

CAPÍTULO 4

Infarto miocárdico producido por isquemia-reperfusión

Susana M. Mosca

Resumen

La oclusión severa de una arteria coronaria y la reperfusión inmediata de la misma causan la muerte celular (infarto) simultáneamente con un deterioro de la función contráctil del miocardio. La sobrecarga de calcio y la producción de especies reactivas del oxígeno son los principales agentes responsables del daño miocárdico por isquemia-reperfusión. Estas señales patológicas convergen en la mitocondria provocando la apertura del poro de permeabilidad transitoria (PPTM), la liberación de factores involucrados en la muerte celular y el proceso de fisión mitocondrial. Es así, que la protección ejercida por distintas intervenciones, como el pre y post-acondicionamiento isquémicos y tratamientos farmacológicos está relacionada a la inhibición de la formación del PPTM y de la fragmentación mitocondrial. Por lo tanto, las posibles nuevas terapias cardioprotectoras serán aquellas que puedan bloquear ó atenuar la permeabilidad y la fisión mitocondrial.

Palabras Clave: Isquemia, reperfusión, PPTM, pre y post-acondicionamiento isquémicos, fisión-fusión.

1. Introducción

1.1. Sistema circulatorio

El sistema circulatorio está encargado de bombear y distribuir la sangre por todo el organismo. Está formado por cuatro componentes, un órgano impulsor, el corazón, el sistema arterial, los capilares y el sistema venoso. Estos componentes forman el **circuito mayor o sistémico** que transporta sangre oxigenada por el sistema arterial (que se inicia con la arteria aorta) desde el corazón hasta los tejidos. La sangre desoxigenada (con alta cantidad de CO_2) retorna al corazón a través de las venas cavas. El otro camino, el llamado **circuito menor ó pulmonar** transporta sangre desoxigenada mediante la arteria pulmonar desde el corazón hasta los pulmones y la sangre oxigenada vuelve al corazón a través de la vena pulmonar.

1.2. Corazón

El corazón es un órgano muscular hueco, que consta de cuatro cavidades o cámaras, las dos superiores denominadas **aurículas** (derecha e izquierda) y las dos inferiores **ventrículos** (derecho e izquierdo), separadas por los correspondientes tabiques interauricular e interventricular. Ambas cámaras están comunicadas a través de válvulas que responden a diferencias de presiones. Las **válvulas auriculo-ventriculares** (AV) permiten que la sangre fluya de las aurículas a los ventrículos: la derecha (tricúspide) conecta las cavidades derechas, y la izquierda (bicúspide ó mitral) conecta las cavidades izquierdas. Las **válvulas semilunares** (pulmonar ó derecha y aórtica ó izquierda), conectan a los ventrículos con las arterias respectivas. El corazón está formado por músculo estriado, que participa del proceso contráctil y el sistema especializado de conducción. Este

último está formado por células musculares que son capaces de generar y conducir el impulso cardíaco, necesario para la contracción miocárdica. La nutrición del corazón ocurre a través de las **arterias coronarias**, (derecha e izquierda) que son las primeras ramas de la aorta. Para el normal funcionamiento cardíaco es necesario que el aporte de oxígeno sea el necesario para satisfacer las demandas del tejido miocárdico.

2. Isquemia-reperfusión: alteraciones

La isquemia miocárdica es el desequilibrio entre el aporte de oxígeno, dado por el flujo coronario y las demandas de dicho nutriente por el corazón. Es decir, que cuando el flujo coronario se interrumpe por ej. por oclusión de una arteria coronaria, el oxígeno disponible y la síntesis de ATP aeróbico disminuyen. Esto provoca un daño, cuya magnitud depende de la duración de la oclusión. La única herramienta disponible para recuperar el tejido lesionado es restablecer el flujo mediante la **reperfusión** de la arteria ocluida. Sin embargo, esta estrategia puede en sí misma agravar la injuria. Las alteraciones por **isquemia-reperfusión** son: atontamiento miocárdico (disminución de la contractilidad miocárdica post-isquemia), arritmias e infarto (muerte celular).

2.1. Mecanismos responsables

Durante la isquemia se estimula la generación de ATP anaeróbico por la vía glucolítica y se produce un aumento de la producción de lactato. Esto produce la acidificación intracelular, lo que lleva a la activación del intercambiador Na^+/H^+ , que produce la salida de H^+ hacia el extracelular y la entrada de Na^+ al citosol. Este aumento de la concentración intracelular de Na^+ activa el modo "reverso" del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, provocando un aumento de la concentración intracelular de Ca^{2+} (Figura 1). Durante la reperfusión, la reactiva-

ción de los intercambiadores Na^+/H^+ y $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ conduce a la sobrecarga intracelular de Ca^{2+} (Piper, 2003) (Yellon, 2007).

Simultáneamente, al restablecerse la provisión de oxígeno, se genera una mayor cantidad de las especies reactivas derivadas del oxígeno (EROs) (Figura 2). Entre ellas están el anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), el anión hidroxilo ($\text{OH}^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), el óxido nítrico ($\text{NO}^{\cdot}$) y el peroxinitrito ($\text{ONOO}^{\cdot-}$). La principal fuente de producción de EROs es la cadena respiratoria de la mitocondria (Granger, 2015).

El nivel celular de EROs depende del balance entre la producción y la remoción de las mismas. En condiciones fisiológicas, los efectos perjudiciales de EROs son contrarrestados por los sistemas antioxidantes, entre los cuales están los enzimáticos [enzimas catalasa, superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx)] y los no enzimáticos (albúmina, metalotioneína y ceruloplasmina, ferritina, ácido úrico etc). Durante la isquemia-reperfusión se produce el desequilibrio (Figura 3).

3. Mitocondrias

Las mitocondrias son organelas capaces de amortiguar el aumento citosólico de Ca^{2+} , pero este proceso es limitado. Una baja concentración de Ca^{2+} mitocondrial está asociada a la acidosis y a una alta concentración de ADP (lo que ocurre durante la isquemia) que impiden la apertura del poro de permeabilidad transitoria de la mitocondria (PPTM) y por lo tanto se mantiene la impermeabilidad de la membrana mitocondrial y su potencial (Lesnefsky y otros, 2001) (Tsujimoto, 2006). La producción de EROs y la sobrecarga de Ca^{2+} , eventos que ocurren durante la reperfusión, favorecen la formación y la apertura del PPTM produciendo un aumento de la permeabilidad de la membrana mitocondrial (Griffiths, 1995) (Hom y otros, 2010) (Willems y otros 2015).

3.1. Poro de permeabilidad transitoria de la mitocondria (PPTM)

El mantenimiento del gradiente de protones y la impermeabilidad de la membrana interna son condiciones necesarias para el normal funcionamiento de las mitocondrias. Sin embargo, bajo condiciones de estrés, la permeabilidad de la membrana mitocondrial puede aumentar con la formación de un poro inespecífico dependiente de voltaje, conocido como PPTM (Figura 4). Este poro permite la entrada de agua y moléculas de hasta 1,5 kD y por lo tanto induce hinchazón de los orgánulos de la matriz.

Como resultado del edema mitocondrial ocurre la ruptura de la membrana mitocondrial externa y la liberación de proteínas pro-apoptóticas en el citosol. Los principales componentes del PPTM son la nucleótido adenina translocasa (ANT), la ciclofilina D (CyP-D) y un canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC) en la membrana externa (Tsujimoto, 2006). Trabajos previos muestran que el PPTM es un evento crucial en el daño miocárdico producido por isquemia-reperusión. Así, intervenciones y/o tratamientos farmacológicos que reducen la formación del PPTM disminuyen el tamaño del infarto y mejoran la recuperación de la contractilidad miocárdica (Borutaite, 2003) (Shanmuganathan y otros, 2005).

3.2. Dinámica mitocondrial

Este término se refiere al remodelado de la ultraestructura mitocondrial y la condensación de su matriz. Comprende dos procesos: fisión y fusión, que clásicamente son considerados como un reflejo del estado metabólico mitocondrial (Scalettar, 1991). La fisión mitocondrial está regulada principalmente por la proteína relacionada con la dinamina 1 (Drp-1) y la proteína de fisión 1 (Fis1), mientras que en la fusión participan las proteínas mitofusinas (Mfn 1/2) y la proteína de la atrofia óptica 1 (OPA1) (Figura 5). Estudios previos (Ong, 2013) (Maneechote, 2018) (Li, 2018) muestran que el aumento

de la fisión mitocondrial está involucrado en la muerte de cardiomiocitos producida por isquemia-reperfusión.

4. Estrategias cardioprotectoras

4.1. Pre y Post-acondicionamiento isquémicos

Numerosos trabajos señalan como un mecanismo cardioprotector al fenómeno llamado “preacondicionamiento isquémico” (PI) descrito por Murry y col en 1986 (Murry, 1986). Esta intervención se basa en que breves episodios de isquemia seguidos de perfusión aplicados previamente a la isquemia de mayor duración, disminuyen las alteraciones ocasionados por la isquemia- perfusión (Yellon, 2003). La primera aplicación clínica del PI fue un estudio realizado por el grupo de Yellon en 1993, al que le siguieron otros estudios (Jenkins y otros 1997) (Ikonomidis y otros, 1994).

Zhao y col, en 2003 (Zhao y otros, 2003) demostraron que la aplicación de breves períodos de isquemia seguidos de perfusión al inicio de la perfusión era capaz de reducir el tamaño del infarto. Este fenómeno llamado post-acondicionamiento isquémico (POS), proporcionó una herramienta que puede ser aplicada en el momento de la perfusión, lo que facilita su aplicación a pacientes con infarto agudo de miocardio (Laskey, 2005) (Staat y otros 2005). Estudios de nuestro laboratorio, realizados en corazón aislado de rata (Figura 6) muestran la acción cardioprotectora del PI y POS (Mosca y otros 1999). En estos experimentos, la aplicación de 5 min de isquemia seguidos de 10 min de perfusión previos a la isquemia de mayor duración (protocolo de PI), así como la aplicación de 3 ciclos breves de isquemia/perfusión al inicio de la perfusión (protocolo de POS) disminuyeron el tamaño del infarto y aumentaron la recuperación postisquémica de la función sistólica y diastólica miocárdicas.

En cuanto a los mecanismos de protección existen estudios que muestran que el PI y el POS utilizan vías de señalización similares

(Hausenloy, 2007). La interacción de ligandos, tales como la adenosina y opiáceos, con receptores de membrana lleva a la activación de distintas quinasas como la proteína quinasa C (PKC), el complejo fosfatidilinositol-3-quinasa/Akt (PI3K/Akt) (39), la glucógeno sintetasa quinasa-3 β (GSK-3 β) y la interacción entre ellas en las distintas cascadas de señalización (Liu, 1994) (Vasalli, 2012) (Tong y otros 2002). También el NO, formado por activación de la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS), directa ó indirectamente a través de la activación de la guanilato ciclasa (GC) es un factor importante en la cardioprotección (Bolli, 2011).

Varios estudios mencionados en una revisión reciente (Pagliaro y otros, 2018) establecen que las vías de señalización que incluyen las quinasas mencionadas convergen finalmente en las mitocondrias, reduciendo la probabilidad de apertura del PPTM (Figura 7).

4.2. Tratamientos farmacológicos

Además el PI y POS distintos tratamientos farmacológicos pueden proteger al miocardio contra la injuria por isquemia-reperusión. Experimentos de nuestro laboratorio demuestran que el tratamiento con inhibidores del intercambiador Na^+/H^+ , como el cariporide, inhibidores de la GSK-3 β , como el cloruro de litio, reducen el tamaño del infarto y aumentan la recuperación post-isquémica de la contractilidad (Mosca, 2000) (Fantinelli, 2006) (Garcarena y otros 2008).

Efectos cardioprotectores similares obtuvimos mediante la utilización y administración de un extracto no-alcohólico de vino tinto y extractos acuosos de yerba mate, arándanos, cacao etc (Fantinelli, 2007) (González y otros 2006). La acción beneficiosa de estos extractos ha sido atribuida a los compuestos polifenólicos (Figura 8), los que pueden activar vías semejantes al PI y POS llevando a una disminución de la formación del PPTM, preservando así la integridad mitocondrial.

5. Conclusiones

De acuerdo con los antecedentes mencionados parece ser que las mitocondrias además de su papel esencial en la producción de energía, controlan la muerte celular mediante la formación y/o apertura del PPTM y de los procesos de fisión y fusión mitocondrial. Es así que, intervenciones como el PI, el POS y tratamientos farmacológicos protegen al miocardio contra los daños producidos por la isquemia-reperfusión atenuando la formación de dicho poro y la fisión mitocondrial. Por lo tanto, el hallazgo de nuevas terapias farmacológicas cardioprotectoras se centrará en aquellas drogas quemantengan la integridad funcional y estructural de la mitocondria.

Bibliografía

- 1- Piper, H. M1., Meuter, K., Schäfer, C. (2003). Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*, 75(2):S644-8.
- 2- Yellon, D.M., Hausenloy, D.J. (2007). Myocardial reperfusion injury. *N Eng J Med*, 107:1121-1135.
- 3- Granger, D.N., Kvietys, P.R. (2015). Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol*, 6: 524-551.
- 4- Lesnefsky, E.J., Moghaddas, S., Tandler, B. y otros (2001). Mitochondrial dysfunction in cardiac disease: ischemia-reperfusion, aging, and heart failure. *J Mol Cell Cardiol*, 33:1065-1089.
- 5- Tsujimoto, Y., Nakagawa, T., Shimizu, S. (2006). Mitochondrial permeability transition and cell death. *Biochim Biophys Acta*, 1757:1297-1300.
- 6- Griffiths, E.J., Halestrap, A.P. (1995). Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J*, 307:93-98.

- 7- Hom, J., Yu, T., Yoon, Y. y otros. (2010). Regulation of mitochondrial fission by intracellular Ca^{2+} in rat ventricular myocytes. *Biochim. Biophys Acta*, 1797: 913–21.
- 8- Willems, P.H., Rossignol, R., Dieteren, C.E. y otros (2015). Redox homeostasis and mitochondrial dynamics, *Cell Metab*, 22: 207–218.
- 9- Borutaite, V., Jekabsone, A., Morkuniene, R., y otros (2003). Inhibition of mitochondrial permeability transition prevents mitochondrial dysfunction, cytochrome c release and apoptosis induced by heart ischemia. *J Mol Cell Cardiol.*, 35:357-366.
- 10- Shanmuganathan, S., Hausenloy, D.J., Duchen, M.R. y otros (2005). Mitochondrial permeability transition pore as a target for cardioprotection in the human heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 289: H237-H242.
- 11- Heusch, G., Boengler, K., Schulz, R. (2010). Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening: the Holy Grail of cardioprotection. *Basic. Res. Cardiol.*, 105:151-653.
- 12- Scalettar, B.A., Abney, J.R., Hackenbrock, C.R. (1991). Dynamics, structure, and function are coupled in the mitochondrial matrix. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88: 8057-61.
- 13- Ong, B., Hall, A.R., Hausenloy, D.J. (2013). Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease, *Antioxid. Redox Signal*, 19: 400–414.
- 14- Manechote, C., Palee, S., Kerdphoo, S. y otros (2018). Differential temporal inhibition of mitochondrial fission by Mdivi-1 exerts effective cardioprotection in cardiac ischemia/reperfusion injury. *Clin Sci (Lond)*, 132(15):1669-1683.
- 15- Li, Y., Liu, X. (2018). Novel insights into the role of mitochondrial fusion and fission in cardiomyocyte apoptosis induced by ischemia/reperfusion. *J Cell Physiol.*, 233(8):5589-5597.
- 16- Murry, C.E., Jennings, R.B., Reimer, K.A. (1986). Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 74(5):1124-1136.

- 17- Yellon, D.M., Downey, J.M. (2003). Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev.*, 83(4):1113-1151.
- 18- Yellon, D.M., Alkhulaifi, A.M., Pugsley, W. B. (1993). Preconditioning the human myocardium, *Lancet*, 342: 276-277.
- 19- Jenkins, D.P., Pugsley, W.B., Alkhulaifi, A.M. y otros (1997). Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart*, 77:314-318.
- 20- Ikonomidis, J.S., Tumiati, L.C., Weisel, R. D. y otros (1994) . Preconditioning human ventricular cardiomyocytes with brief periods of simulated ischaemia. *Cardiovasc Res.*, 28(8):1285-1291.
- 21- Zhao, Z.Q., Corvera, J.S., Halkos, M. E. y otros (2003). Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 285:H579-H588.
- 22- Laskey, W.K. (2005). Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv.*, 65: 361-367.
- 23- Staat, P., Rioufol, G., Piot, C. y otros (2005). Postconditioning the human heart. *Circulation*, 112:2143-148.
- 24- Mosca, S.M., Salas, M.A., Portiansky, E. L. y otros (1999). Early ischemic preconditioning protects from infarct and myocardial stunning in isolated rat heart. *Exp Clin Cardiol*, 4(1):43-48.
- 25- Fantinelli, J.C., Mosca, S.M. (2007). Comparative effects of ischemic pre and postconditioning on ischemia-reperfusion injury in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Mol Cell Biochem*, 296: 45-51.
- 26- González Arbeláez, L.F., Ciocci Pardo, A., Fantinelli, J.C. y otros (2016). Cyclosporine-A mimicked the ischemic pre and postconditioning-mediated cardioprotection in hypertensive rats: role of PKC ϵ . *Exp Mol Pathol*, 100(2):266-275.

- 27- Hausenloy, D.J., Yellon, D.M. (2007). Preconditioning and post-conditioning: united at reperfusion. *Pharmacol Ther*, 116:173-191.
- 28- Liu, Y., Ytrehus, K., Downey, J. M. (1994). Evidence that translocation of protein kinase C is a key event during ischemic preconditioning of rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol*, 26:661-668.
- 29- Vassalli, G., Milano, G., Moccetti, T. (2012). Role of mitogen-activated protein kinases in myocardial ischemia-reperfusion injury during heart transplantation. *J Transplant*, 2012:928954.
- 30- Tong, H., Imahashi, K., Steenbergen, C., y otros (2002). Phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 β during preconditioning through a phosphatidylinositol-3-kinase--dependent pathway is cardioprotective. *Circ Res.*, 90(4):377-379.
- 31- Bolli, R. (2011). Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J Mol Cell Cardiol*, 33(11):1897-1918.
- 32- Pagliaro, P., Femminò, S., Popara, J. y otros (2018). Mitochondria in Cardiac Postconditioning. *Front Physiol*, 26;9:287.
- 33- Mosca, S.M., Cingolani, H.E. (2000). Comparison of the protective effects of ischemic preconditioning and the Na⁺/H⁺ exchanger blockade. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol*, 362(1):7-13.
- 34- Fantinelli, J.C., Cingolani, H.E., Mosca, S.M. (2006). Na⁺/H⁺ exchanger inhibition at the onset of reperfusion decreases the myocardial infarct size: role of ROS. *Cardiovasc Pathol*, 15/4: 179-184.
- 35- Garcíarena, C.D., Caldiz, C.I., Correa, M.V. y otros (2008). Na⁺/H⁺ exchanger-1 inhibitors decrease myocardial superoxide production via direct mitochondrial action. *J Appl Physiol*, 105(6):1706-13.
- 36- González Arbeláez, L.F., Pérez Núñez, I.A., Mosca, S.M. (2013). GSK-3 β inhibitors mimic the cardioprotection mediated by ischemic pre-and postconditioning in hypertensive rats. *Bio Med Res Inter*, 2013: Article ID 317456.
- 37- Fantinelli, J.C., Mosca, S.M. (2007). Cardioprotective effects of a non-alcoholic extract of red wine during ischemia and reperfusion

- in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 34(3):166-169.
- 38- González Arbeláez, L.F., Fantinelli, J., Ciocci Pardo, A. y otros (2016). Effect of *Ilex paraguariensis* (yerba mate) extract on infarct size in isolated rat heart: mechanisms involved. *Food & Function*, 7(2):816-824.
- 39- González Arbeláez, L.F., Ciocci Pardo, A., Fantinelli, J.C. y otros (2016). Ex vivo treatment with a polyphenol-enriched cocoa extract ameliorates myocardial infarct and postischemic mitochondrial injury in normotensive and hypertensive rats. *J Agric Food Chem*, 64(25):5180-5187.
- 40- Fantinelli, J.C., Cuéllar Álvarez, L.N., González Arbeláez, L.F. y otros (2017). Acute treatment with copoazú fermented extract ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury via eNOS activation. *J Funct Foods*, 34: 470-477.

Leyendas para las figuras

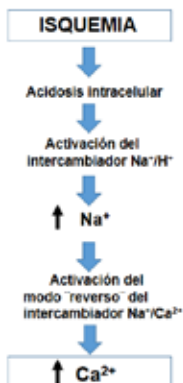


Figura 1: Eventos celulares que ocurren durante la isquemia

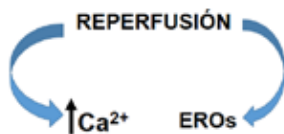


Figura 2: Eventos desencadenados por la reperfusión

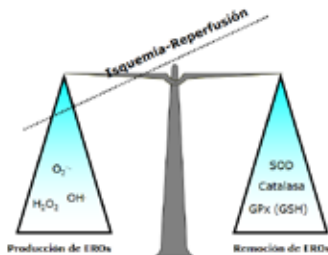


Figura 3: Desequilibrio entre la producción y la remoción de EROs que tiene lugar durante la isquemia-reperfusión

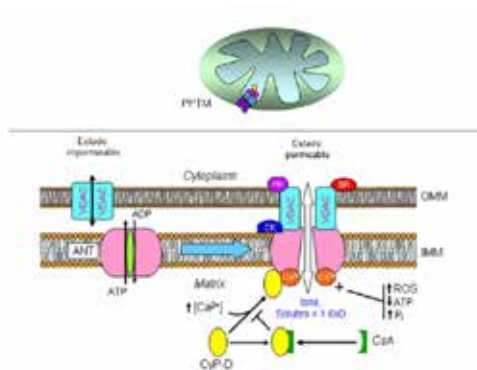


Figura 4: Esquema del estado impermeable (componentes desalineados) y estado permeable (componentes alineados) del PPTM.

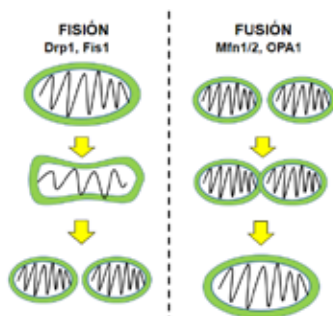


Figura 5: Procesos de fisión y fusión mitocondrial



Figura 6: Esquema experimental



Figura 7: Cascadas cardioprotectoras del PI y POS



Figura 8: Estructura polifenólica de los componentes mayoritarios de la uva, yerba mate, arándanos y cacao