

Mimetización del preconditionamiento por activación vagal. Efectos sobre la función ventricular en un modelo experimental crónico

Mimicking Preconditioning by Vagal Stimulation. Effects on Ventricular Function in a Chronic Experimental Model

VERENA B. FRANCO RIVEROS, BRUNO BUCHHOLZ, EDUARDO A. BERNATENÉ, MARTÍN DONATO, RICARDO J. GELPI

RESUMEN

Introducción: En trabajos previos demostramos que la electroestimulación vagal preisquémica (EVp) es capaz de reducir el tamaño del infarto agudo de miocardio, sin una mejoría significativa sobre la función ventricular dentro de las dos horas de reperfusión. Se desconocen los efectos de esta modalidad de EV sobre la función ventricular izquierda (FVI) a largo plazo.

Objetivos: Estudiar si los efectos protectores de la EVp breve sobre el tamaño del infarto agudo repercuten en una mejoría de la FVI en un modelo crónico de isquemia y reperfusión miocárdica.

Material y métodos: En ratones FVB se realizó una isquemia miocárdica regional de 45 minutos con 2 horas o 28 días de seguimiento posreperfusión, con o sin 10 minutos de EV preisquémica. Se midió el tamaño del infarto (TI) con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio. Se evaluó la FVI mediante ecocardiografía y cateterismo del VI.

Resultados: La EVp redujo el TI medido a las 2 horas de reperfusión de $66,8 \pm 3,2\%$ a $43,2 \pm 1,6\%$ ($p < 0,001$), sin una respuesta favorable sobre la FVI. A los 28 días, en el grupo con EVp se observó una mejoría en la FVI, evidenciada por una menor presión de fin de diástole del ventrículo izquierdo ($4,44 \pm 1$ vs. $6,91 \pm 1$ mmHg del grupo control; $p < 0,05$), mayor fracción de eyección ($69,7 \pm 2,8\%$ vs. $59 \pm 3,2\%$; $p < 0,05$), mayor fracción de acortamiento ($33,4 \pm 2,23\%$ vs. $25,8 \pm 1,8\%$; $p < 0,05$) y menor tiempo de relajación isovolumétrica ($25 \pm 0,8$ msec vs. $30,3 \pm 1,2$ msec; $p < 0,05$).

Conclusiones: En un modelo de isquemia y reperfusión miocárdica en ratones, la mimetización del preconditionamiento isquémico por EV mejora la evolución crónica del infarto y redundante en una mayor recuperación de la FVI.

Palabras clave: Infarto del Miocardio - Estimulación del Nervio Vago - Isquemia- Remodelación Ventricular

ABSTRACT

Background: Previous studies have shown that preischemic vagal electrostimulation (pVS) reduces acute myocardial infarct size, without a significant improvement on ventricular function within the two-hour reperfusion period. It is unknown which are the long-term effects of pVS on left ventricular function (LVF).

Objectives: The aim of this study was to analyze whether the protective effects of brief pVS on acute infarct size improves LVF in a chronic myocardial ischemia-reperfusion model.

Methods: FVB mice were subjected to 45-minutes regional myocardial ischemia followed by 2 hours of reperfusion or 28-day post-reperfusion follow-up with or without 10-minutes pVS. Infarct size (IS) was measured with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, and LVF was assessed by echocardiography and left ventricular catheterization.

Results: Preischemic vagal stimulation reduced IS from $66.8 \pm 3.2\%$ to $43.2 \pm 1.6\%$ ($p < 0.001$) at 2 hours of reperfusion, without a favorable LVF response. At 28 days, the pVS group exhibited LVF improvement, with lower left ventricular end-diastolic pressure (4.44 ± 1 vs. 6.91 ± 1 mmHg in the control group; $p < 0.05$), higher ejection fraction ($69.7 \pm 2.8\%$ vs. 59.3 ± 3.2 ; $p < 0.05$), greater shortening fraction (33.4 ± 2.23 vs. $25.8 \pm 1.8\%$; $p < 0.05$) and lower isovolumic relaxation time (25 ± 0.8 ms vs. 30.3 ± 1.2 ms; $p < 0.05$).

Conclusions: In a mice model of myocardial ischemia and reperfusion, mimicking ischemic preconditioning by VS improves the chronic outcome of infarction, resulting in greater LVF recovery.

Key words: Myocardial Infarction - Vagus Nerve Stimulation - Ischemia - Ventricular Remodeling

Abreviaturas

AR	Área de riesgo	FVI	Función ventricular izquierda
EV	Estimulación vagal	IR	Isquemia y reperfusión
EVp	Estimulación vagal preisquémica	TI	Tamaño de infarto
FA	Fracción de acortamiento	TRIV	Tiempo de relajación isovolumétrica
FE	Fracción de eyección		

REV ARGENT CARDIOL 2018;86:398-403. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v86.i6.14313>

Recibido: 8/10/2018 - Aceptado: 1/11/2018

Dirección para separatas: Ricardo J. Gelpi - Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. J. E. Uriburu 950 - 2do piso. C1114AAD, Buenos Aires, Argentina. Tel/Fax: 54 11 5285 2701 - e-mail: rgelpi@fmed.uba.ar

Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, e Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL) UE UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales causas de morbimortalidad mundial es la cardiopatía isquémica (1), y según predicciones actuales, el impacto de esta causa se mantendrá en niveles muy altos más allá del año 2020. (2) Entre los determinantes de la evolución y el pronóstico de un paciente que se enfrenta a una lesión isquémica se encuentra, en primer lugar, la extensión de la región afectada por la isquemia, es decir, el tamaño del infarto. (3) Otro factor determinante es el desequilibrio del sistema nervioso autónomo, condición caracterizada por un incremento del tono simpático y una reducción del tono parasimpático.

Sin lugar a dudas, la forma más efectiva de limitar la extensión del daño es la reperfusión temprana de la arteria coronaria ocluida, antes de que la lesión isquémica del miocardio se vuelva irreversible. Aunque se realizaron grandes avances en este sentido, un porcentaje importante de pacientes aún evoluciona hacia el remodelado adverso del ventrículo izquierdo y la insuficiencia cardíaca. Si bien la reperfusión es indispensable para salvar al miocardio de la muerte celular por la isquemia, el aporte brusco de sangre al tejido hipóxico genera un daño adicional al tejido que se conoce como lesión por reperfusión. Es por ello que el uso de técnicas de protección miocárdica tales como el preconditionamiento o el poscondicionamiento, que reducen el daño por isquemia/reperfusión, ha cobrado un interés creciente en los últimos años. (4)

La disautonomía se presenta en las enfermedades cardiovasculares y es un factor independiente de mal pronóstico de los enfermos con cardiopatía isquémica. El uso de bloqueantes β adrenérgicos para contrarrestar la hiperactividad simpática es una opción terapéutica efectiva, pero aún insuficiente. (5) Por otro lado, el componente parasimpático de la disautonomía ha sido menos estudiado y aún carece de opciones terapéuticas efectivas. En este sentido, estudios preclínicos realizados en los últimos años lograron demostrar que la estimulación eléctrica de los nervios vagos (EV) tiene efectos beneficiosos en la cardiopatía isquémica. (6-9)

Recientemente hemos demostrado que la EV aplicada en forma breve y continua antes de la isquemia (EVp) o al inicio de la reperfusión (EVr) miocárdica reduce el tamaño del infarto, mimetizando el preconditionamiento a través de los receptores muscarínicos, con activación de la vía Akt/GSK-3 β , y el poscondicionamiento isquémico mediante la vía de los receptores

nicotínicos $\alpha 7$ y la proteína JAK2. (10) Sin embargo, no se conoce si esta mimetización del preconditionamiento por EV es capaz de ejercer efectos protectores sobre el remodelado ventricular y la función ventricular a largo plazo luego de la reperfusión temprana. Por lo tanto, nos planteamos como objetivo de este trabajo estudiar si los efectos protectores de la EVp breve sobre el tamaño del infarto agudo repercuten en una mejoría de la FVI en un modelo crónico de isquemia y reperfusión miocárdica (IR).

MATERIAL Y MÉTODOS

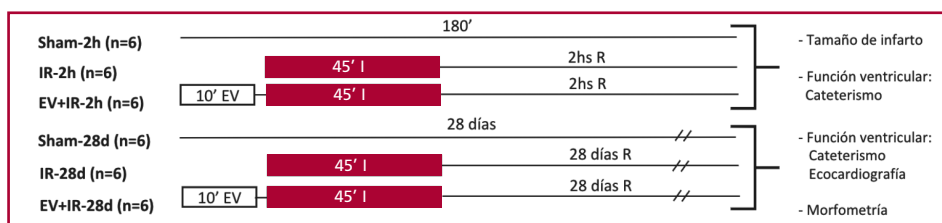
Modelo experimental. Ratones FVB machos fueron anestesiados por vía intraperitoneal con una dosis de inducción de 0,3 mg/kg (11) de Avertin (2,2,2-Tribromoetanol) y una dosis de mantenimiento según requerimiento, controlando los reflejos nerviosos superficiales. Se les realizó una isquemia miocárdica regional por oclusión de la arteria descendente anterior durante 45 minutos, seguido de reperfusión durante 2 horas o 28 días. Para los experimentos crónicos, los animales fueron recuperados de la anestesia luego del cierre por planos anatómicos de la incisión quirúrgica. Se les administró una dosis de 50 μ g/g de tramadol como analgésico y 50 μ g/g de cefazolina sódica como antibiótico. Una vez despiertos, los ratones permanecieron en jaulas individuales hasta el final del protocolo experimental.

Protocolos experimentales (Fig. 1). Luego de 10 minutos de EV y 5 minutos de recuperación sin EV, los ratones fueron sometidos a una isquemia miocárdica durante 45 minutos, seguida por la reperfusión de la arteria ocluida, ya sea durante 2 horas (grupo EV+IR-2h) o 28 días (grupo EV+IR-28d), y se los comparó con sus respectivos grupos controles sin EV (grupos IR-2h y IR-28d) y con los correspondientes grupos sometidos a una oclusión coronaria simulada (Sham).

Estimulación vagal. En los animales que recibieron estimulación vagal (EV), se colocó un electrodo bipolar (MLA270 Stimulation Cable, AD Instruments) conectado a un neuroestimulador (Grass S44 Stimulator) en el nervio vago derecho, a la altura cervical. Se estimuló de forma constante durante 10 minutos antes de la isquemia, con pulsos eléctricos rectangulares de 0,1 ms, con una frecuencia de 10 Hz y una intensidad variable para reducir aproximadamente un 10-15% la frecuencia cardíaca antes de la estimulación. (12)

Medición del tamaño de infarto. Luego de 2 horas de reperfusión, los animales de los protocolos agudos fueron eutanasiados con una sobredosis de ketamina y xylazina. La arteria coronaria fue religada; se canuló la arteria aorta ascendente y se infundió una solución de azul de Evans con el fin de medir el área de riesgo (área no teñida). El área de riesgo (AR) fue expresada como un porcentaje del área total de la pared ventricular izquierda. Luego el corazón fue seccionado en cortes transversales y estos fueron incubados en una solución al 1% de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) (12) durante 20 minutos, con el objeto de determinar el área

Fig. 1. Representación esquemática de los protocolos experimentales. EV: estimulación vagal. I: isquemia. R: reperfusión. d: días. h: horas



infartada. El tamaño de infarto (TI) se expresó como porcentaje del área de riesgo del ventrículo izquierdo. Se obtuvieron imágenes digitales y se analizaron mediante el *software* Image Analyzer, Image-Pro Plus, versión 6.0.

Mediciones hemodinámicas. Durante todo el protocolo agudo y al final de los protocolos crónicos, se registraron la frecuencia cardíaca (FC), la presión sistólica del ventrículo izquierdo (PSVI), $+dP/dt_{\max}$, $-dP/dt_{\max}$ y la presión de fin de diástole del ventrículo izquierdo (PDFVI). Para ello se disecó la arteria carótida común derecha, a través de la cual se introdujo un catéter hasta el ventrículo izquierdo, unido a un preamplificador y un equipo (PowerLab) conectado a una computadora con el *software* LabChart.

Mediciones ecocardiográficas. Pasados los 28 días de seguimiento, los ratones fueron anestesiados con 290 mg/kg de una solución al 2,5% de Avertin (Sigma-Aldrich) y se les realizó un estudio ecocardiográfico. Se utilizó un equipo Acuson Sequoia C512, con un transductor de ultrasonido lineal de 14 MHz. Se calcularon la fracción de eyección (FE) y la fracción de acortamiento (FA); la función sistólica y la función diastólica se evaluaron a partir del tiempo de relajación isovolumétrica (TRIV).

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media aritmética y el error estándar de la media. Las variables hemodinámicas fueron analizadas utilizando ANOVA para medidas repetidas, seguido de la prueba de Bonferroni. Los resultados del AR y el TI fueron analizados mediante el test de Student. Se consideró una diferencia significativa cuando el valor de p fue menor que 0,05.

Consideraciones éticas

El modelo experimental de este proyecto se realizó en conformidad con el Comité de Cuidado Animal de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires (Res CD nro. 339/18).

RESULTADOS

Efectos de la estimulación vagal sobre el tamaño de infarto

La **Fig. 2 panel A** muestra el AR de los grupos de 2 horas de seguimiento luego de la reperfusion, con y sin EV (IR-2h: $50 \pm 2,75\%$; EV+IR-2h: $51,9 \pm 3,19\%$, como era de esperar, no presentan diferencias significativas. La EV redujo el TI en comparación con el grupo control ($43,2 \pm 1,6\%$ vs. $66,8 \pm 3,2\%$, respectivamente. $p < 0,001$) (**Fig. 2 panel B**).

Efectos de la estimulación vagal sobre la función y el remodelado ventricular

En la **Tabla 1** se observa que no existen diferencias basales en la FC, PSVI, PDFVI, $+dP/dt_{\max}$ y $-dP/dt_{\max}$ entre los protocolos agudos.

Durante la isquemia, la presión de fin de diástole del ventrículo izquierdo (PDFVI) se eleva significativamente, tanto en el grupo IR-2h ($14,1 \pm 3$ mmHg) como en el grupo EV + IR-2h ($11,23 \pm 2$ mmHg) ($p < 0,05$), y estos valores tienden a mejorar durante la reperfusion. Se produce también una reducción de la presión sistólica del ventrículo izquierdo (PSVI), de la $+dP/dt_{\max}$ y de la $-dP/dt_{\max}$. La EV no favorece una mejor recuperación de la FVI en comparación con el grupo control. La EV redujo la FC en un 16,5% con respecto al valor basal anterior a la estimulación.

La **Tabla 2** muestra los valores hemodinámicos obtenidos por cateterismo del VI luego de 28 días de seguimiento posreperfusion. No se observaron diferencias significativas en la FC, la PSVI, la $+dP/dt_{\max}$ y la $-dP/dt_{\max}$. Sin embargo, se observa un incremento significativo de la PDFVI en el grupo IR-28d ($6,91 \pm 1$ mmHg) con respecto al grupo Sham-28d ($3,81 \pm 0,2$ mmHg) ($p < 0,01$). Es interesante señalar que la EV preisquémica mejora significativamente la PDF y la reduce a $4,47 \pm 1$ mmHg ($p < 0,05$).

En la **Fig. 3** se pueden observar los resultados de la FE (**panel A**), la FA (**panel B**) y el TRIV (**panel C**) evaluados a los 28 días de seguimiento posreperfusion. En comparación con el grupo Sham, en el grupo IR-28d se observa un descenso de la FE ($74 \pm 2\%$ vs. $59 \pm 3\%$; $p < 0,05$) y la FA ($37 \pm 2\%$ vs. $26 \pm 2\%$; $p < 0,05$) y un ascenso del TRIV (19 ± 1 mseg vs. 30 ± 1 mseg; $p < 0,05$). Estas variables mejoran con la EV (FE: $70 \pm 3\%$; FA: $33 \pm 2\%$; TRIV: 25 ± 1 mseg; $p < 0,05$ vs. IR-28d).

En la **Fig. 4** se puede observar que la EV no reduce el peso del VI en comparación con el grupo control.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo demostramos que la estimulación eléctrica del vago derecho durante 10 minutos antes de la isquemia reduce el tamaño del infarto medido a las 2 horas de reperfusion en un modelo de isquemia/

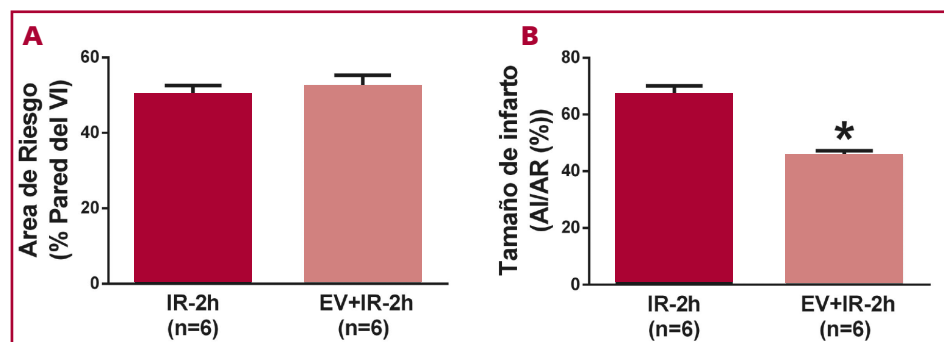


Fig. 2. Área de riesgo (Panel A) y tamaño del infarto (Panel B) de los grupos con dos horas de reperfusion. AR: área de riesgo. AI: área de infarto. IR: isquemia y reperfusion. EV: estimulación vagal preisquémica. VI: ventrículo izquierdo. (* $p < 0,001$ vs. IR-2h.)

Tabla 1. Función ventricular y frecuencia cardíaca de los grupos con 2 horas de seguimiento tras la reperfusión

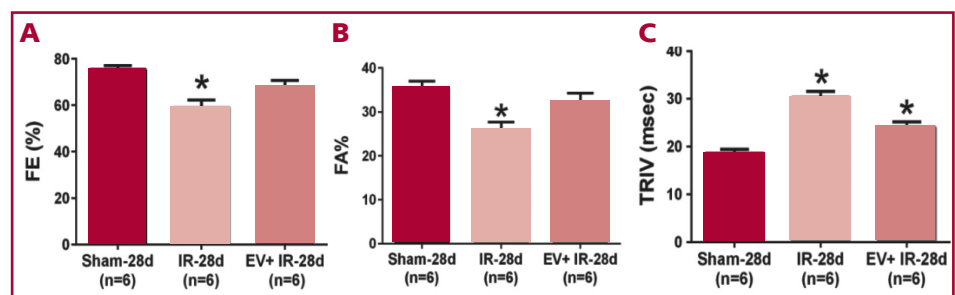
	Grupos	Basal	5 min	Ctrl.	45 min Isq	5 min Rep	60 min Rep	120 min Rep
FC (lpm)	Sham-2h	488±26	486±25	515±43	490±29	489±29	498±20	490±22
	IR-2h	453±7	446±8	473±29	477±8	486±11	485±6	499±10
	EV+IR-2h	479±18	402±25	522±17	509±9	507±13	478±32	456±35
PSVI (mmHg)	Sham-2h	100±7	100±7	103±3	98±2	97±5	99±2	96±2
	IR-2h	95±3	94±4	93±2	79±3*	78±3*	79±3*	79±3*
	EV+IR-2h	92±5	92±6	91±5	80±6	79±5	80±5	77±5
PDFVI (mmHg)	Sham-2h	2,78±0,1	2,91±0,2	3,49±0,2	3,25±0,2	3,42±0,3	2,91±0,3	3±0,4
	IR-2h	2,93±0,2	3,45±0,2	3,09±0,2	14,1±3*	9,36±2	6,14±1 [†]	4,59±0,5 [†]
	EV+IR-2h	3,51±0,3	3,77±0,3	3,64±1	11,23±2*	5,76±0,5 [†]	5±1 [†]	4,19±0,4 [†]
+dP/dt _{máx} (mmHg/seg)	Sham-2h	8843±952	8769±874	9745±100	8,330±238	8243±557	8566±416	7642±425
	IR-2h	7163±594	6817±674	6962±427	5,497±373	5133±408	5192±393	5108±386
	EV+IR-2h	6306±1061	6002±1226	7379±1439	5,359±760	5042±789	5216±753	4600±673
-dP/dt _{máx} (mmHg/seg)	Sham-2h	-6,563±511	-6337±493	-6,497±64	-6986±95	-6917±301	-7337±203	-6892±188
	IR-2h	-6,506±330	-6509±456	5,923±216	-4659±295*	-4842±309*	-4887±345*	-4743±349*
	EV+IR-2h	-6,162±914	-5817±916	-5,718±611	-4516±638	-4599±599	-4689±573	-4114±571

IR: isquemia y reperfusión. EV: estimulación vagal preisquémica. Isq: isquemia; Rep: reperfusión; Min: minutos; FC: frecuencia cardíaca; PSVI: presión sistólica del ventrículo izquierdo; PDFVI: presión de fin de diástole del ventrículo izquierdo; dP/dt: derivada de la curva de presión ventricular izquierda. lpm: latidos por minuto. (*p<0,05 vs. basal y Sham-2h; † p<0,05 vs. 45 min Isq., Sham-2h)

Tabla 2. Función ventricular y frecuencia cardíaca de los grupos con 28 días de seguimiento tras la reperfusión

Grupos	FC (lpm)	PSVI (mmHg)	PDF (mmHg)	+dP/dt _{máx} (mmHg/seg)	-dP/dt _{máx} (mmHg/seg)
Sham-28d	461±11	95±5	3,81±0,2	7348±1065	-6960±530
IR-28d	465±12	99±1	6,91±1 *	8438±226	-7289±283
EV+IR-28d	494±15	96±5	4,47±1 [†]	7922±868	-7204±281

IR: isquemia y reperfusión. EV: estimulación vagal preisquémica. Isq: isquemia; Rep: reperfusión; Min: minutos; FC: frecuencia cardíaca; PSVI: presión sistólica del ventrículo izquierdo; PDFVI: presión de fin de diástole del ventrículo izquierdo; dP/dt: derivada de la curva de presión ventricular izquierda. (*p<0,01 vs. Sham-28d y †p<0,05 vs. IR-28d).

Fig. 3. Valores de fracción de eyección (FE%) (panel A), de fracción de acortamiento (FA%) (panel B) y de tiempo de relajación isovolumétrica (TRIV) (panel C) en los grupos con 28 días de reperfusión. IR: isquemia y reperfusión, EV: estimulación vagal, d: días. (*p < 0,05 vs. Sham-28d).

reperfusión miocárdica en ratones. Cabe destacar un punto interesante: esta mimetización del preconditionamiento por la activación vagal mejora la evolución crónica del ratón, lo que se evidencia por una mejoría en la función ventricular evaluada por ecocardiografía y cateterismo ventricular izquierdo.

Estudios previos han demostrado que la estimulación vagal o el neurotransmisor ACh son capaces de ejercer efectos cardioprotectores. Por un lado, se sabe que en modelos *in vitro* en los que se administra ACh

en forma exógena, el tamaño del infarto se reduce a través de la activación del preconditionamiento. (13) A su vez, empleando un modelo de ratas sometidas a isquemia de 30 minutos seguida de reperfusión, Cavillo y colaboradores demostraron que la EV prolongada durante toda la isquemia disminuyó notablemente el tamaño del infarto con respecto al grupo control. (7) Esto lo atribuyen a una reducción significativa en la cantidad de macrófagos y leucocitos polimorfonucleares infiltrados en el tejido miocárdico. Esta reducción de

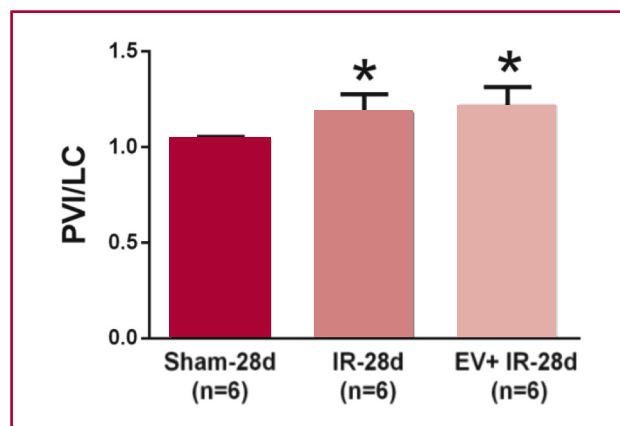


Fig. 4. Peso del ventrículo izquierdo (PVI) corregido por la longitud de la cola (LC). Se observa un aumento significativo del peso del ventrículo izquierdo del grupo IR-28d y EV+IR-28d vs. Sham-28d (* $p < 0,01$).

la inflamación también fue evidenciada por una disminución de los niveles de citocinas proinflamatorias circulantes.

En trabajos previos, nosotros demostramos que la EV preischemia reduce el tamaño del infarto tanto en conejos como en ratones. Así demostramos por primera vez que el aumento de la actividad parasimpática aguda puede mimetizar el preconditionamiento clásico a través de los receptores muscarínicos, activando la vía Akt/GSK-3. (10) Sorprendentemente, esta reducción del infarto no se reflejó en una protección sobre la función ventricular evaluada dentro de las 2 horas de reperfusión. Esto es coincidente con los resultados presentados en este estudio, donde no encontramos una mejoría en los valores de la PSVI, ni en la $+dP/dt_{max}$ o en la $-dP/dt_{max}$. Es posible que la falta de recuperación de la función ventricular se deba al atontamiento del miocardio, aún viable luego de la reperfusión, y a que es necesario un tiempo mayor de dos horas para lograr la recuperación funcional del miocardio atontado. En concordancia con esta idea, observamos que a los 28 días de la reperfusión hay una mejoría en la función ventricular, evaluada tanto por cateterismo como por ecocardiografía. No obstante, es importante señalar que los beneficios en la función crónica podrían deberse no solamente a una recuperación del miocardio viable con la EV, sino también a cambios estructurales como consecuencia de beneficios sobre el remodelado ventricular izquierdo.

Por otro lado, no se sabe si los efectos protectores de la EV preischemia poseen beneficios a largo plazo en el remodelado ventricular y en la función del ventrículo. Li y colaboradores (14) describieron que la EV durante 6 semanas mejoró la supervivencia de ratas con insuficiencia cardíaca a través de la prevención de la progresión del fallo de bomba y el remodelado cardíaco, evidenciado por un descenso del peso del VI. Otro trabajo en la misma línea demuestra en un modelo de

conejos que la estimulación por 3 días desde el inicio de la isquemia lleva a una mejoría de la función ventricular. (8) La ecocardiografía mostró que tanto los valores de FA como los de DFSVI y DFDVI mejoraron en el grupo con EV. Sin embargo, en esos estudios se realizaron EV prolongadas, con efectos directos sobre la respuesta inflamatoria y otras variables que impactan de manera directa sobre la lesión cardíaca isquémica crónica.

Un hallazgo interesante en nuestro estudio es que observamos una mejoría en la función ventricular en el grupo que recibió EV antes de la isquemia luego de cuatro semanas de evolución, pero esta mejoría no fue acompañada de una reducción del peso del VI, lo cual sugiere una disociación entre aspectos morfológicos y funcionales del remodelado ventricular crónico. Agarwal y colaboradores (15) describieron un fenómeno inverso en este sentido. En ratas con isquemia miocárdica sin reperfusión obtuvieron una reducción del remodelado ventricular que no se vio acompañada de una mejor respuesta funcional de esos corazones. Sin embargo, en dicho trabajo, los autores estimularon en forma prolongada durante seis semanas. Esto sugiere, una vez más, posibles efectos diferenciales en la respuesta a largo plazo de EV cortas y largas.

Si bien nuestros resultados aún son preliminares, nos dan fundamentos para continuar profundizando en el estudio del remodelado ventricular con técnicas histológicas y avanzar en el análisis de los mecanismos implicados en la protección miocárdica.

CONCLUSIÓN

El presente estudio demostró por primera vez que en un modelo de ratón de 45 minutos de isquemia miocárdica seguidos de reperfusión, la EV preischemia breve reduce el tamaño del infarto y mejora la evolución posterior del corazón isquémico, evidenciado por una mejor recuperación de la función ventricular izquierda.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

(Véanse formularios de conflicto de intereses de los autores en la web/Material suplementario).

BIBLIOGRAFÍA

1. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, et al. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 2017;135:e146-e603. <http://doi.org/cck5>
2. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1498-504. <http://doi.org/c8mtmh>
3. Braunwald E, Maroko PR. The reduction of infarct size--an idea whose time (for testing) has come. *Circulation* 1974;50:206-9. <http://doi.org/cwz8>
4. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-36. <http://doi.org/b5xzrf>
5. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional

- ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993;87:893-9. <http://doi.org/cwz9>
6. Arimura T, Saku K, Kakino T, Nishikawa T, Tohyama T, Sakamoto T, et al. Intravenous electrical vagal nerve stimulation prior to coronary reperfusion in a canine ischemia-reperfusion model markedly reduces infarct size and prevents subsequent heart failure. *Int J Cardiol* 2017;227:704-10. <http://doi.org/f9hbkr>
7. Calvillo L, Vanoli E, Andreoli E, Besana A, Omodeo E, Gneccchi M, et al. Vagal stimulation, through its nicotinic action, limits infarct size and the inflammatory response to myocardial ischemia and reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011;58:500-7. <http://doi.org/brgppsp>
8. Uemura K, Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. Early short-term vagal nerve stimulation attenuates cardiac remodeling after reperfused myocardial infarction. *J Card Fail* 2010;16:689-99. <http://doi.org/cqtxkt>
9. De Ferrari GM, Schwartz PJ. Vagus nerve stimulation: from pre-clinical to clinical application: challenges and future directions. *Heart Fail Rev* 2011;16:195-203. <http://doi.org/ft6xt>
10. Buchholz B, Kelly J, Muñoz M, Bernatené EA, Méndez Diodati N, González Maglio DH, et al. Vagal stimulation mimics preconditioning and postconditioning of ischemic myocardium in mice by activating different protection mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2018;314:H1289-97. <http://doi.org/gd357f>
11. Gelpi RJ, Gao S, Zhai P, Yan L, Hong C, Danridge LM, et al. Genetic inhibition of calcineurin induces diastolic dysfunction in mice with chronic pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:H1814-9. <http://doi.org/cnzstq>
12. Buchholz B, Donato M, Perez V, Deutsch ACR, Höcht C, Del Mauro JS, et al. Changes in the loading conditions induced by vagal stimulation modify the myocardial infarct size through sympathetic-parasympathetic interactions. *Pflugers Arch* 2015;467:1509-22. <http://doi.org/bzg6>
13. Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev*. 2003;83:1113-51. <http://doi.org/bcxz>
14. Li M, Zheng C, Sato T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. *Circulation*. 2004;109:120-4. <http://doi.org/crjzpn>
15. Agarwal R, Mokolke E, Ruble SB, Stolen CM. Vagal Nerve Stimulation Evoked Heart Rate Changes and Protection from Cardiac Remodeling. *J Cardiovasc Transl Res*. 2016;9:67-76. <http://doi.org/cw2b>