 y 96 horas.

3. EFECTO DEL FLUJO CORONARIO SOBRE LA VELOCIDAD DE CONDUCCION EN CORAZONES INFARTADOS

Este efecto se estudió monitoreando la velocidad de conducción del corazón en un osciloscopio, midiendo específicamente el intervalo A-V a medida que aumentaba el flujo coronario, desde 10 hasta 25 ml/min , con intervalos de 5 ml/min. La frecuencia de estimulación se mantuvo constante, a 5 Hz.

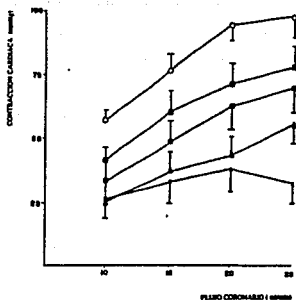
Lo anterior se hizo tanto en corazones control como en los grupos tratados con isoproterenol, a los tiempos de administración antes mencionados: 6, 24, 48 y 96 horas.

R E S U L T A D O S

1. EFECTO DEL FLUJO CORONARIO SOBRE LA CONTRACCION CARDIACA EN CORAZONES INFARTADOS

En la figura 6 se muestran las curvas generadas. Se observa que conforme aumenta el flujo coronario, aumenta la contracción ventricular. Esto es, que el flujo coronario tiene un efecto estimulador para la contracción. Sin embargo, dicho efecto es más pronunciado en los corazones control, que al mismo tiempo son los que registran los valores más altos de contracción.

A las seis horas de la administración de isoproterenol la contracción sufre una caída considerable, además de que el efecto estimulador del flujo coronario se pierde casi totalmente. A medida que avanza el tiempo después de la inyección de isoproterenol, el corazón va recuperándose progresivamente. Así, se puede ver que la contracción va aumentando a las 24, 48 y 96 horas, pero sin llegar a los valores iniciales. De igual forma, el efecto estimulador del flujo coronario se manifiesta nuevamente, al grado que llega a ser casi igual que con los corazones control.

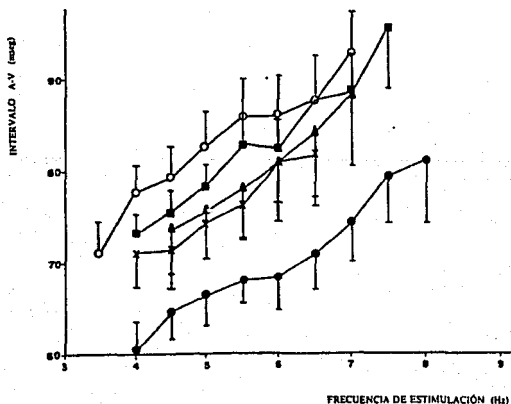


F.6. Efecto del flujo coronario sobre la contracción cardíaca en corazones infartados (frecuencia de estimulación constante = 5 Hz.) (tiempo posterior a la inyección de isoproterenol: ○ control; × 6 horas; ▲ 24 horas; ● 48 horas; ■ 96 horas).

2. EFECTO DE LA FRECUENCIA DE ESTIMULACION SOBRE LA VELOCIDAD DE CONDUCCION EN CORAZONES INFARTADOS

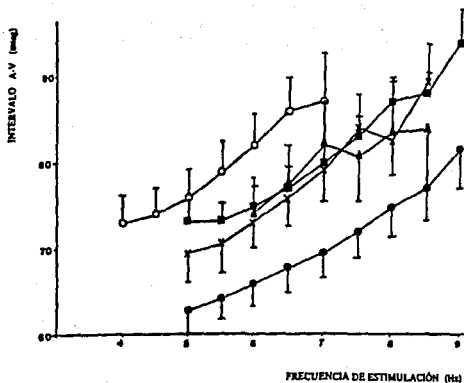
En las figuras 7 y 8 se ven los resultados a dos diferentes flujos de perfusión: 10 y 15 ml/min. En ambos casos, el mayor intervalo se da en los corazones sin tratamiento. Además, a medida que aumenta la frecuencia de estimulación aumenta el intervalo A-V. Esto es, el impulso que incidía sobre la aurícula derecha tardaba más tiempo en llegar al ventrículo izquierdo, o sea que la conducción se iba haciendo más lenta.

En los corazones con 6 y 24 horas de tratamiento con isoproterenol se ve una ligera depleción en los valores del intervalo A-V. En los de 48 horas esta depleción es mucho mayor y ya para las 96 horas el corazón se ha recuperado a tal grado que la velocidad de conducción es casi igual a la de los corazones control. Este efecto se ve con mayor claridad en la gráfica en la cual el flujo coronario es de 10 ml/min.



F.7. Efecto de la frecuencia de estimulación sobre la velocidad de conducción (Intervalo A-V) en corazones infartados (flujo coronario constante = 10 ml/min) (Tiempo posterior a la inyección de isoproterenol:

○ control; X 6 horas; ▲ 24 horas; ● 48 horas; ■ 96 horas).



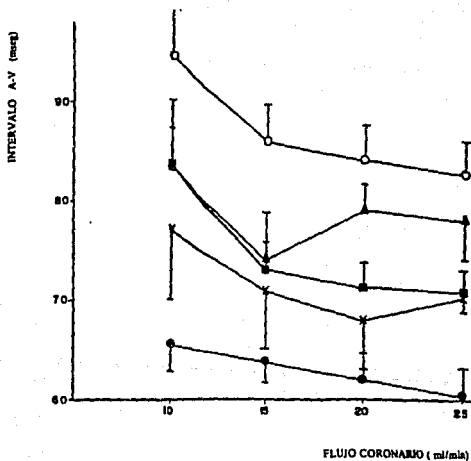
F.8. Efecto de la frecuencia de estimulación sobre la velocidad de conducción (intervalo A-V) en corazones infartados. (flujo coronario constante = 25 ml/min) (Tiempo posterior a la inyección de isoproterenol; ○ control; × 6 horas; ▲ 24 horas; ● 48 horas; ■ 96 horas).

La diferencia entre ambas gráficas es principalmente el rango de estimulación empleado; en todos los casos se usaron sólo aquellas frecuencias que dieran una conducción A-V de 1:1. Para un flujo coronario mayor, las frecuencias empleadas eran un poco mayores. En el caso de 10 ml/min fueron desde 3.5 hasta 8.0 Hz, y para 25 ml/min, desde 4.0 hasta 9.0 Hz.

3. EFECTO DEL FLUJO CORONARIO SOBRE LA VELOCIDAD DE CONDUCCION EN CORAZONES INFARTADOS

En la figura 9 se observa que en los corazones control los valores del intervalo A-V fueron más altos que para aquéllos tratados con isoproterenol. En todos los casos el flujo coronario estimuló la velocidad de conducción, lo cual se reflejó con valores de intervalo A-V menores.

En cuanto a los diferentes tiempos de infarto, a las 6 y a las 24 horas de la administración de isoproterenol se tuvieron valores de intervalo A-V un poco menores que para los corazones control. A las 48 horas eran todavía menores (los corazones eran más excitables y la conducción se daba mucho más rápidamente.). Ya para las 96 horas el corazón se había empezado a recuperar, ya que la velocidad de conducción se acercaba a la que tenía a las 6 horas, pero sin llegar a ser como la de los corazones control.



F.9. Efecto del flujo coronario sobre la velocidad de conducción en corazones infartados (frecuencia de estimulación constante = 5 Hz.) (tiempo posterior a la inyección de isoproterenol: ○ control; × 24 horas; ▲ 48 horas; ■ 96 horas) (frecuencia de estimulación constante = 5 Hz.)

DISCUSION DE RESULTADOS

1. EFECTO DEL FLUJO CORONARIO SOBRE LA CONTRACCION CARDIACA EN CORAZONES INFARTADOS

Como se observa en la figura 6, el aumento de flujo coronario se acompaña de un aumento concomitante en la contracción ventricular. Se cree que estos cambios a los que se someten las células endoteliales originan la liberación del EDRF, el cual a su vez ocasionaría una vasodilatación coronaria, que aumentaría el aporte de oxígeno a la fibra miocárdica y consecuentemente la fuerza de contracción.

Otro posible mecanismo que explicaría el aumento en la contracción como respuesta al flujo, es la vasodilatación que pudiera originarse como consecuencia del estiramiento de las células endoteliales, producto del aumento de la presión ejercida por el flujo coronario. Este evento generaría una hiperpolarización de las células endoteliales por el incremento de las corrientes iónicas (especialmente de potasio), lo cual se traduce en una reducción del tono vascular de manera espontánea.

Estos cambios traen como consecuencia alteraciones importantes en las fuerzas hemodinámicas, lo cual genera un aumento en la presión y en la fricción de las células endoteliales en el lecho vascular coronario.

Asimismo, el incremento en la contracción como respuesta al flujo podría explicarse de la siguiente manera: Se cree que el endotelio libera otras sustancias aún desconocidas a nivel de capilares, los cuales están en estrecho contacto con las células del parénquima (figura 2). Por tal razón, dichas células se verían afectadas directamente por acción de estas sustancias.

La administración de isoproterenol afecta la función contráctil del corazón. A las seis horas de su administración, ya se puede hablar de una situación de preinfarto. De hecho, por estudios histológicos se sabe (23) que a las 12 horas de la administración del isoproterenol existen ya áreas infartadas, principalmente en zonas subendocárdicas del ápice del corazón. Es en este primer tiempo de estudio cuando el corazón está más afectado tanto en sus funciones contráctiles como en la respuesta al flujo coronario.

Ya para las 96 horas del infarto casi se han alcanzado los valores iniciales de contracción, además de que los efectos del flujo prácticamente vuelven a la normalidad.

2. EFECTO DE LA FRECUENCIA DE ESTIMULACION SOBRE LA VELOCIDAD DE CONDUCCION EN CORAZONES INFARTADOS

De acuerdo a la figura 6 y en cuanto a la conducción eléctrica del corazón, lo que se trató de estudiar en estos experimentos fue la variación de este parámetro al aumentar la frecuencia de estimulación, y lo que se observó fue lo siguiente: Al aumentar la frecuencia de estimulación aumenta el intervalo A-V, o sea que la conducción se va haciendo más lenta.

Por otra parte, a las 6 y a las 24 horas de la administración de isoproterenol el intervalo A-V disminuye un poco, y a las 48 disminuye aún más. Para este tiempo el corazón está transmitiendo más rápidamente el impulso que incide sobre la aurícula derecha. Finalmente, a las 96 horas la velocidad de conducción es casi igual que en los corazones control.

3. EFECTO DEL FLUJO CORONARIO SOBRE LA VELOCIDAD DE CONDUCCION EN CORAZONES INFARTADOS

Como en el caso de las figuras 7 y 8, en la figura 9 se aprecia el efecto dromotrópico positivo inducido por el isoproterenol, el cual se acentúa a las 48 horas de la administración del mismo y se pierde casi por completo a las 96.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

En cuanto a los trastornos en la conducción cardíaca durante las diferentes etapas del infarto, se mencionó que estas alteraciones suelen ser transitorias. El hecho de que a las 96 horas el corazón (y más específicamente el ventrículo izquierdo) se haya recuperado casi por completo, puede deberse a la vida media tan corta del isoproterenol, que es de 2.5 minutos. Esto implicaría que los niveles plasmáticos para este tiempo son casi nulos. Aunado a esto, en el caso de que el daño por los metabolitos generados fuera importante, su efecto se produciría en un lapso de tiempo muy breve, por la misma razón.

Otra posibilidad que no se puede descartar es que el flujo sanguíneo colateral contribuya a la recuperación del órgano cardíaco.

CONCLUSIONES

El presente es un trabajo de investigación básica y no dudamos que en un futuro servirá como soporte de investigación a nivel clínico, debido a que el tipo de infarto aquí estudiado es muy similar al que comunmente ocurre en los humanos (23). Lo anterior redundaría en un enriquecimiento de la terapéutica cardíaca.

De los resultados obtenidos en este trabajo se pueden hacer conclusiones en dos aspectos fundamentalmente: 1) Los efectos del infarto experimental y 2) Las alteraciones producidas en las respuestas al flujo por el infarto.

Los Efectos del Infarto Experimental

En este modelo se presentaron alteraciones en los diferentes parámetros funcionales cardíacos desde las primeras seis horas después de la administración del isoproterenol. Estas alteraciones evolucionaron hasta las 48 horas en donde se aprecian niveles cercanos a los controles. Estos resultados muestran claramente que el modelo utilizado es muy semejante a lo que ocurre en la patología humana, por lo que es adecuado para el estudio de esta enfermedad.

Alteraciones Producidas en las Respuestas al Flujo

La hipótesis planteada originalmente acerca de la posibilidad de que durante patologías que alteran la integridad del endotelio vascular, las respuestas al flujo fueron también alteradas, queda demostrada por los experimentos aquí realizados.

Se sabe que el infarto cursa con alteraciones vasculares y daño endotelial. Nuestro modelo también cursó con estos cambios y cuando se exploraron las respuestas al flujo coronario, se observó que éstas se pierden en las etapas más graves del infarto inducido (6-48 horas) y se recuperan gradualmente hasta llegar a valores casi normales a las 96 horas.

Por supuesto que se tiene que estudiar más profundamente el fenómeno reportado en este trabajo para poder explicar los mecanismos responsables de las alteraciones en la respuesta al flujo, ya que si bien, las alteraciones del endotelio pudieron explicar el fenómeno, entre muchas otras cosas que no sabemos, podría ser que la sensibilidad del sistema estuviera alterada. Esto es, la sensibilidad de las células endoteliales podría estar alterada o la sensibilidad del miocito cardíaco para responder fuera menor.

Cabe recalcar que un trabajo como éste deja abiertas varias posibles líneas de investigación.

Dado que el infarto del miocardio es la principal causa de muerte en muchos países industrializados, son de gran importancia todos los estudios que conduzcan a un mejor entendimiento de su origen, evolución y posible tratamiento.

REFERENCIAS

- (1) Benjamín, I. J., Jalil, J. E., Tan, L. B., Cho, K., Weber, K. T. y Clark, W. E.: Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ. Res.* 1989; 65: 657-670
- (2) Bloom, S. y Davis, D. L.: Calcium as mediator of isoproterenol-induced myocardial necrosis. *Am. J. Pathol.* 1972; 69:459-470
- (3) Collins, P., Billings, C. G., Barer, G. R., Daly, J. J. y Jolly, A.: Quantitation of isoprenaline-induced changes in the ventricular myocardium. *Cardiov. Res.* 1975; 9:797-806
- (4) Cota, D., Rodríguez, A., Hernández-Muñoz, R., Chagoya de Sánchez, V. y Suárez, J.: Functional alterations in isoproterenol-induced myocardial infarction in Langendorff rat hearts. VII PAABS Congress Sep. 27 - Oct. 02, 1992; Ixtapa, Mexico
- (5) Feigl, E. O.: Coronary physiology. *Physiol. Rev.* 1983; 63:1-205
- (6) Gardner, M. J., Johnstone, D. E., Janes, R. D., Klassen, G. A. y Armour, J. A.: Effects of increasing heart rate induced

by different sympathetic neuronal stimulation, isoproterenol or cardiac pacing on myocardial function and oxygen utilization. *PACE* 1990; 13:1393-1400

(7) Gersch, B. J.: *Acute Myocardial Infarction*, Nueva York, Elsevier, 1991, pp.

(8) Gregg, D. E.: Blood supply to the heart. en: *Handbook of Physiology*. W. F. Hamilton y P. Dow (eds.), Amer. Physiol. Soc., 1963, pp. 1517

(9) Guadalajara, José F. *Cardiología*, 4a. ed., México, D. F., Ed. Méndez Cervantes, 1991. pp. 827-832, 870, 879-881, 894-911

(10) Ku, D. D.: Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. *Science*. 1982; 218:576-578

(11) Litter, M., *Farmacología Experimental y Clínica*, 7ª ed., El Ateneo, Buenos Aires, 1986

(12) López-Barrera, F.; Hernández-Muñoz, R.; Aranda-Fraustro, A. y Chagoya de Sánchez, V.: Changes on mitochondrial function during experimental myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *VII PAABS Congress* sep. 27 - oct. 02, 1992; Ixtapa, México

(13) Lüscher, T. F.: Endothelium-derived relaxing and contracting factors: potential role in coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 1989; 10:847-857

(14) Lüscher, T. F. y Vanhoutte, P. M.: *Endothelium: Modulator of Cardiovascular Function.* CRC Press

(15) Naruse, M., Higashida, T., Naruse, K., Shibasaki, T., Demura, H., Inagami, T. y Shizume, K.: Coronary hemodynamics and cardiac beating modulate atrial natriuretic factor release from isolated Langendorff-perfused rat hearts. *Life Sciences.* 1987; 41:421-427

(16) Persoon-Rothert, M., van der Valk-Kokshoorn, E. J. M., Egas-Kenniphaas, J. M., Mauve, I. y van der Laarse A.: Isoproterenol-induced cytotoxicity in neonatal rat heart cell cultures is mediated by free radical formation. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1989; 21:1285-1291

(17) Rodríguez, A., Cota, D. y Suárez, J.: Role of stretch-activated channels in the stimulator effect of coronary flow on auricular-ventricular propagation and ventricular contraction in Langendorff rat hearts. VII PAABS Congress Sep. 27 - Oct. 02, 1992; Ixtapa, Mexico

(18) Rubanyi, G. M., Romero, C. y Vanhoutte, P. M.: Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.* 1986; 250 (*Heart Circ. Physiol.* 19):H1145-H1149

(19) Rubio, R. y Suárez, J.: Coronary flow stimulates myocardial contraction, auricular-ventricular transmission and ventricular rhythm: possible role of surface membrane endothelial structures. Dept. of Physiology, Univ. of Virginia (en prensa).

(20) Simpson, P. et al.: Differentiation of rat myocytes in single cell cultures with and without proliferating nonmyocardial cells: Cross striations, ultrastructure and chronotropic response to isoproterenol. *Circ. Res.* 1982; 50:101-116

(21) Smith, W. L.: Prostaglandin biosynthesis and its compartmentation in vascular smooth muscle and endothelial cells. *Ann. Rev. Physiol.* 1986; 48:251-262

(22) Suárez, J. y Rubio, R.: Regulation of glycolytic flux by coronary flow in guinea pig heart. Role of vascular endothelial cell glycocalix. *Am. J. Physiol.* (*Heart Circ. Physiol.* 30) 1991; H1994-H2000

(23) Vanhoutte, P. M., Rubanyi, G. M., Miller, V. M. y Houston, D. S.: Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Ann. Rev. Physiol.* 1986; 48:307-320

(24) Veprek, P., Batra, S. Korecky, B. y Rakusan, K: Isoproterenol-induced rat endomyocardial damage in relationship to local capillary geometry. *Basic Res. Cardiol.* 1991; 86:434-440

(25) "Norepinefrina, epinefrina y aminos simpaticomiméticas", Norman Weiner. en: Goodman G. A., Goodman, L. S, Rall, T. W. y Murad, F.; *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, 7a. ed., México, D. F., Ed. Médica-Panamericana, 1986, pp. 153-185 (Cap. 8)

(26) Zimmer, H. G., Martius, P. A. y Marschner, G.: Myocardial infarction in rats: effects of metabolic and pharmacologic interventions. *Basic Res. Cardiol.* 1989; 84:332-343

(27) Zimmer, H-G y Schneider, A.: Nucleotide precursors modify the effects of isoproterenol. *Circ. Res.* 1991; 69:1575-1582