Investigación traslacional cardiovascular

Investigación traslacional en isquemia, infarto de miocardio y reperfusión

Carlos Cuellas-Ramón*, Armando Pérez de Prado, Claudia Pérez-Martínez, Alejandro Diego-Nieto, José Manuel Gonzalo-Orden y Felipe Fernández-Vázquez

HemoLeon, Grupo Cardiovascular de la Fundación Investigación Sanitaria en León, IBIOMED, Instituto de Biomedicina, Universidad de León, León, España

Palabras clave:

Isquemia
Infarto
Reperfusión
Condicionamiento
Modelo animal

RESUMEN

Desde los modelos de corazón aislado *ex vivo* hasta los de oclusión de arterias coronarias por técnicas quirúrgicas o endovasculares en animales, la investigación preclínica se ha desarrollado en los distintos aspectos de la isquemia, la necrosis y la reperfusión del miocardio. En el campo de la isquemia cardiaca, estos ensayos han permitido desarrollar múltiples vías de tratamiento eficaces en su posterior uso clínico. Las estrategias de recanalización de la arteria ocluida que causa el infarto, aplicadas cuanto antes mejor («tiempo es músculo»), son las principales armas para reducir el tamaño de la necrosis, con un impacto positivo en el pronóstico posterior. Sin embargo, la propia reperfusión causa un daño que agrava las consecuencias del infarto. Muchas terapias contra el daño por reperfusión se han ensayado con éxito en modelos animales (distintos tratamientos farmacológicos o formas de condicionamiento cardiaco), pero no se han demostrado eficaces en su posterior aplicación clínica. La explosión de la medicina regenerativa ha sido particularmente importante en el terreno cardiovascular, y su desarrollo exige el mejor banco de pruebas preclínico posible. El continuo perfeccionamiento de estos modelos animales persigue encontrar el modelo perfecto, aquel que reproduzca cada una de las características que observamos en la biología y la patología humanas.

Translational Research in Myocardial Ischemia, Infarction and Reperfusion

ABSTRACT

Preclinical research into all aspects of myocardial ischemia, infarction and reperfusion has made use of a range of models, from *ex vivo* models of the isolated beating heart to animal models of coronary artery occlusion produced using surgical or endovascular techniques. In the area of cardiac ischemia, such research has led to the development of several forms of treatment that were subsequently found to be effective in patients. The principle tools for reducing the extent of myocardial necrosis, and thereby improving prognosis, comprise different techniques for recanalization of the occluded artery responsible for an infarction, all of which must be implemented as soon as possible ("time is muscle"). However, reperfusion can itself result in injury that exacerbates the effects of an infarction. A number of ways of limiting reperfusion injury have been tested successfully in animal models (e.g. various pharmacological treatments and different forms of myocardial conditioning) but none has proven effective when applied clinically. The recent explosion of interest in regenerative medicine has been particularly important in the area of cardiovascular disease, and future development will require the best possible set of preclinical tests. Animal models continue to be refined, with the ultimate goal being the perfect model that replicates all aspects of human biology and pathology.

Keywords:

Ischemia
Infarction
Reperfusion
Conditioning
Animal model

INTRODUCCIÓN

Uno de los grandes campos de investigación cardiovascular ha sido clásicamente el de la cardiopatía isquémica, principal causa de muerte en Europa¹. El crecimiento exponencial de la investigación regenerativa cardiovascular ha motivado una apresurada transposición de los hallazgos obtenidos en la investigación básica al campo clínico. Por motivos económicos y por la amplia disponibilidad de

cepas de animales que presentan deficiencias naturales o provocadas, gran parte de estas observaciones se han realizado en pequeños mamíferos, ratas y ratones. Que los resultados obtenidos en estos animales sean extrapolables a los humanos es discutible en muchos sentidos. Aunque en el aspecto de biología celular básica estos modelos son válidos, la simple discrepancia de tamaño de la masa miocárdica (< 100 mg en el ratón frente a 500 g en el ser humano) ya representa una discrepancia de varios órdenes de magnitud. Esta es una de las razones para buscar mejores modelos en este campo. En concreto, y por las similitudes anatómicas, fisiológicas y patológicas, el cerdo es el mejor modelo animal para el estudio de la cardiopatía isquémica y sus potenciales tratamientos². Persisten otras importantes diferencias a este respecto, pues en la mayoría de los modelos experimentales se

*Autor para correspondencia: Sección de Cardiología Intervencionista, Hospital de León, Altos de Nava s/n, 24008 León, España.

Correo electrónico: ccuellas@secardiologia.es (C. Cuellas-Ramón).

Abreviaturas

FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo
 PerC: percondicionamiento isquémico
 PostC: poscondicionamiento isquémico
 PreC: preconditionamiento isquémico

emplean animales jóvenes y sanos, con una capacidad de regeneración y cicatrización notablemente superior a la del humano viejo y enfermo³.

MODELOS DE ISQUEMIA, INFARTO Y REPERFUSIÓN

Corazones aislados, Langendorff y Neely

Desde finales del siglo XIX, disponemos de modelos *ex vivo* en los que poder analizar la fisiología cardíaca y los cambios patológicos que se desencadenan tras la inducción de isquemia general o regional causando isquemia reversible o infarto de miocardio con o sin posterior perfusión. Cyon describió inicialmente el modelo en corazón de rana en 1866⁴, que perfeccionó Langendorff en 1895⁵. En este modelo es sencillo provocar el infarto de miocardio ligando (permanente o temporalmente) la arteria coronaria descendente anterior⁶ o mediante perfusión selectiva de solo una de las arterias coronarias⁷. La principal limitación del citado modelo es su incapacidad de cuantificar el trabajo (gasto cardíaco) del ventrículo izquierdo. Para solventar este déficit, Neely et al⁸ desarrollaron el modelo de corazón aislado funcionando con la ayuda de una bomba peristáltica. Está más allá de los objetivos de este trabajo entrar en el análisis detallado de estos modelos *ex vivo*, aunque es preciso reseñar su existencia para poner en perspectiva los modelos más avanzados.

Modelos *in vivo*: oclusión de arteria coronaria

Técnica abierta (quirúrgica)

La mayoría de los modelos descritos con abordaje quirúrgico utilizan técnicas de ligadura quirúrgica (permanente o temporal) para la producción del infarto de miocardio por toracotomía abierta, desde las primeras experiencias en perros⁹, su reproducción en pequeños animales¹⁰ y su posterior generalización¹¹⁻¹³. La validez del modelo de infarto y perfusión también se ha demostrado en primates¹⁴ aplicando un torniquete a la arteria descendente anterior y calculando el tamaño del infarto en función de los tiempos de oclusión (1, 2, 4, 6 h o permanente).

El abordaje quirúrgico conlleva una serie de limitaciones, como el peor control de la temperatura del corazón (que puede influir de manera importante en los resultados¹⁵), la mayor incidencia de infecciones y complicaciones en el cierre de la herida quirúrgica, lo que afecta en mucho a la tasa de supervivencia de los animales¹⁶.

Modelos de tórax cerrado

Las técnicas mínimamente invasivas, en especial las endovasculares, permiten reproducir por distintos medios los fenómenos que acaecen en el infarto agudo de miocardio y, eventualmente, en la posterior perfusión¹⁷. En los casos en que el interés se centra en la producción del infarto sin posterior perfusión, algunos autores han inducido trombosis coronarias aplicando corriente eléctrica continua en modelos de infarto a tórax cerrado (colocando el electrodo positivo en el interior de la coronaria y el negativo en el exterior) en perros^{18,19} y cerdos²⁰. Otros han inducido la trombosis coronaria mediante alambres guía de cobre en las arterias coronarias descendente anterior o

circunfleja en modelos a tórax cerrado en perros²¹. Las técnicas de embolización también se han empleado para ocluir las arterias coronarias mediante inyección lenta de microesferas^{22,23} o trombina en perros^{24,25}. En este último caso se realizó una inyección de trombina a través de uno de los puertos de un catéter balón y, por otro, sangre autóloga del animal y fibrinógeno para inducir la trombosis. No obstante, no es simple llevar a cabo estos modelos, y sus resultados son poco reproducibles.

La mayoría de los modelos se basan en el empleo de balones de angioplastia coronaria que permiten ocluir la arteria coronaria temporalmente y después permiten la reperfusión^{2,16,26-29}.

VARIABLES EN LOS DISTINTOS MODELOS

Limitaciones y ventajas de las distintas especies

Existen diferencias importantes entre las distintas especies en cuanto a anatomía y fisiología cardíacas. Los perros y los conejillos de indias presentan una circulación colateral natural muy desarrollada en comparación con otros animales, como ratas, cerdos o primates³⁰. Esta es una importante limitación, pues la abundancia de colaterales es tal en el conejillo de indias que no se puede inducir necrosis, ni siquiera realizar ensayos de isquemia y perfusión³⁰. Las variaciones entre las especies también repercuten en la supervivencia y las potenciales complicaciones. Así, las ratas pueden tolerar tamaños de infarto mucho mayores (hasta un 50% mayores) que los perros, que presentan arritmias letales hasta en un 30% de los casos³¹. Además de este hecho, los modelos caninos de oclusión arterial se ven condicionados por tasas generales de mortalidad > 50% y gran variabilidad en los tamaños de infarto observados¹⁰. Otra diferencia reseñable entre la anatomía coronaria humana y la canina es la relación entre los pesos del corazón y el cuerpo: en los humanos la relación es de 5 g/kg, mientras en los perros es más del doble. En los cerdos comúnmente usados en estos modelos (25-30 kg) la relación es similar a la humana, mientras que los animales de más de 100 kg muestran relaciones inferiores a la mitad. Por las similitudes anatómicas y funcionales, parece que el cerdo es el mejor modelo animal en este campo.

Tamaño del infarto y reproducibilidad

En todos los modelos descritos, se persigue cumplir una de las premisas de la investigación en general y su vertiente experimental en particular: la reproducibilidad. En el caso que nos atañe y con las miras en terapias regenerativas o profilácticas, conseguir un tamaño del infarto reproducible, o al menos una similar relación necrosis/área en riesgo, es fundamental. La selección de la arteria y el nivel en el que provocar la oclusión influyen de manera esencial en este objetivo³². La arteria descendente anterior es la más usada en los modelos de infarto por su accesibilidad, la escala de niveles donde realizar la oclusión y otros factores como la disponibilidad de retorno venoso selectivo, que permite realizar estudios metabólicos más precisos³³. Sea esta u otra la arteria usada, se debe tener en cuenta que, para las mismas áreas en riesgo, el aumento compensatorio de la función de áreas no isquémicas adyacentes es distinto en los territorios de la descendente anterior y de la circunfleja, lo que limita su comparabilidad³⁴. También influye la duración de la isquemia, si bien se ha demostrado en cerdos que tiempos de oclusión > 60 min condicionan tamaños de infarto y grado de transmuralidad de este similares a los de una oclusión permanente³⁵. Este hallazgo permite inducir necrosis y después recuperar la permeabilidad de la arteria epicárdica manteniendo el paralelismo con la situación clínica más estudiada: el infarto de miocardio reperfundido.

El método clásico de determinación del tamaño del infarto es el estudio histopatológico de la pieza necrótica seccionando el ventrículo izquierdo en cortes desde el plano más basal al más apical. Se mide el área infartada y se ajusta su tamaño en cada sección en fun-

ción del peso de esta. Habitualmente se incuban las piezas con sales de trifeniltetrazolio (que marca el tejido viable), aunque esta tinción no es imprescindible³⁶. La determinación del área en riesgo se puede estimar mediante la inyección intracoronaria de azul de Evans en las zonas «no causales». Esta valoración patológica hoy se ve superada por las mediciones derivadas de la resonancia magnética, que permiten cuantificaciones exactas del tamaño del infarto y, lo que es más importante, su evolución en el tiempo^{16,37}.

Tasa de supervivencia: factores críticos

Una de las metas de estos protocolos es mantener vivos a tantos sujetos como sea posible. La producción de un infarto, naturalmente, afecta a la supervivencia del individuo, como también ocurre en los humanos. Las series más actuales consiguen tasas de supervivencia a largo plazo superiores a 2/3 infartos provocados^{2,16,29}. Los factores que pueden influir de manera relevante en la tasa de supervivencia son varios:

- Los modelos mínimamente invasivos a tórax cerrado ofrecen evidentes ventajas en cuanto a reducción de complicaciones perioperatorias e infecciosas, lo que permite controlar mejor distintas variables que podrían afectar tanto a los resultados observados como a la supervivencia total^{16,26,28,29}.

- El sexo del animal también se ha relacionado con la tasa de supervivencia, pues se han referido peores supervivencias de los machos². Una potencial explicación de este hallazgo es el mayor grosor del miocardio de los cerdos machos³⁸, mientras las hembras presentan mayor contenido en tejido conectivo cardíaco³⁹. La consecuencia de esta diferencia podría ser una mayor susceptibilidad de los machos a cuadros de insuficiencia cardíaca con peor manejo de la sobrecarga de volumen.

- Las arritmias han sido clásicamente el factor más relacionado con la mortalidad en los modelos animales de infarto. La incidencia de fibrilación ventricular en modelos porcinos es verdaderamente alta²⁷⁻²⁹. Varios autores recomiendan el uso de agentes antiarrítmicos como la lidocaína¹⁶ o la amiodarona⁴⁰. En nuestra experiencia^{2,41}, y pese a usar ambos fármacos, la incidencia de fibrilación ventricular es muy elevada (hasta el 81%). Sin embargo, la práctica totalidad de estas arritmias respondió de forma efectiva a la cardioversión eléctrica externa, un fenómeno que no se describe en todos los casos. Es plausible que el empleo de amiodarona profiláctica haya contribuido a este evento favorable al bajar el umbral de desfibrilación^{42,43}. Otros factores con demostrada reducción de la incidencia de arritmias son el uso de dosis repetidas de analgésicos y el empleo de balones de oclusión de menor tamaño. Kromback et al²⁹ han demostrado que una menor distensión de la arteria se asocia con menores incidencias de fibrilación ventricular. También se ha demostrado que el empleo de sevoflurano en lugar de isoflurano reduce el número de eventos arrítmicos y da mayor estabilidad hemodinámica^{41,44}.

- Es bien conocido en animales el efecto protector del preconditionamiento isquémico (PreC)^{33,45}. Mediante mecanismos cardioprotectores relacionados con el preconditionamiento, distintos fármacos usados en los protocolos animales, como isoflurano⁴⁶, sevoflurano⁴⁴ o amiodarona⁴⁷, han mostrado reducciones en el tamaño de infarto final. Se ha de tener en cuenta su uso en los animales a la hora de valorar posibles diferencias metodológicas y su influencia en el resultado final.

LIMITACIÓN DEL DAÑO POR REPERFUSIÓN MEDIANTE CONDICIONAMIENTO CARDÍACO

En los años sesenta del pasado siglo se introdujo, en estudios experimentales, el concepto de daño por reperfusión⁴⁸. La reperfusión inicia una cascada de eventos, durante los primeros minutos de la revascularización del flujo coronario, que causan daño miocárdico en un lapso

muy corto⁴⁹. Esto tiene dos implicaciones inmediatas: por un lado, se abre un nuevo campo, el de la cardioprotección, de nuevas terapias dirigidas a reducir el tamaño del infarto y, por otro, que dichos tratamientos disponen de una ventana efectiva muy breve para su aplicación. Desde entonces, en diversos estudios experimentales, diferentes tratamientos farmacológicos se han demostrado capaces de reducir el tamaño del infarto cuando se aplican al inicio de la reperfusión. Sin embargo, no se ha conseguido demostrar beneficio en su aplicación en humanos.

Se puede limitar el tamaño del infarto utilizando intervenciones mecánicas (condicionamiento) que activan mecanismos endógenos que conllevan una mejor protección miocárdica contra el daño causado por un evento isquémico prolongado y la reperfusión posterior. A mediados de la década de los ochenta, se describió la eficacia de utilizar una estrategia conocida como PreC, consistente en la aplicación de ciclos breves de isquemia-reperfusión previos al evento. En el año 2003 se publicaron los resultados de un estudio experimental en el que la aplicación de ciclos de isquemia-reperfusión al inicio de la reperfusión (poscondicionamiento isquémico [PostC]) mostró resultados positivos en términos de reducción del tamaño del infarto. La aplicación de estos protocolos durante el propio evento isquémico se denomina percondicionamiento isquémico (PerC). Se analizan a continuación los resultados de los estudios experimentales y clínicos publicados desde entonces.

PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO

Descrito inicialmente por Murry et al⁵⁰, el PreC es uno de los más potentes estímulos de mecanismos endógenos para reducir el daño producido por la isquemia-reperfusión. En ese estudio, realizado en perros, se ocluía la arteria circunfleja proximal durante 40 min. En el grupo de PreC se realizaron cuatro ciclos de 5 min de oclusión coronaria seguidos de 5 min de reperfusión, con lo que se demostró una reducción del tamaño del infarto del 25%. Desde entonces se han publicado más de 3.000 artículos que analizan los mecanismos moleculares implicados⁵¹ y confirman el beneficio clínico del PreC, con diferentes protocolos y en diferentes especies. Se han descrito dos ventanas de tiempo en las que el PreC resulta eficaz⁵². Una inmediatamente previa (1-2 h) al evento isquémico prolongado, conocida como preconditionamiento temprano, y otra que va desde las 48-72 h a las 24 h previas a la isquemia, denominada preconditionamiento tardío.

Precondicionamiento isquémico remoto

Un descubrimiento posterior es la capacidad de reproducir el efecto cardioprotector del PreC al realizar el protocolo de isquemia-reperfusión en un órgano a distancia, denominado preconditionamiento isquémico remoto. Przyklenk et al⁵³ demostraron, en un modelo animal canino, que aplicando ciclos de oclusión-reperfusión en la arteria coronaria circunfleja antes de la oclusión prolongada de la arteria coronaria descendente anterior disminuía significativamente el tamaño del infarto. Después se ha demostrado la eficacia de estos protocolos de isquemia intermitente en diferentes órganos a distancia, como el riñón⁵⁴, el músculo esquelético⁵⁵ y el intestino⁵⁶.

Aplicación clínica del preconditionamiento isquémico

A diferencia de otras terapias, se ha demostrado el efecto beneficioso el PreC en la protección miocárdica tanto en modelos animales como en el miocardio humano. El hecho de que la intervención se debe aplicar antes del evento isquémico lo hace impracticable como posible tratamiento en los síndromes coronarios agudos. Su aplicación clínica se ha centrado en reducir el daño miocárdico causado durante la cirugía cardíaca o vascular. En un metanálisis⁵⁷ se analizaron 22 estudios en los que se utilizó PreC en humanos. Aunque los protocolos utilizados eran diferentes y había gran heterogeneidad en

los objetivos primarios, los autores concluyeron que el PreC redujo la aparición de arritmias, la necesidad de soporte inotrópico y la estancia en las unidades de cuidados intensivos.

PERCONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO REMOTO

En el intento de reducir el daño por reperfusión en pacientes con infarto de miocardio, un enfoque muy atractivo es aplicar el PerC remoto, ciclos intermitentes de isquemia-reperfusión en un órgano a distancia durante el infarto. En un estudio inicial en humanos⁵⁸, se incluyó a 142 pacientes con infarto agudo de miocardio tratados con angioplastia primaria, asignados aleatoriamente a un protocolo de PerC remoto (cuatro ciclos intermitentes de 5 min de inflado y desinflado con un manguito de presión en un brazo) o nada durante su traslado al hospital. Se analizó el índice de miocardio salvado con gammagrafía cardiaca al mes, y se observó una reducción significativa en el grupo de PerC remoto. Se necesitan estudios de tamaño suficiente para confirmar estos hallazgos a medio y largo plazo, y su repercusión en los eventos clínicos durante el seguimiento.

POSCONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO

El PostC consiste en la aplicación de ciclos de isquemia-reperfusión al inicio del periodo de reperfusión.

Poscondicionamiento isquémico en estudios experimentales

El primer estudio en experimentación animal que analizó el PostC es el publicado por Zhao et al⁵⁹, que compararon el PostC con el estándar de las estrategias de la cardioprotección, el PreC. Utilizaron un modelo canino de 1 h de oclusión de la arteria coronaria descendente anterior y 3 h de reperfusión. Se asignó un grupo a reperfusión inmediata tras la oclusión coronaria, otro a un protocolo de PostC de 30 s de reperfusión seguidos de 30 s de reclusión repetidos en tres ciclos. Un tercer grupo se sometió a un protocolo de PreC con un único periodo de oclusión de la arteria de 5 min seguido de 10 min de reperfusión antes de iniciarse los 60 min de isquemia. Como era esperable, el PreC produjo una reducción del tamaño del infarto del 40% respecto a los controles. Pero además los animales sometidos al protocolo de PostC presentaron una reducción del tamaño del infarto del 44%. Esta capacidad para reducir el tamaño del infarto con diferentes protocolos de PostC se ha confirmado en diferentes laboratorios y con diferentes especies animales: ratones, ratas, conejos, perros, cerdos y monos⁶⁰. Se han descrito algunas vías moleculares implicadas en el PostC. En ellas se han identificado diferentes componentes que actúan como activadores, mediadores o efectores finales^{61,62}. En la eficacia del PostC influyen de manera importante dos factores:

- Características temporales del PostC: los primeros momentos de la reperfusión son fundamentales para las estrategias de cardioprotección. Kin et al⁶³ demostraron en un modelo en vivo en ratas que, si el protocolo de PostC se aplica pasado 1 min de iniciada la reperfusión, no es efectivo respecto a los controles.

- El algoritmo del PostC: dos aspectos temporales son importantes en el diseño de los protocolos de PostC: a) el número de ciclos aplicados, y b) la duración de los periodos de isquemia-reperfusión. Kin et al⁶⁴ publicaron que tanto tres como seis ciclos fueron eficaces en un modelo de infarto a tórax abierto en ratas. Yang et al⁶⁵ hallaron que protocolos tanto de cuatro como de seis ciclos fueron eficaces en conejos; con tres ciclos fue suficiente en un modelo canino⁵⁹ y ocho ciclos en un modelo porcino⁶⁶. Sin embargo, la duración de cada ciclo puede tener más importancia en la cardioprotección que el número de ciclos. Un protocolo de 30 s (30 s de reperfusión y 30 s de reclusión) fue eficaz en un modelo canino⁵⁹ y en conejos⁶⁵. Sin embargo, en los segundos un modelo de 60 s no resultó eficaz frente a los controles. Modelos de 10 s han resultado eficaces en ratas⁶⁷. Esto podría indi-

car que especies de menor tamaño (con un metabolismo miocárdico menor) requerirían ciclos de menor duración. En modelos porcinos, no se demostró eficacia de un protocolo de 30 s⁶⁸, aunque aumentando el número de ciclos se consiguió una reducción del tamaño del infarto significativa⁶⁶. La razón para estas diferencias en la duración del ciclo eficaz entre las diferentes especies es compleja y se ha señalado que puede estar relacionada con el diferente curso temporal de iniciadores y mediadores en el proceso de reperfusión, diferencias en la circulación colateral al área infartada y diferencias en el metabolismo cardiaco (determinado por la frecuencia cardiaca, la precarga y la poscarga y el estrés mecánico de la pared ventricular).

Poscondicionamiento isquémico remoto

Al igual que con el PreC, en estudios experimentales se demuestra la capacidad de reducir el tamaño del infarto mediante la aplicación de un protocolo de PostC en un órgano a distancia. Kerendi et al⁶⁹ demostraron reducción del tamaño del infarto significativa (24%) en un modelo de infarto agudo de miocardio en ratas, mediante un protocolo de oclusión de la arteria renal durante 5 min y 1 min de reapertura antes de la reperfusión. Recientemente, Andreka et al⁷⁰ han realizado un estudio de PostC remoto en un modelo porcino. Los animales del grupo de PostC remoto fueron sometidos a inflados con un manguito de presión (superando la presión sistólica del animal) de 5 min de inflado-desinflado (cuatro ciclos) en una extremidad del animal. Los resultados mostraron una reducción significativa del tamaño del infarto (48%).

Poscondicionamiento en modelos experimentales con comorbilidades

La mayoría de los estudios sobre los efectos del PostC se han realizado en modelos animales jóvenes y sanos, mientras que los pacientes que sufren infartos son de edad más avanzada y con comorbilidades, lo que hace difícil trasladar los resultados de los estudios experimentales a la clínica habitual. Distintos modelos de «animal enfermo» pretenden salvar estas distancias actuando en los factores de riesgo:

- Edad: los resultados del efecto cardioprotector del PostC en animales de edad avanzada son controvertidos. Yin et al⁷¹ encontraron, en modelos en ratas, que ese efecto se mantenía, mientras otros grupos⁷² no encontraron diferencias. Otros grupos indican que el efecto se mantiene, pero que el umbral es más alto⁷³. Actualmente, no está definido el efecto de la edad en la respuesta al PostC.

- Hipercolesterolemia: los resultados de los estudios también han resultado discordantes. Mientras en un estudio⁷⁴ realizado en un modelo de conejos hipercolesterolémicos se mantenía el efecto beneficioso del PostC, en otro⁷⁵ no se apreciaron diferencias. La razón de estas discordancias podría estar en que en este se utilizaron animales con mayores grados de hipercolesterolemia y enfermedad arteriosclerótica. Zhao et al⁷⁶, en un modelo en *mini-pigs* hipercolesterolémicos, no encontraron efectos beneficiosos aplicando un protocolo de PostC.

- Diabetes mellitus y obesidad: los resultados de los estudios experimentales no han mostrado beneficio de aplicar protocolos de PostC en esta situación. Los estudios realizados en ratas y ratones en los que se indujo diabetes u obesidad^{77,78} no obtuvieron beneficios con la aplicación del PostC.

Poscondicionamiento isquémico en humanos

Poscondicionamiento en angioplastia primaria

Con el fundamento de los datos obtenidos en los estudios experimentales, a mediados de la pasada década se comenzó a realizar estu-

Tabla

Estudios clínicos con poscondicionamiento (PostC) en humanos en infarto agudo de miocardio

Autor	Tiempo de isquemia	Pacientes, N/n (PostC)	Protocolo PostC isquemia/reperusión	Resultados
Laskey et al ⁷⁹ (2005)	< 12 h	17/10	2 ciclos 90 s/3-5 min	↑ reserva flujo coronario; ↑ resolución ST
Staat et al ⁸⁰ (2005)	< 6 h	30/14	4 ciclos 60 s/60 s	↓ CK-MB 72 h; ↑ grado <i>blush</i>
Ma et al ⁸¹ (2006)	< 12 h	94/47	3 ciclos 30 s/30 s	↓ CK-MB 72 h pico; ↑ <i>wall motion score index</i> (8 semanas); ↑ respuesta vasodilatadora braquial
Darling et al ⁸² (2007)	< 12 h	115/56	1-3 inflados o > 4 inflados en ICP	↓ CK pico
Yang et al ⁸³ (2007)	< 12 h	41/23	3 ciclos 30 s/30 s	↓ CK 72 h área bajo la curva; ↓ tamaño infarto (SPECT 1 semana)
Thibault et al ⁸⁴ (2008)	< 6 h	38/17	4 ciclos 60 s/60 s	↓ CK, troponina I 72 h; ↓ tamaño infarto (SPECT 6 meses); ↑ FEVI eco 1 año
Laskey et al ⁸⁵ (2008)	< 12 h	24/12	2 ciclos 90 s/90 s	↑ reserva flujo coronario; ↑ resolución ST; ↓ CK pico
Lonborg et al ⁸⁶ (2010)	< 12 h	118/59	4 ciclos 30 s/30 s	↑ miocardio salvado respecto a área en riesgo, 3 meses (RM), ↓ insuficiencia cardíaca 3 meses, ↑ resolución ST
Xue et al ⁸⁷ (2010)	< 12 h	43/20	4 ciclos 60 s/60 s	↓ CK 72 h ABC; ↓ tamaño infarto (SPECT y eco 1 semana)
Sorensson et al ⁸⁸ (2010)	< 6 h	78/36	4 ciclos 60 s/60 s	Sin diferencias en miocardio salvado respecto a área en riesgo ni en CK-MB y troponina T 48 h; ↓ tamaño infarto áreas grandes en riesgo
García et al ⁸⁹ (2011)	< 12 h	43/21	4 ciclos 30 s/30 s	↓ CK-MB pico; ↑ grado <i>blush</i> ; ↑ FEVI eco ingreso; sin diferencias en eventos clínicos
Freixa et al ⁹⁰ (2012)	< 12 h	79/40	4 ciclos 60 s/60 s	Sin diferencias en CK-MB y troponina I pico, FEVI o tamaño del infarto por eco o RM al ingreso ni a los 6 meses

CK-MB: banda miocárdica de la creatinina; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; RM: resonancia magnética; SPECT: tomografía computarizada por emisión monofotónica.

dios clínicos en pacientes con infarto agudo de miocardio tratados mediante angioplastia primaria. Al inicio de la reperusión, se aplicaban distintos protocolos de PostC⁷⁹⁻⁹⁰ (tabla). Con un grupo pequeño de pacientes, Laskey et al⁷⁹ demostraron inicialmente que la aplicación de un protocolo de PostC mejoraba la perfusión miocárdica aumentando la reserva de flujo coronario y la resolución del segmento ST. Staat et al⁸⁰ fueron los primeros en correlacionar el PostC con la reducción del tamaño del infarto determinado mediante la elevación enzimática (área bajo la curva en las primeras 72 h). Este mismo grupo publicó 3 años más tarde⁸⁴ una evaluación del efecto del PostC sobre el tamaño del infarto mediante gammagrafía cardíaca. Aparte de corroborar una menor elevación enzimática durante la fase aguda, el grupo de PostC presentaba una reducción significativa del tamaño del infarto a los 6 meses y mejor fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) ecocardiográfica al año. En 2010, Lonborg et al⁸⁶ mostraron que el grupo sometido a PostC presentaba una reducción relativa del tamaño del infarto del 19%, con un incremento significativo del 31% en el miocardio salvado respecto al área en riesgo, frente al grupo control (determinado con resonancia a los 3 meses). Este grupo tuvo menor incidencia de insuficiencia cardíaca a los 3 meses (el 27 frente al 46%; $p < 0,05$). A los 15 meses el porcentaje de pacientes en clase funcional II-IV de la *New York Heart Association* (NYHA) para disnea era menor (diferencia no significativa), sin diferencias en otros eventos cardiovasculares mayores.

En un pequeño número de pacientes sometidos a un protocolo de PostC, García et al⁸⁹ realizaron un seguimiento clínico a largo plazo (media, 3,4 años), sin hallar diferencias en cuanto a mortalidad o insuficiencia cardíaca. Si todos estos estudios concordaban en el beneficio del PostC aplicado en angioplastia primaria, al menos en lo que a perfusión miocárdica y reducción del tamaño del infarto se refiere, Sorensson et al⁸⁸ no encontraron reducción del tamaño del infarto o del miocardio salvado respecto al área en riesgo a los 6-9 días del infarto ni en la curva de marcadores de necrosis en el grupo de PostC. El tamaño del infarto se redujo en los pacientes con grandes áreas de infarto. En un reciente estudio⁹⁰ con el mismo protocolo de PostC, no se encontraron diferencias en elevación de marcadores de necrosis, FEVI o tamaño del infarto mediante ecocardiograma o resonancia durante el ingreso ni a los 6 meses. Los resultados de estos dos

últimos ensayos clínicos publicados no avalan el potencial beneficio del PostC en angioplastia primaria, ya que no se observa beneficio en la reducción del tamaño del infarto. Por otro lado, la aplicación de los protocolos de PostC ha resultado segura y no se han comunicado complicaciones graves.

Hay muchas cuestiones por resolver. La ventana de aplicación efectiva de estos protocolos es muy breve, lo que dificulta su utilización en la clínica. Los protocolos de PostC utilizados varían de unos grupos a otros y no se ha determinado qué protocolo puede ser el más eficaz, aunque el más utilizado —cuatro ciclos de 60 s de isquemia/60 s de reperusión— ha mostrado resultados muy dispares^{84,90}. También han variado los criterios de inclusión y exclusión de unos estudios a otros, el tiempo desde el inicio de los síntomas (resultados positivos con tiempos < 6 h⁸⁴ se contradicen con resultados negativos con tiempos de hasta < 12 h⁹⁰), la arteria origen del infarto, la presencia de circulación colateral y la angina previa al infarto. También pueden influir aspectos técnicos (uso de *stent* directo seguido de PostC frente a predilatación seguida de PostC antes del implante de *stent*) y los regímenes de antiagregación-anticoagulación, que pueden influir en el daño microvascular y el tamaño final del infarto. Estos protocolos se han utilizado en pacientes seleccionados con unas características concretas de presentación del infarto y enfermedad coronaria (pacientes sin antecedente de infarto o cirugía, flujo TIMI 0 en la arteria origen del infarto, ausencia de enfermedad distal en la misma arteria coronaria, ausencia de circulación colateral, etc.) que no engloban a todos los pacientes con un infarto agudo de miocardio. Ninguno de los estudios se ha dimensionado para analizar el impacto en los eventos cardiovasculares mayores como muerte, reinfarcto, accidente cerebrovascular e incidencia de insuficiencia cardíaca. Es necesario diseñar estudios aleatorizados lo suficientemente grandes para evaluar todas estas variables.

También es necesario explorar las posibilidades de agentes farmacológicos que puedan emular los efectos del PostC. En este sentido, se han publicado resultados muy prometedores en un ensayo con ciclosporina A (un inhibidor de la apertura del mPTP, un efector final en la cascada molecular iniciada por el PostC)⁹¹. Se incluyó a 58 pacientes aleatorizados a ciclosporina o suero salino al inicio de la angioplastia primaria. Los pacientes tratados presentaban una reducción significa-

tiva de la elevación enzimática y del tamaño del infarto al quinto día del infarto. Los resultados del seguimiento con resonancia de 28 pacientes a los 6 meses mostraron reducción persistente del tamaño del infarto⁹².

Poscondicionamiento en cirugía cardíaca

El PostC se puede aplicar en los procedimientos quirúrgicos de dos formas: *a*) ciclos breves de apertura y cierre del pinzamiento, y *b*) aplicación del circuito de cardioplejía de forma cíclica (pulsos de 30-60 s). La primera técnica se ha utilizado en pacientes pediátricos con tetralogía de Fallot⁹³ en dos ciclos de pinzamiento y apertura de 30 s antes de la reperfusión completa, y se ha demostrado una reducción de la elevación de biomarcadores a las 4 h. Similares protocolos se utilizaron en pacientes adultos sometidos a sustitución valvular quirúrgica⁹⁴, lo que resultó en una reducción en la elevación de biomarcadores a las 4-8 h tras la intervención.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

- Rayner M, Allender S, Scarborough P. Cardiovascular disease in Europe. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2009;16 Suppl 2:S43-7.
- Perez de Prado A, Cuellas-Ramón C, Regueiro-Purrinos M, Gonzalo-Orden JM, Perez-Martinez C, Altonaga JR, et al. Closed-chest experimental porcine model of acute myocardial infarction-reperfusion. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2009;60:301-6.
- Yao F, Visovatti S, Johnson CS, Chen M, Slama J, Wenger A, et al. Age and growth factors in porcine full-thickness wound healing. *Wound Repair Regen*. 2001;9:371-7.
- Zimmer HG. The isolated perfused heart and its pioneers. *News Physiol Sci*. 1998;13:203-10.
- Abarbanell AM, Herrmann JL, Weil BR, Wang Y, Tan J, Moberly SP, et al. Animal models of myocardial and vascular injury. *J Surg Res*. 2010;162:239-49.
- Ytrehus K. The ischemic heart –experimental models. *Pharmacol Res*. 2000;42:193-203.
- Avkiran M, Curtis MJ. Independent dual perfusion of left and right coronary arteries in isolated rat hearts. *Am J Physiol*. 1991;261:H2082-90.
- Neely JR, Liebermeister H, Battersby EJ, Morgan HE. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am J Physiol*. 1967;212:804-14.
- Beck CS, Mako AE. Venous stasis in the coronary circulation: An experimental study. *Am Heart J*. 1941;21:767-79.
- Johns TN, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg*. 1954;140:675-82.
- Litvak J, Sideris LE, Vineberg AM. The experimental production of coronary artery insufficiency and occlusion. *Am Heart J*. 1957;53:505-18.
- Fozzard HA. Validity of myocardial infarction models. *Circulation*. 1975;52:III131-46.
- Hoffmann U, Millea R, Enzweiler C, Ferencik M, Gulick S, Titus J, et al. Acute myocardial infarction: contrast-enhanced multi-detector row CT in a porcine model. *Radiology*. 2004;231:697-701.
- Smith GT, Soeter JR, Haston HH, McNamara JJ. Coronary reperfusion in primates. Serial electrocardiographic and histologic assessment. *J Clin Invest*. 1974;54:1420-7.
- Duncker DJ, Klassen CL, Ishibashi Y, Herrlinger SH, Pavek TJ, Bache RJ. Effect of temperature on myocardial infarction in swine. *Am J Physiol*. 1996;270:H1189-99.
- Kraitzman DL, Bluemke DA, Chin BB, Heldman AW, Heldman AW. A minimally invasive method for creating coronary stenosis in a swine model for MRI and SPECT imaging. *Invest Radiol*. 2000;35:445-51.
- Hearse DJ. Models and problems in the study of myocardial ischemia and tissue protection. *Eur Heart J*. 1983;4 Suppl C:43-8.
- Salazar AE. Experimental myocardial infarction. Induction of coronary thrombosis in the intact closed-chest dog. *Circ Res*. 1961;9:1351-6.
- Benedict CR, Mathew B, Rex KA, Cartwright JJ, Sordahl LA. Correlation of plasma serotonin changes with platelet aggregation in an in vivo dog model of spontaneous occlusive coronary thrombus formation. *Circ Res*. 1986;58:58-67.
- Sedlarik K, Eger H, Wilde J, Vollmar F, Reimann G, Schilling B, et al. [Experimental model of coronary thrombosis in the closed thorax in swine]. *Z Exp Chir*. 1976;9:302-15.
- Kordenat RK, Kezdi P, Stanley EL. A new catheter technique for producing experimental coronary thrombosis and selective coronary visualization. *Am Heart J*. 1972;83:360-4.
- Marcus E, Katz LN, Pick R, Stamler J. The production of myocardial infarction, chronic coronary insufficiency and chronic coronary heart disease in the dog. *Acta Cardiol*. 1958;13:190-8.
- Stone HL, Bishop VS, Guyton AC. Cardiac function after embolization of coronaries with microspheres. *Am J Physiol*. 1963;204:16-20.
- Gold HK, Fallon JT, Yasuda T, Leinbach RC, Khaw BA, Newell JB, et al. Coronary thrombolysis with recombinant human tissue-type plasminogen activator. *Circulation*. 1984;70:700-7.
- Suzuki M, Asano H, Tanaka H, Usuda S. Development and evaluation of a new canine myocardial infarction model using a closed-chest injection of thrombogenic material. *Jpn Circ J*. 1999;63:900-5.
- Yoshimizu T, Kai Y, Ura K, Yamada T, Takeoka K, Sakurai I. Experimental study on size-limitation of myocardial infarct in swine produced by a coronary balloon-catheterization. I. Preliminary report; morphometry of infarct size. *Acta Pathol Jpn*. 1986;36:703-13.
- Naslund U, Haggmark S, Johansson G, Marklund SL, Reiz S. A closed-chest myocardial occlusion-reperfusion model in the pig: techniques, morbidity and mortality. *Eur Heart J*. 1992;13:1282-9.
- Reffellmann T, Sensebat O, Birnbaum Y, Stroemer E, Hanrath P, Uretsky BF, et al. A novel minimal-invasive model of chronic myocardial infarction in swine. *Coron Artery Dis*. 2004;15:7-12.
- Krombach GA, Kinzel S, Mahnken AH, Gunther RW, Buecker A. Minimally invasive close-chest method for creating reperfused or occlusive myocardial infarction in swine. *Invest Radiol*. 2005;40:14-8.
- Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM. Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 1987;21:737-46.
- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res*. 1979;44:503-12.
- Elizaga J, Garcia Dorado D, Galinanes M, Solares J, Fernandez Aviles F. [Quantitative study of the differences in the areas of distribution of the epicardial coronary arteries in the dog and pig]. *Rev Esp Cardiol*. 1985;38:348-50.
- Verdouw PD, Van den Doel MA, De Zeeuw S, Duncker DJ. Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes. *Cardiovasc Res*. 1998;39:121-35.
- Hoit BD, Lew WY. Functional consequences of acute anterior vs. posterior wall ischemia in canine left ventricles. *Am J Physiol*. 1988;254:H1065-73.
- García-Dorado D, Theroux P, Elizaga J, Galinanes M, Solares J, Riesgo M, et al. Myocardial reperfusion in the pig heart model: infarct size and duration of coronary occlusion. *Cardiovasc Res*. 1987;21:537-44.
- Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, St John M, Xie JS, Cattaneo S, et al. Cardiac repair with intramyocardial injection of allogeneic mesenchymal stem cells after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:11474-9.
- Abegunewardene N, Vosseler M, Gori T, Hoffmann N, Schmidt KH, Becker D, et al. Usefulness of MRI to differentiate between temporary and long-term coronary artery occlusion in a minimally invasive model of experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2009;32:1033-41.
- Huang SY, Lin JH, Lin EC, Yang PC, Tsou HL. Effects of birth season, breed, sex, and sire family on cardiac morphology determined in pigs (*Sus scrofa domestica*) by use of echocardiography. *Comp Med*. 2001;51:545-9.
- Berg R, Mewes J. [Sex differences in the structure of the normal porcine myocardial wall]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 1994;107:325-7.
- Zhou L, White CM, Chen BP, Chow MS, Fan C, Kluger J. A comparison of the antifibrillatory effects of desethylamidarone to amiodarone in a swine model. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999;34:440-5.
- Regueiro-Purrinos M, Fernandez-Vazquez F, De Prado AP, Altonaga JR, Cuellas-Ramón C, Ajenjo-Silverio JM, et al. Ventricular arrhythmias and mortality associated with isoflurane and sevoflurane in a porcine model of myocardial infarction. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2011;50:73-8.
- Zhou L, Chen BP, Kluger J, Fan C, Chow MS. Effects of amiodarone and its active metabolite desethylamidarone on the ventricular defibrillation threshold. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:1672-8.
- Tsagalou EP, Anastasiou-Nana MI, Charitos CE, Sifakakis CX, Drakos SG, Ntalianis A, et al. Time course of fibrillation and defibrillation thresholds after an intravenous bolus of amiodarone—an experimental study. *Resuscitation*. 2004;61:83-9.
- Toller WG, Kersten JR, Pagel PS, Hettrich DA, Wartler DC. Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases the time threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Anesthesiology*. 1999;91:1437-46.
- Koning MM, De Zeeuw S, Nieukoop S, De Jong JW, Verdouw PD. Is myocardial infarct size limitation by ischemic preconditioning an "all or nothing" phenomenon? *Ann N Y Acad Sci*. 1994;723:333-6.
- Cason BA, Gampel AK, Slocum RE, Hickey RF. Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology*. 1997;87:1182-90.
- DeBoer LW, Nosta JJ, Kloner RA, Braunwald E. Studies of amiodarone during experimental myocardial infarction: beneficial effects on hemodynamics and infarct size. *Circulation*. 1982;65:508-12.
- Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch Pathol*. 1960;70:68-78.
- Piper HM, Garcia-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 1998;38:291-300.
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74:1124-36.
- Downey JM, Davis AM, Cohen MV. Signaling pathways in ischemic preconditioning. *Heart Fail Rev*. 2007;12:181-8.
- Kuzuya T, Hoshida S, Yamashita N, Fuji H, Oe H, Hori M, et al. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res*. 1993;72:1293-9.
- 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.

54. Pell TJ, Baxter GF, Yellon DM, Drew GM. Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol*. 1998;275:H1542-7.
55. Addison PD, Neligan PC, Ashrafpour H, Khan A, Zhong A, Moses M, et al. Noninvasive remote ischemic preconditioning for global protection of skeletal muscle against infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:H1435-43.
56. Gho BC, Schoemaker RG, Van den Doel MA, Duncker DJ, Verdouw PD. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation*. 1996;94:2193-200.
57. Walsh SR, Tang TY, Kullar P, Jenkins DP, Dutka DP, Gaunt ME. Ischaemic preconditioning during cardiac surgery: systematic review and meta-analysis of perioperative outcomes in randomised clinical trials. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008;34:985-94.
58. Botker HE, Kharbanda R, Schmidt MR, Bottcher M, Kaltoft AK, Terkelsen CJ, et al. Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial. *Lancet*. 2010;375:727-34.
59. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:H579-88.
60. Skyschally A, Van Caster P, Iliodromitis EK, Schulz R, Kremastinos DT, Heusch G. Ischemic postconditioning: experimental models and protocol algorithms. *Basic Res Cardiol*. 2009;104:469-83.
61. Hausenloy DJ. Signalling pathways in ischaemic postconditioning. *Thromb Haemost*. 2009;101:626-34.
62. Ovide M, Baxter GF, Di Lisa F, Ferdinandy P, Garcia-Dorado D, Hausenloy DJ, et al. Postconditioning and protection from reperfusion injury: where do we stand? Position paper from the Working Group of Cellular Biology of the Heart of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res*. 2010;87:406-23.
63. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME, et al. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res*. 2004;62:74-85.
64. Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, Amerson BS, Halkos ME, Kerendi F, et al. Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res*. 2005;67:124-33.
65. Yang XM, Proctor JB, Cui L, Krieg T, Downey JM, Cohen MV. Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:1103-10.
66. Iliodromitis EK, Georgiadis M, Cohen MV, Downey JM, Bofilis E, Kremastinos DT. Protection from post-conditioning depends on the number of short ischemic insults in anesthetized pigs. *Basic Res Cardiol*. 2006;101:502-7.
67. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, Yellon DM. Postconditioning: a form of "modified reperfusion" protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res*. 2004;95:230-2.
68. Schwartz LM, Lagranha CJ. Ischemic postconditioning during reperfusion activates Akt and ERK without protecting against lethal myocardial ischemia-reperfusion injury in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290:H1011-8.
69. Kerendi F, Kin H, Halkos ME, Jiang R, Zatta AJ, Zhao ZQ, et al. Remote postconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors. *Basic Res Cardiol*. 2005;100:404-12.
70. Andreaka G, Vertesaljai M, Szantho G, Font G, Piroth Z, Fontos G, et al. Remote ischaemic postconditioning protects the heart during acute myocardial infarction in pigs. *Heart*. 2007;93:749-52.
71. Yin Z, Gao H, Wang H, Li L, Di C, Luan R, et al. Ischaemic post-conditioning protects both adult and aged Sprague-Dawley rat heart from ischaemia-reperfusion injury through the phosphatidylinositol 3-kinase-AKT and glycogen synthase kinase-3beta pathways. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009;36:756-63.
72. Przyklenk K, Maynard M, Darling CE, Whittaker P. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with post-conditioning. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:1393-8.
73. Boengler K, Buechert A, Heinen Y, Roeskes C, Hilfiker-Kleiner D, Heusch G, et al. Cardioprotection by ischemic postconditioning is lost in aged and STAT3-deficient mice. *Circ Res*. 2008;102:131-5.
74. Donato M, D'Annunzio V, Berg G, Gonzalez G, Schreier L, Morales C, et al. Ischemic postconditioning reduces infarct size by activation of A1 receptors and K+(ATP) channels in both normal and hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2007;49:287-92.
75. Iliodromitis EK, Zoga A, Vrettou A, Andreadou I, Paraskevaidis IA, Kaklamanis L, et al. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits. *Atherosclerosis*. 2006;188:356-62.
76. Zhao JL, Yang YJ, You SJ, Cui CJ, Gao RL. Different effects of postconditioning on myocardial no-reflow in the normal and hypercholesterolemic mini-swines. *Microvasc Res*. 2007;73:137-42.
77. Bouhidel O, Pons S, Souktani R, Zini R, Berdeaux A, Ghaleh B. Myocardial ischemic postconditioning against ischemia-reperfusion is impaired in ob/ob mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;295:H1580-6.
78. Wagner C, Kloeting I, Strasser RH, Weinbrenner C. Cardioprotection by postconditioning is lost in WOKW rats with metabolic syndrome: role of glycogen synthase kinase 3beta. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2008;52:430-7.
79. Laskey WK. Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2005;65:361-7.
80. Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation*. 2005;112:2143-8.
81. Ma XJ, Zhang XH, Li CM, Luo M. Effect of postconditioning on coronary blood flow velocity and endothelial function in patients with acute myocardial infarction. *Scand Cardiovasc J*. 2006;40:327-33.
82. Darling CE, Solari PB, Smith CS, Furman MI, Przyklenk K. 'Postconditioning' the human heart: multiple balloon inflations during primary angioplasty may confer cardioprotection. *Basic Res Cardiol*. 2007;102:274-8.
83. Yang XC, Liu Y, Wang LF, Cui L, Wang T, Ge YG, et al. Reduction in myocardial infarct size by postconditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J Invasive Cardiol*. 2007;19:424-30.
84. Thibault H, Piot C, Staat P, Bontemps L, Sportouch C, Rioufol G, et al. Long-term benefit of postconditioning. *Circulation*. 2008;117:1037-44.
85. Laskey WK, Yoon S, Calzada N, Ricciardi MJ. Concordant improvements in coronary flow reserve and ST-segment resolution during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a benefit of postconditioning. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2008;72:212-20.
86. Lonborg J, Kelbaek H, Vejstrup N, Jorgensen E, Helqvist S, Saunamaki K, et al. Cardioprotective effects of ischemic postconditioning in patients treated with primary percutaneous coronary intervention, evaluated by magnetic resonance. *Circ Cardiovasc Interv*. 2010;3:34-41.
87. Xue F, Yang X, Zhang B, Zhao C, Song J, Jiang T, et al. Postconditioning the human heart in percutaneous coronary intervention. *Clin Cardiol*. 2010;33:439-44.
88. Sorensson P, Saleh N, Bouvier F, Bohm F, Settergren M, Caidahl K, et al. Effect of postconditioning on infarct size in patients with ST elevation myocardial infarction. *Heart*. 2010;96:1710-5.
89. Garcia S, Henry TD, Wang YL, Chavez JJ, Pedersen WR, Lesser JR, et al. Long-term follow-up of patients undergoing postconditioning during ST-elevation myocardial infarction. *J Cardiovasc Transl Res*. 2011;4:92-8.
90. Freixa X, Bellera N, Ortiz-Perez JT, Jimenez M, Pare C, Bosch X, et al. Ischaemic postconditioning revisited: lack of effects on infarct size following primary percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*. 2012;33:103-12.
91. Piot C, Croisille P, Staat P, Thibault H, Rioufol G, Mewton N, et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2008;359:473-81.
92. Mewton N, Croisille P, Gahide G, Rioufol G, Bonnefoy E, Sanchez I, et al. Effect of cyclosporine on left ventricular remodeling after reperfused myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1200-5.
93. Luo W, Li B, Lin G, Huang R. Postconditioning in cardiac surgery for tetralogy of Fallot. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007;133:1373-4.
94. Luo W, Li B, Chen R, Huang R, Lin G. Effect of ischemic postconditioning in adult valve replacement. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008;33:203-8.