

Evolución a lo largo de 10 días de un modelo de miocardio aturdido mediante isquemias muy breves y repetidas

Vicente Pallarés Carratalá, Amparo Hernández Martínez, Juan Cosín Aguilar, Manuel Portolés Sanz, Carmen Capdevila Carbonell, Francisco Pomar Domingo* y Francisca Andrés Conejos

Unidad Cardiocirculatoria. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

*Servicio de Cardiología. Hospital General Universitario. Valencia.

isquemia miocárdica/ contracción miocárdica/ insuficiencia ventricular izquierda/ reperfusión miocárdica/ estudios experimentales

Introducción y objetivos. En trabajos previos hemos observado cómo procesos isquémicos de muy breve duración (2 min) y de breve reperfusión (3 min), repetidos hasta 20 veces (protocolo isquémico [PI]) son capaces de provocar disfunción contráctil de la zona sometida a isquemia, con un descenso de la fracción de acortamiento (FA) del 28,6% a las 24 h y todo ello manteniendo un flujo coronario similar al basal (aturdimiento). El propósito de este estudio es conocer la evolución de la disfunción isquémica en comparación con el resto del miocardio. Para ello hemos efectuado un seguimiento durante 10 días tras finalizar el PI.

Métodos. Se han utilizado 24 perros mestizos, realizándose el PI descrito, midiendo parámetros de función regional, mediante la implantación de un par de cristales ultrasónicos crónicos en el área isquémica (dependiente de arteria coronaria descendente anterior), y un par en una zona control (dependiente de arteria circunfleja).

Resultados. Tras evaluar los resultados, observamos cómo la FA, que a las 24 h de finalizado el PI se encontraba un 28,6% por debajo de los valores basales ($p < 0,05$), durante los siguientes días persiste en la afectación, llegando a un máximo del 67,88% ($p < 0,01$) en el quinto día, iniciándose a partir de entonces una recuperación progresiva, que se sitúa el décimo día de seguimiento en un 18,95% (NS) por debajo de los valores basales. En ningún momento hemos observado variaciones significativas en los parámetros hemodinámicos.

Conclusiones. Los episodios muy breves y repetidos de isquemia (en los términos experimentales que se han descrito) producen una disfunción contráctil que alcanza su máxima afectación el quinto día, y que se recupera el décimo día. Estas alteraciones podrían explicar, en clínica, los episodios de

insuficiencia ventricular izquierda con recuperación espontánea que se producen en el seno de una cardiopatía isquémica estable, sin ninguna evidencia de una causa inmediata.

TEN DAYS EVOLUTION OF A STUNNED MYOCARDIUM MODEL DUE TO VERY BRIEF AND REPEATED ISCHEMIAS

Introduction and objectives. In previous studies we have observed ischemic processes of very brief duration (2 minutes) and with brief reperfusion (3 minutes), which have been repeated 20 times (ischemic protocol [IP]). They are capable of producing contractile dysfunction of the ischemic zone, with a decrease of 28.6% at 24 hours, and coronary blood flow maintenance (stunning).

Methods. The aim of this study is to examine the evolution of this dysfunction. The IP designed in our laboratory was used on 24 adult mongrel dogs. We measured regional myocardial function using a pair of implanted chronic ultrasonic crystals in the ischemic area (depending on the left anterior descending coronary artery) and a second pair in the control zone (depending on the left circumflex coronary artery).

Results. After analyzing results, we found that the shortening fraction decreased to 28.6% ($p < 0.05$) in 24 hours. During the subsequent five days the shortening fraction decreased to a minimum of 67.88% ($p < 0.01$), after which there was a progressive recovery that reached 18.95% (NS) below the base-line on the tenth day. We did not observe any significant variation in the hemodynamic parameters at any time.

Conclusions. The repeated, very brief episodes of ischemia (in the experimental terms that we have explained) produced a contractile dysfunction which reached its maximum on the fifth day, and returned to normal on the tenth day. We hypothesize that these alterations could explain the episodes of left ventricular failure with spontaneous re-

Este trabajo ha sido realizado gracias a la ayuda FISS 93/0407.

Correspondencia: Dr. V. Pallarés Carratalá.
Unidad Cardiocirculatoria. Centro de Investigación.
Hospital Universitario La Fe.
Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia.

Recibido el 12 de agosto de 1996.

Aceptado para su publicación el 3 de diciembre de 1996.

cuperation observed in stable myocardial ischemia, and for which no immediate cause has been found.

(*Rev Esp Cardiol* 1997; 50: 254-259)

INTRODUCCIÓN

El concepto del «miocardio aturdido»^{1,2} describe una situación caracterizada por una depresión transitoria de la función miocárdica tras un episodio isquémico breve y que se recupera tras la perfusión, y que ha sido suficientemente contrastado en experimentación animal, sobre todo en su modelo clásico de isquemia única. Sin embargo, aunque esta situación (isquemia única) se produce en clínica, la mayoría de los pacientes experimentan episodios de isquemia múltiples y recurrentes (con o sin dolor), a consecuencia de espasmo o trombosis.

Con esta idea, y pensando que un modelo de isquemia de muy breve duración y repetida muchas veces sea capaz de generar aturdimiento y a su vez simular los episodios de isquemia silente en la clínica, en nuestra unidad experimental hemos desarrollado un modelo canino de isquemia repetida mediante la provocación de 20 procesos de isquemia de muy breve duración (2 min), y de muy breve perfusión (3 min). Si bien este tiempo de isquemia (un solo episodio) no produce ningún tipo de alteración funcional de forma aislada, cuando se realiza de forma repetida, y sin un tiempo de recuperación lo suficientemente largo, origina un deterioro progresivo de la función regional de la zona isquémica, observando cómo después de 4 h de finalizado el protocolo isquémico (PI), la función regional se sitúa un 32,2% por debajo de los valores control, y un 28,6% a las 24 h, mostrando un flujo coronario similar al basal en todo momento³. Sin embargo, desconocíamos la evolución posterior de la función regional del territorio sometido a los episodios de isquemia. El objetivo que nos hemos propuesto en este trabajo ha sido estudiar la evolución de las altera-

ciones de la función regional, para lo cual hemos realizado un seguimiento hasta 10 días después de la aplicación del PI descrito.

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizan un total de 24 perros mestizos de ambos sexos con unos pesos comprendidos entre los 19 y los 27 kg ($22,25 \pm 2,85$). En todos los casos se cumple la normativa sobre protección de animales utilizados para experimentación establecida por la administración (R.D. 223/1988).

La preparación experimental de los animales ha sido ya descrita en trabajos previos³.

ESTUDIO DE FUNCIÓN GLOBAL Y REGIONAL

Para la medida de los parámetros de la función regional, tanto durante el acto quirúrgico como durante los días de seguimiento, se han implantado en subendocardio dos pares de cristales ultrasónicos crónicos (Triton Technology, Inc. Segment Length Xducer P/N SL 5-2), un par en el área isquémica, dependiente de arteria coronaria descendente anterior (ADA), y un par en el área control dependiente de arteria coronaria circunfleja (ACx). Alrededor de la ADA y tras su disección, se coloca un lazo de seda para realizar oclusiones mediante un *clamp* vascular atraumático. El flujo coronario se registró mediante la colocación alrededor de ADA de un medidor electromagnético de flujo (Transonic System Inc. Mod. T206). Para la medida de la presión ventricular izquierda (PVI), durante el acto quirúrgico y el último día de seguimiento en cada una de las series, se coloca un catéter en cámara ventricular a través de su pared libre.

Protocolo isquémico (PI) (fig. 1)

Consiste en la realización de 20 obstrucciones completas de ADA, de 2 min de duración, separadas por 3 min de perfusión entre ellas, analizando la función global y regional al principio y al final de cada uno de

Fig. 1. Representación del protocolo de estudio utilizado. OCL: oclusiones; REP: perfusiones; ECG: electrocardiograma; n: número de perros utilizados.

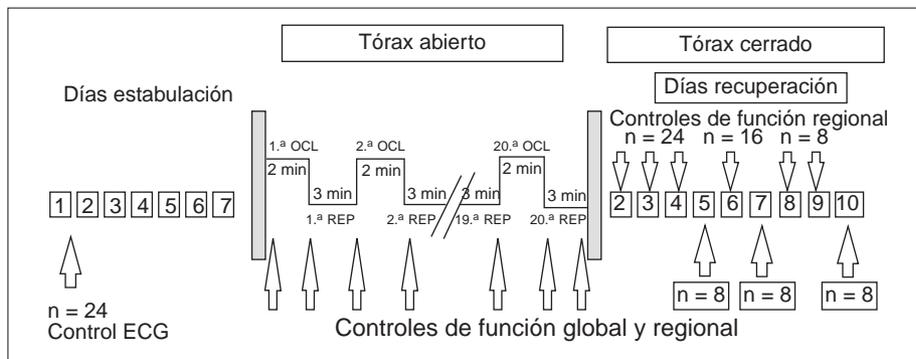


TABLA 1
Parámetros hemodinámicos

	FC (lpm)	PVI (mmHg)	dP/dt (mmHg/s)	Flujo coronario (ml/min)
Basal	129,4 ± 18,1	149,5 ± 16,8	3.430,4 ± 636,1	27,68 ± 3,24
Quinto día de recuperación	135,8 ± 16,5	138,8 ± 20,5	2.903,8 ± 402,8	28,16 ± 3,62
Séptimo día de recuperación	138,1 ± 17,7	149,7 ± 18,2	2.955,8 ± 239,1	27,33 ± 5,64
Décimo día de recuperación	142,3 ± 8,7	154,5 ± 8,6	3.633,0 ± 450,2	25,12 ± 3,55

FC: frecuencia cardíaca; PVI: presión del ventrículo izquierdo; dP/dt: derivada de la PVI; n = 24.

los procesos isquemia/reperusión. Tras la finalización de éste se procede a la retirada del lazo oclisor, del medidor electromagnético de flujo y del catéter de PVI, cerrando el tórax. Los cables de los cristales ultrasónicos son exteriorizados a través de la pared torácica, de tal forma que nos permita el registro diario de la contractilidad segmentaria tanto de la zona sometida a isquemia (ADA), como de la zona control (ACx).

Los parámetros estudiados incluyen la frecuencia cardíaca (FC), ECG periférico (derivaciones DII y DIII), PVI, dP/dt de PVI, longitud telesistólica (LTS), longitud telediastólica (LTD) y fracción de acortamiento (FA).

La calibración de los registros se realiza al inicio de cada experimento, cada 5 oclusioniones, al final de cada experimento, y posteriormente todos los días antes de realizar el registro correspondiente.

Protocolo de estudio (fig. 1)

Una vez realizado el PI anteriormente mencionado, se realizan controles diarios de función regional y ECG durante 10 días.

Se han realizado tres series: serie I (8 perros), con un seguimiento de 5 días; serie II (8 perros), con un seguimiento de 7 días, y serie III (8 perros), con un seguimiento de 10 días. En cada una de las series, el último día de seguimiento y con el tórax abierto se vuelven a medir flujo coronario, PVI y la dP/dt.

Para el análisis estadístico de los datos se ha utilizado el programa SOLO Statistical System (BMP Statistical Software, Inc.). Se consideran los valores promedio de cada situación, y sus desviaciones estándar. La

comparación entre las medias se ha realizado mediante el test de la t de Student y el análisis de la variancia, considerando como límite de confianza el 95%, por lo que una probabilidad menor al 5% en favor de la hipótesis de nulidad fue considerada de valor estadístico.

RESULTADOS

Parámetros hemodinámicos (tabla 1)

Los parámetros hemodinámicos no presentaron variaciones significativas. La FC mantiene unos valores ligeramente superiores a los observados en situación basal, debido probablemente a que el control diario se realiza con el animal consciente y sin sedación. El control del FI Co realizado en series previas a las 4 y 24 h, y en las series de este trabajo a los 5, 7 y 10 días, muestra que no existen variaciones respecto a los valores basales en ningún momento de la recuperación³.

Parámetros de función regional

Zona control

Durante los días siguientes a la aplicación del PI observamos cómo la LTS se mantiene en valores similares a los basales. La LTD sufre una ligera caída tras el cierre del tórax, permaneciendo hasta el noveno día de recuperación (9,62%; NS), recuperando el valor basal el décimo día (fig. 2a). La curva de la FA y tras el cierre del tórax se mantiene en valores por debajo de los basales, adoptando una forma de «U» que he-

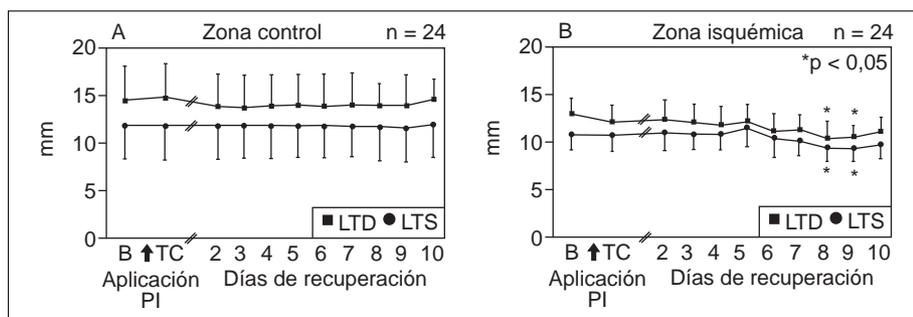


Fig. 2. Evolución de las longitudes telediastólica (LTD) y telesistólica (LTS) de los segmentos isquémico y control. En la figura A se representa la evolución de ambas longitudes en la zona control (ACx) y en la figura B la evolución de la zona isquémica (ADA). Las significaciones son con respecto al valor basal. PI: protocolo isquémico.

mos interpretado ha sido causada porque los controles se han realizado con tórax cerrado. En ninguno de los puntos evaluados se apreció una diferencia significativa con respecto al valor basal (NS) (fig. 3).

Zona isquémica

Una vez finalizado el PI y tras el cierre del tórax, la FA se encuentra afectada un 25,48% (NS) con respecto a su basal. Durante los primeros días de seguimiento presenta una afectación progresiva que alcanza su máximo el quinto día tras el PI (67,88%; $p < 0,01$). A partir de este punto la curva presenta una tendencia hacia la recuperación, presentando el décimo día una afectación sobre el basal de sólo un 18,95% (NS) (fig. 3).

Comparación entre zona isquémica y zona control

En la figura 3 se observa cómo evoluciona la FA en ambas zonas. Durante los primeros días de seguimiento las diferencias entre ambas zonas van aumentando progresivamente, alcanzando el máximo al quinto día, con una diferencia de un 54,06% ($p < 0,01$). En el décimo día, esta diferencia se sitúa en sólo el 17,91% (NS).

DISCUSIÓN

Está suficientemente documentado que la oclusión completa de una arteria coronaria va seguida de una serie de cambios en la contracción miocárdica. Isquemias de duración inferior a 20 min no producen necrosis, pero causan una afectación de la función contráctil que permanece deprimida hasta varios días después^{4,5}. En estudios con oclusiones coronarias de diferente duración^{5,6} se ha demostrado que el tiempo de recuperación funcional de una zona de miocardio sometida a isquemia es directamente proporcional a la duración de la oclusión. A este respecto inicialmente se pensó que, cuando la isquemia era de breve duración, la recuperación de la contractilidad era completa en unos minutos⁷⁻¹⁰. Sin embargo, Thérout et al¹¹, en 1976, observaron que tras una oclusión completa de 2 min de la ACx en perros anestesiados, la función contráctil regresaba a valores normales a los 2 min de liberar la oclusión, pero persistiendo leves alteraciones de la protodiástole en la zona isquémica hasta 45 min después de la perfusión.

Actualmente existe unanimidad en que períodos de isquemia de 15 min ocasionan una disfunción segmentaria de la contractilidad ventricular que persiste varias horas después de restablecerse el flujo y que la duración de la disfunción postisquémica está directamente relacionada con la duración de la oclusión coronaria¹²⁻¹⁹.

También ha sido demostrado que episodios de isquemia breves y repetidos producen una disfunción

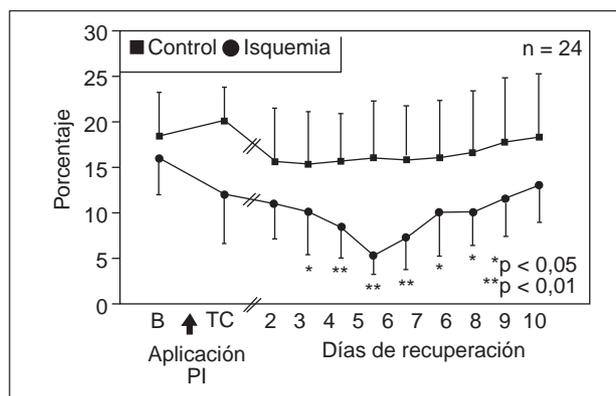


Fig. 3. Evolución de la fracción de acortamiento (FA). Se representa la evolución de la zona isquémica (ADA) comparando con la zona control (ACx). Observamos cómo en la zona isquémica, y tras la aplicación del PI, la FA sufre una afectación progresiva durante los primeros días de seguimiento, hasta un máximo el quinto día, iniciando a partir de este punto una recuperación progresiva. PI: protocolo isquémico.

contráctil prolongada en ausencia de lesión irreversible, siendo Geft et al¹⁴ los primeros en describirlo. Sin embargo, existen discrepancias entre los diferentes grupos investigadores que han utilizado modelos de isquemia repetida, en cuanto a la observación o no de un efecto acumulativo, dependiendo éste fundamentalmente del período de reperusión entre cada proceso isquémico²⁰⁻²⁴. Así, en 1985, Nicklas et al²⁰, utilizando un modelo canino, observan cómo tras 16 oclusiones sobre la ADA repetidas, de 5 min de duración, y con 10 min de reperusión entre ellas, y dejando una hora de recuperación una vez finalizado el protocolo isquémico, se produce un deterioro progresivo de la función sistólica regional de un 20% tras la primera oclusión, de un 82% tras la octava y de un 91% tras la última oclusión, presentando un 104% de afectación tras una hora de recuperación. Zhao et al²¹, utilizando un modelo canino en el que realizan 12 oclusiones sobre la arteria descendente anterior, con el mismo tiempo de isquemia y de reperusión que los anteriores autores y con 90 min de recuperación, comunican resultados similares.

En nuestro laboratorio, en trabajos previos en los que se aplica el esquema isquémico descrito en este trabajo³, observamos cómo tras la novena oclusión, la fracción de acortamiento se encuentra afectada en un 7,1%, tras la oclusión 20 un 14,9% y tras 60 min de recuperación un 18,9% con respecto a los valores basales. Vemos que estos resultados difieren de los comunicados por los autores anteriores en cuanto al grado de afectación, diferencias que pueden deberse al diferente tiempo de isquemia, siendo nuestro modelo más suave, aunque con un menor tiempo de reperusión entre las oclusiones; pero al igual que ellos, observamos un efecto acumulativo de la lesión producida, evidenciado también por otros autores²⁵⁻²⁸.

Si observamos los tiempos totales de isquemia descritos vemos que éstos serían suficientes para provocar una lesión irreversible del miocardio afectado; así, en el modelo de Nicklas et al²⁰, el tiempo total es de 80 min de isquemia, en el de Zhao et al²¹, de 60 min y en el de Chen et al²⁴, de 40 min, igual tiempo que en nuestro modelo; la diferencia con los modelos de isquemia única (menos de 20 min de isquemia total) es que la disfunción mecánica se desarrolla de forma gradual, pero estando asociada al grado de carga isquémica total (40-60 min frente a 10-15 min).

El modelo descrito en este trabajo es el que está sometido a más procesos isquémicos, pero también es el que tiene el período de isquemia más breve de los descritos en la bibliografía, y el grado de afectación observado no difiere del descrito por otros autores con tiempos de isquemia mayores, por lo que si la isquemia parece tener una influencia determinante, debe ser el poco tiempo de reperfusión que dejamos entre cada proceso (3 min), que es insuficiente para que la función se recupere totalmente, y se vaya acumulando el grado de disfunción.

Gall et al²⁹, ocluyendo la ADA en un modelo canino dos veces, con un tiempo de duración de isquemia de 15 min cada una de ellas, y con una hora de reperfusión entre ellas, observan cómo la repetición de la isquemia retrasa la recuperación de la función, si la comparamos con un episodio de oclusión única, y que esta disfunción puede seguir empeorando a pesar de la reperfusión. En nuestro modelo observamos, al igual que estos autores, cómo tras la finalización del protocolo isquémico, la fracción de acortamiento sigue afectándose de forma progresiva hasta un máximo el quinto día (67,88%; $p < 0,01$). Estos autores denominan a la disfunción acumulada «myocardial creep» (*miocardio perezoso*), concepto que según estos autores podría ayudar a explicar la disfunción acumulada en los procesos de isquemia repetida. Este concepto lo definen como un cambio en la longitud segmentaria bajo unas condiciones de carga constantes y que histológicamente se correlaciona con un ensanchamiento de las bandas I y un incremento de la longitud de las miofibrillas, y que no suele verse en los estudios histológicos, según ellos, debido posiblemente a las técnicas de fijación del tejido. Este incremento de la longitud de las miofibrillas mantiene menos puentes de actina-miosina, disminuyendo la demanda energética. Todo ello es un fenómeno estructural, que persiste tras el cese del evento que lo pone en marcha (isquemia-carga), por lo que isquemias repetidas pueden producir tirones acumulativos, o «creep», sin producir necesariamente una lesión acumulativa en la maquinaria metabólica celular. Por ello, la contribución del fenómeno «creep» miocárdico a la disfunción tras isquemias repetidas concuerda con estudios previos que han comunicado una estructura histológica normal, disminución de la demanda energética y un pequeño

efecto adicional sobre el metabolismo celular. En estudios realizados en nuestro laboratorio³ observamos cómo al analizar la estructura del tejido a las 24 h de aplicado el PI a la microscopia electrónica, éste presentaba importantes alteraciones de la estructura mitocondrial (aclaramiento de su matriz, vacuolizaciones, desorganización de crestas, etc.) apuntando que esta lesión puede ser el sustrato patológico de este tipo de aturdimiento miocárdico.

El período de recuperación mitocondrial (actualmente en estudio) y, en consecuencia según nuestra hipótesis la recuperación de la disfunción, alterará el recambio mitocondrial normal^{30,31} debido a que el grado de la lesión será distinto en cada grupo mitocondrial. Todo esto tiene relación con la teoría de Gall et al²⁹, dado que la afectación mitocondrial hace que las fibras no dispongan de la energía suficiente para contraerse de una forma adecuada hasta que la lesión se haya recuperado.

Implicaciones clínicas

La repetición de los procesos isquémicos como los del protocolo descrito en este estudio provocan una lesión acumulativa que persiste al menos hasta 8 días después de finalizados, produciendo un aturdimiento crónico. A nivel clínico, y como comentábamos en la «Introducción», la mayoría de los pacientes con enfermedad coronaria desarrollan episodios repetidos de isquemia breve (silente o doblemente silente), estando demostrado en estudios en los que se ha utilizado Holter, que han estimado que la frecuencia de estos episodios por día se sitúa entre 10 y 20³²; por tanto, nuestro modelo sería similar a los episodios que padecen este tipo de pacientes. Dado que a partir de nuestros resultados sabemos que la disfunción, si cesa el evento isquémico, se recupera, esto nos demuestra la importancia de tratar a este tipo de pacientes (asintomáticos), lo que evitaría el desarrollo de una insuficiencia ventricular izquierda de origen isquémico.

Por último, nos queda otra cuestión, una vez recuperada la función (¿y la ultraestructura?), qué ocurriría si repetimos el PI, ¿se prolongaría el período de disfunción hasta cronificarse o, por el contrario, se produciría un cierto preconditionamiento que disminuya la lesión?

BIBLIOGRAFÍA

1. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982; 66: 1.146-1.149.
2. Bolli R. Myocardial "stunning" in man. *Circulation* 1992; 86: 1.671-1.691.
3. Pomar F, Cosín J, Portolés M, Faura M, Renau J, Hernández A et al. Functional and ultrastructural alterations of canine myocar-

- dium subjected to very brief coronary occlusions. *Eur Heart J* 1995; 16: 1.482-1.490.
4. Wyatt HL, Forrester JS, DaLuz PL, Diamond GA, Chagrasulis R, Swan HJC. Functional abnormalities in nonoccluded regions of myocardium after experimental coronary occlusion. *Am J Cardiol* 1976; 37: 366-372.
 5. Bolli R, Zhu WX, Thornby JI, Padraig GO, Roberts R. Time course and determinants of recovery of function after reversible ischemia in conscious dogs. *Am J Physiol* 1988; 254: H102-H114.
 6. Heyndrickx GR, Baig H, Nellens P, Leusen I, Fishbein MC, Vatner SF. Depression of regional blood flow and wall thickening after brief coronary occlusion. *Am J Physiol* 1978; 234: H653-H659.
 7. Prinzmetal M, Schwartz LL, Corday E, Spritzler R, Bergman HC, Kruger HE. Studies on the coronary circulation: VI. Loss of myocardial contractility after coronary artery occlusion. *Ann Intern Med* 1949; 31: 429-449.
 8. Tautoles CJ, Randall WC. Local ventricular bulging after acute coronary occlusion. *Am J Physiol* 1961; 201: 451-456.
 9. Maroko PR, Kjekshus JK, Sobel BE, Watanabe T, Covell JW, Ross J Jr et al. Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions. *Circulation* 1971; 43: 67-82.
 10. Kloner RA, Ellis SG, Lange R, Braunwald E. Studies of experimental coronary artery reperfusion: effects of infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure, and microvascular damage. *Circulation* 1983; 68 (Supl 1): 8-15.
 11. Théroux P, Ross J Jr, Franklin D, Kemper WS, Sasayama S. Regional myocardial function in the conscious dog during acute coronary occlusion and responses to morphine, propranolol, nitroglycerin, and lidocaine. *Circulation* 1976; 53: 302-314.
 12. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie J, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 1975; 56: 978-985.
 13. Weiner JM, Apstein CS, Arthur JH, Pirzada FA, Hood WB. Persistence of myocardial injury following brief periods of coronary occlusion. *Cardiovasc Res* 1976; 10: 678-686.
 14. Geft IL, Fishbein MC, Ninomiya K, Hashida J, Chau E, Yano J et al. Intermittent brief periods of ischemia have cumulative effect and may cause myocardial necrosis. *Circulation* 1982; 66: 1.150-1.153.
 15. Charlat ML, O'Neill PG, Hartley CJ, Roberts R, Bolli R. Prolonged abnormalities of left ventricular diastolic wall thinning in the "stunned" myocardium in conscious dogs: time course and relation to systolic function. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13: 185-194.
 16. Farber NE, Pieper GM, Gross GJ. Regional differences in postischemic recovery in the stunned canine myocardium. *Am Heart J* 1987; 114: 1.086-1.092.
 17. Preuss KC, Gross GJ, Brooks HL, Wartier DC. Time course of recovery of "stunned" myocardium following variable periods of ischemia in conscious and anesthetized dogs. *Am Heart J* 1987; 114: 696-703.
 18. Schroder E, Kieso RA, Laughlin D, Schroder M, Meng R, Kerber RE. Altered response of reperfused myocardium to repeated coronary occlusion in dogs. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10: 898-905.
 19. Hanich RF, Levine JH, Prood C, Weiss JL, Callans DJ, Spear JF et al. Electrophysiologic recovery in postischemic, stunned myocardium despite persistent systolic dysfunction. *Am Heart J* 1993; 125: 23-32.
 20. Nicklas JM, Becker LC, Bulkley BH. Effects of repeated brief coronary occlusion on regional left ventricular function and dimension in dogs. *Am J Cardiol* 1985; 56: 473-478.
 21. Zhao M, Sonnenblick EH, Zhang H, Eng C. Increase in myofibrillar separation in the stunned myocardium. *J Moll Cell Cardiol* 1992; 24: 1.143-1.154.
 22. Homans DL, Laxon DD, Sublett E, Lindstrom P, Bache RJ. Cumulative deterioration of myocardial function after repeated episodes of exercised-induced ischemia. *Am J Physiol* 1989; 256: 1.462-1.471.
 23. Gross GJ, O'Rourke ST, Pelc LR, Wartier DC. Myocardial and endothelial dysfunction after multiple, brief coronary occlusions: role of oxygen radicals. *Am J Physiol* 1992; 263: 1.703-1.709.
 24. Chen G, Askenase AD, Chen K, Horowitz LN, Segal BL. The contraction of stunned myocardium: isovolumetric bulging and wasted ejection shortening in dog heart. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 115-125.
 25. Lange R, Ware J, Kloner RA. Absence of a cumulative deterioration of regional function during three repeated 5 or 15 minute coronary occlusions. *Circulation* 1984; 69: 400-408.
 26. Reimer KA, Murry CE, Yamasawa I, Hill ML, Jennings RB. Four brief periods of myocardial ischemia cause no cumulative ATP loss or necrosis. *Am J Physiol* 1986; 251: 1.306-1.315.
 27. Swain JL, Sabina RL, Hines JJ, Greenfield JC Jr, Holmes EW. Repetitive episodes of ischaemia (12 min) do not produced a cumulative depletion of high energy phosphate compounds. *Cardiovasc Res* 1984; 18: 264-269.
 28. Fujita M, Mikuniya A, McKown DP, Franklin D. Regional myocardial volume alterations induced by brief repeated coronary occlusion in conscious dogs. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12: 1.048-1.053.
 29. Gall SA, Maier GW, Glower DD, Gaynor JW, Cobb FR, Sabiston DC et al. Recovery of myocardial function after repetitive episodes of reversible ischemia. *Am J Physiol* 1993; 264: 1.130-1.138.
 30. Menzies R, Gold P. The turnover of mitochondria in a variety of tissues of young adult and aged rats. *J Biol Chem* 1971; 246: 2.425-2.429.
 31. Jordá A, Pérez-Pastor E, Portolés M. Effect of streptozotocin-diabetes on rat liver mitochondrial adenosine triphosphatase turnover. *Biochem J* 1988; 251: 621-624.
 32. Cohn PF. Silent myocardial ischemia: classification, prevalence, and prognosis. *Am J Med* 1985; 79 (Supl 3A): 2-12.