

POSCONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO: MECANISMOS, COMORBILIDADES Y POSIBLE APLICACIÓN CLÍNICA

ISCHEMIC POSTCONDITIONING: MECHANISMS, CO-MORBIDITIES, AND POSSIBLE CLINICAL USEFULNESS

MARÍA AILÍN GOYENECHÉ¹, MARTÍN DONATO², RICARDO J. GELPI³

RESUMEN

La cardiopatía isquémica es la principal causa de muerte e insuficiencia cardíaca en el mundo, por lo que en los últimos años se han estudiado nuevas estrategias terapéuticas con el objetivo de mejorar la condición clínica de los pacientes. En este sentido, ha sido demostrado que breves episodios de isquemia/reperfusión realizados al inicio de la reperfusión reducen el tamaño de infarto. Este fenómeno denominado "poscondicionamiento isquémico" ha llamado la atención considerablemente y es fuente de numerosas investigaciones por su potencial extrapolación clínica. Por un lado, se ha demostrado que diferentes autacoides (p. ej., adenosina, bradikinina, opioides, etc.), citoquinas y cambios a nivel mitocondrial estarían involucrados en el mecanismo de protección del poscondicionamiento isquémico. Por otro lado, se han estudiado diferentes agentes farmacológicos que imitan la cardioprotección otorgada por el poscondicionamiento isquémico. En esta revisión se analizan los mecanismos de protección del poscondicionamiento isquémico, la relación de este fenómeno con algunas comorbilidades y su posible extrapolación clínica.

Palabras clave: infarto de miocardio, isquemia, poscondicionamiento isquémico.

ABSTRACT

Since ischemic heart disease is a major cause of mortality and heart failure, novel therapeutic strategies are expected to improve the clinical outcomes of patients with acute myocardial infarction. Brief episodes of ischemia/reperfusion performed at the onset of reperfusion can reduce infarct size; a phenomenon termed "ischemic postconditioning". Extensive research has determined that different autacoids (e.g., adenosine, bradykinin, opioids, etc.) and cytokines, their respective receptors, kinase signaling pathways and mitochondrial modulation are involved in ischemic conditioning. The modification of these factors by pharmacological agents mimics the cardioprotection by ischemic postconditioning. Here, the potential mechanisms of ischemic postconditioning, the presence of co-morbidities and the possible extrapolation to the clinical setting are reviewed. In the near future, large, multicenter, randomized, placebo-controlled, clinical trials will be required to determine whether pharmacological and/or ischemic postconditioning can improve the clinical outcomes of patients with ischemic heart disease.

Keywords: myocardial infarction, ischemia, ischemic postconditioning.

REVISTA CONAREC 2016;32(133):021-029 | VERSIÓN WEB WWW.REVISTACONAREC.COM.AR

INTRODUCCIÓN

La cardiopatía isquémica continúa siendo la principal causa de muerte e insuficiencia cardíaca en la población mundial, a pesar de los avances realizados en su tratamiento¹. En los Estados Unidos, cerca de 1 millón de personas sufren un infarto agudo de miocardio anualmente, y aproximadamente el 29% son infartos con supradesnivel del segmento ST². Por esta razón, el desarrollo de nuevas estrategias para mejorar el pronóstico de los pacientes con esta patología es de real importancia. Hasta la actualidad, la principal estrategia terapéutica con la que se cuenta es la reperfusión; sin embargo, paradójicamente, la denominada injuria por reperfusión limita los beneficios del restablecimiento del flujo coronario en el lecho isquémico.

En el ámbito experimental se han descrito diferentes métodos que fueron capaces de limitar o aún reducir el área de infarto. Sin embargo, solo unos pocos han podido ser extrapolados con éxito al ámbito clínico. Entre estos se destaca el poscondicionamiento isquémico, el cual consiste en la realización de períodos cortos de isquemia/reperfusión al inicio de la reperfusión³. Dado que este procedimiento necesita ser llevado a cabo al inicio de la reperfusión, presenta un gran potencial clínico y, en consecuencia, ha captado la atención de los investigadores. Esta revisión se focalizará en describir algunos de los mecanismos involucrados en la protección otorgada por el poscondicionamiento isquémico, su asociación con algunas comorbilidades y su posible extrapolación clínica.

BLANCOS DEL POSCONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO

EFFECTO SOBRE EL TAMAÑO DE INFARTO

En el año 2003, Zhao y cols.³ demostraron que 3 ciclos de 30 segundos de reperfusión/isquemia realizados en forma posterior a un episodio de isquemia prolongado disminuyen el tamaño de infarto y atenúan la disfunción endotelial. Este fenómeno fue denominado poscondicionamiento isquémico. En concordancia con el trabajo original de Zhao y cols.³, nosotros mostramos que el poscondicionamiento isquémico reduce el tamaño de infarto en corazones aislados de conejo⁴, siendo esta reducción similar a la

1. Becaria del Consejo Interuniversitario Nacional (CIN).

2. Miembro del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET).

3. Director del Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

✉ **Correspondencia:** Ricardo J. Gelpi | Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. JE Uriburu 950 - 2do piso. CP 1114. Buenos Aires, Rep. Argentina | rgelpi@fmed.uba.ar

Los autores no declaran conflictos de intereses.

Recibido: 16/04/2015 | Aceptado: 05/05/2015

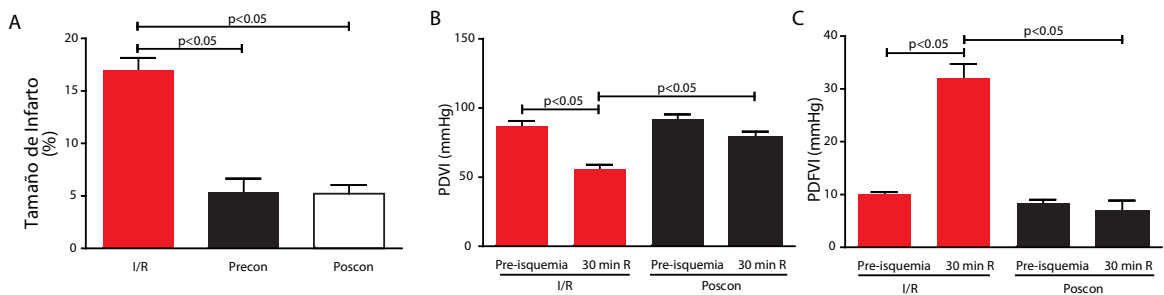


Figura 1. El panel A muestra que tanto el poscondicionamiento (Poscon) como el preconditionamiento (Precon) isquémico reducen de forma similar el tamaño de infarto. Los paneles B y C muestran la recuperación de la presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PDVI) y de la presión de fin de diástole del ventrículo izquierdo (PDFVI) después de 30 minutos de reperusión, en corazones sometidos a un protocolo de poscondicionamiento isquémico. El poscondicionamiento mejora la recuperación de la función ventricular sistólica y atenúa el aumento de la rigidez diastólica.

obtenida con un protocolo de preconditionamiento isquémico (Figura 1A). Estos hallazgos fueron reproducidos en nuestro laboratorio en corazones aislados de rata, en los que el poscondicionamiento isquémico redujo el área de infarto, pero en este caso en menor proporción que el preconditionamiento isquémico (datos no mostrados). Otros estudios también confirmaron estos resultados en diferentes especies como el ratón⁵ y el cerdo⁶. Una variable importante a considerar para obtener protección cuando se aplica un protocolo de poscondicionamiento isquémico es el algoritmo utilizado. Este algoritmo depende del tiempo después del cual la primera reoclusión es establecida, la duración y el número de reoclusiones y reperfusiones. En un modelo de rata nosotros mostramos una reducción significativa del tamaño de infarto, usando un algoritmo de 6 ciclos de isquemia/reperusión de 10 segundos cada uno. Otros investigadores han demostrado que el efecto benéfico sobre el infarto de miocardio se pierde si los ciclos se aplican 60 segundos después del inicio de la reperusión⁷. Es evidente que la reducción del tamaño de infarto depende de la "fuerza" del estímulo. Cortos o escasos ciclos son incapaces de reducir el tamaño de infarto; sin embargo, la protección aparece al incrementar el número de ciclos. El algoritmo también varía según la especie estudiada y su frecuencia cardíaca.

Pequeños animales con elevada frecuencia cardíaca, como la rata o el ratón, necesitan períodos cortos de isquemia/reperusión para activar la protección. Especies más grandes con menor frecuencia cardíaca, como el perro y el cerdo, necesitan ciclos más extensos. No está claro por qué existen estas diferencias, y es interesante la comprobación de que los estudios hechos en humanos muestran que los efectos benéficos se alcanzaron usando algoritmos similares a los usados en animales grandes.

Aunque no es posible identificar un algoritmo de poscondicionamiento "ideal", está claro que diferentes factores como la duración del período de isquemia, el número de ciclos realizados y otros, como género, edad y temperatura, contribuyen y/o modifican los resultados de los distintos estudios experimentales.

EFFECTO SOBRE EL ENDOTELIO VASCULAR

El endotelio vascular resulta dañado debido a la injuria por isquemia/reperusión. Una consecuencia de esto es menor respuesta vasodilatadora a la acetilcolina, la cual está relacionada con una menor

síntesis de óxido nítrico (NO)⁸. Además, bajo estas circunstancias, los neutrófilos son más propensos a adherirse al endotelio vascular, ya que la expresión de moléculas de adhesión (P-selectina) y la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) se encuentra incrementada. El poscondicionamiento isquémico disminuye la expresión de P-selectina y, por lo tanto, la adhesión de neutrófilos y acumulación de estas células inflamatorias en el área de riesgo⁹. Estos hallazgos sugieren que el poscondicionamiento isquémico atenúa la disfunción del endotelio vascular. Sin embargo, no está claro si esta reducción del proceso inflamatorio es un efecto beneficioso *per se* o simplemente es la consecuencia de la menor necrosis observada.

Al momento de evaluar el daño por isquemia/reperusión es importante tener en cuenta la presencia del fenómeno de *no reflujo*. Este concepto hace referencia a una limitación parcial al flujo de sangre en el momento de la reperusión, a pesar de revertir por completo la oclusión coronaria¹⁰. El mecanismo propuesto para explicar este fenómeno es multifactorial, y los estudios histológicos han demostrado diversos grados de vasoespasmo de pequeños vasos, lesiones endoteliales, formación de burbujas en el sarcolema de células endoteliales y agregación de neutrófilos en los capilares¹¹. En este sentido, Zhao et al. demostraron que el poscondicionamiento reduce el área de no reflujo y mejora el flujo coronario¹². El mecanismo por el cual el poscondicionamiento mejora la función endotelial estaría relacionado con un aumento en la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) neuronal y endotelial y en consecuencia a un aumento en la biodisponibilidad de NO. Sin embargo, en condiciones de hipercolesterolemia, el efecto beneficioso del poscondicionamiento isquémico se pierde, ya que el metabolismo del NO se encuentra gravemente alterado y, por lo tanto, el poscondicionamiento es incapaz de favorecer su síntesis¹².

EFFECTO SOBRE LA APOPTOSIS

Además de reducir el área de necrosis, algunos estudios sugieren que el poscondicionamiento isquémico podría atenuar la apoptosis que se produce durante la reperusión¹³. Por un lado, Tian et al. describieron que el poscondicionamiento isquémico reduce el número de células TUNEL positivas a través de la activación de la vía Stat3-JACK2 Bcl-2¹⁴. En el mismo sentido, Kin et al. demostraron que el poscondicionamiento reduciría la apoptosis miocárdica, disminuyendo la actividad de la caspasa-3 a través de la inhibición de los factores NF-kappa B y TNF- α ¹⁵. En tanto, Sun et al. mostraron, en un cultivo de

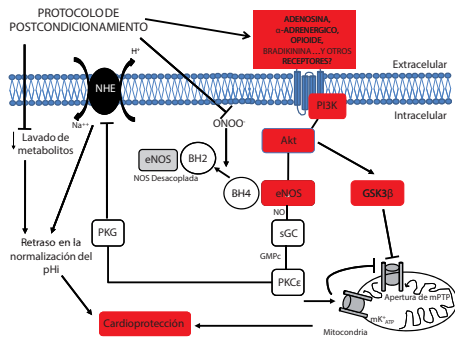


Figura 2. Esquema hipotético de las principales vías identificadas hasta ahora que podrían participar en el mecanismo del poscondicionamiento isquémico. El poscondicionamiento puede promover la acumulación o retrasar el lavado de diferentes mediadores (ligandos cardioprotectores extracelulares), cuya participación en el mecanismo de protección es necesaria. Se propone que ligandos tales como adenosina, radiquinina y sustancias opioides podrán tener la capacidad de actuar a través de receptores de membrana y activar múltiples quinasas intracelulares, que incluyen la vía de la PI3k/Akt. También existe evidencia que la activación de la enzima PKG puede ser parte del mecanismo de poscondicionamiento y esto puede estar por debajo de la vía Akt/NO/cGMP. La activación de Akt también induce la inhibición de la enzima GSK-3β, impidiendo la apertura del MPTP. Por otro lado, la apertura del canal mKATP, ha sido mencionada en algunos estudios farmacológicos, pero su rol específico aún es desconocido, aunque es posible que también participe inhibiendo la apertura de MPTP. Las flechas cortadas representan efectos inhibitorios, las flechas normales indican activación.

miocitos neonatales sometidos a 3 horas de hipoxia seguidas de 6 horas de reoxigenación, que el poscondicionamiento atenúa la tasa de apoptosis inhibiendo las señales JNK/P-38 y reduciendo la liberación de TNF y la expresión de la caspasa¹⁶.

Por otro lado, Penna et al.¹⁷ demostraron que el poscondicionamiento isquémico modula el nivel de diferentes quinasas implicadas en el mantenimiento de la integridad mitocondrial. El poscondicionamiento isquémico aumenta la fosforilación de la isoforma mitocondrial de la enzima GSK-3β, lo que conduce a una reducción en la liberación de citocromo C de la mitocondria y a una reducción en la actividad de la caspasa-3 intracelular, sugiriendo un efecto antiapoptótico.

La presencia de apoptosis en las áreas adyacentes al área de infarto ha sido descrita por varios autores^{18,19}. Sin embargo, su contribución al tamaño final del infarto sigue siendo controvertida. Algunos estudios indican que este tipo de muerte celular, aunque está presente en el miocardio reperfundido, sólo representa un pequeño porcentaje del total de células que mueren²⁰, mientras que en otros trabajos se observó que la interrupción de la apoptosis, usando inhibidores de caspasas, ha contribuido a atenuar el daño por isquemia/reperfusión²¹. Si bien se debe tener en cuenta que la actividad de la caspasa puede *per se* contribuir a la muerte por necrosis, estos resultados no descartan la posibilidad de que parte de la reducción en la extensión del infarto sea independiente de la inhibición de la apoptosis²². Por último, existen algunos estudios que discriminan el tipo de línea celular (miocitos, fibroblastos, células endoteliales, etc.) que muere por apoptosis. Por lo tanto, que el poscondicionamiento atenúe la tasa de apoptosis es un hallazgo interesante cuya relevancia debe ser tomada con cautela, particularmente en el contexto de infarto de miocardio.

EFEECTO SOBRE LA FUNCIÓN VENTRICULAR

El efecto de distintas estrategias cardioprotectoras (precondicionamiento isquémico y poscondicionamiento) sobre la recuperación de la función ventricular luego de un período de isquemia (miocardio aton-

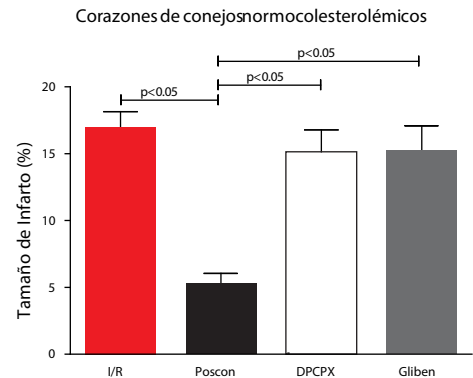


Figura 3. Se observa el efecto de las diferentes intervenciones sobre el tamaño del infarto en corazones de animales normocolesterolémicos. El tamaño del infarto se expresa como un porcentaje del área del ventrículo izquierdo. El poscondicionamiento reduce significativamente el tamaño del infarto, mientras que la administración de DPCPX (bloqueante selectivo de los receptores A1) y la glibenclamida (bloqueante de canales de K⁺-ATP dependientes) evitan este efecto.

tado) ha sido estudiado por diferentes autores. Cohen et al. trabajaron en conejos y describieron que el precondicionamiento reduce el tamaño de infarto y mejora la función ventricular durante la reperfusión²³. Sin embargo, este efecto beneficioso sobre la función ventricular sólo se observa a las 2 o 3 semanas luego del inicio de la reperfusión. Esto se explica ya que existen áreas de miocardio atontado adyacentes al área de infarto que se recuperan tardíamente y por lo tanto no permiten una evaluación precisa de la función ventricular. Este concepto también sería válido para el poscondicionamiento isquémico. Penna et al. han encontrado una mejoría en la función ventricular de corazones de rata aislados sometidos a 30 minutos de isquemia global, y describen que la misma está relacionada con la reducción del tamaño de infarto por el poscondicionamiento²⁴. Realizando un período más largo de isquemia con cardioplejía (90 minutos), Shinohara et al. mostraron que el poscondicionamiento promueve una mejoría en la recuperación de la función ventricular en cerdos²⁵. En el mismo sentido, Sasaki et al. mostraron que, en corazones de rata aislados sometidos a 20 minutos de isquemia global, el poscondicionamiento atenúa las arritmias que ocurren durante la reperfusión pero no mejora la recuperación de la función ventricular²⁶. En los experimentos realizados en nuestro laboratorio (datos no publicados) el poscondicionamiento, realizado en un modelo de corazón aislado atontado de conejo, mejoró significativamente la recuperación de la función ventricular sistólica y diastólica en la reperfusión (**Figura 1B y 1C**).

En conclusión, hay pocos estudios que evalúan la función ventricular en un modelo "puro" de miocardio atontado. Teniendo en cuenta que los resultados no son concluyentes, serían necesarios más estudios para definir cuál es el efecto del poscondicionamiento sobre la función ventricular.

MECANISMOS DEL POSTCONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO

Como hemos mencionado, en el año 2003, el Grupo Vinten-Johansen introdujo el concepto de poscondicionamiento isquémico³. En este estudio pionero, los mecanismos propuestos para la protección se atribuyeron inicialmente a una reducción de los efectos deletéreos de la lesión por reperfusión. Éstos estaban principalmente relacionados con el estrés oxidativo, la sobrecarga de calcio,

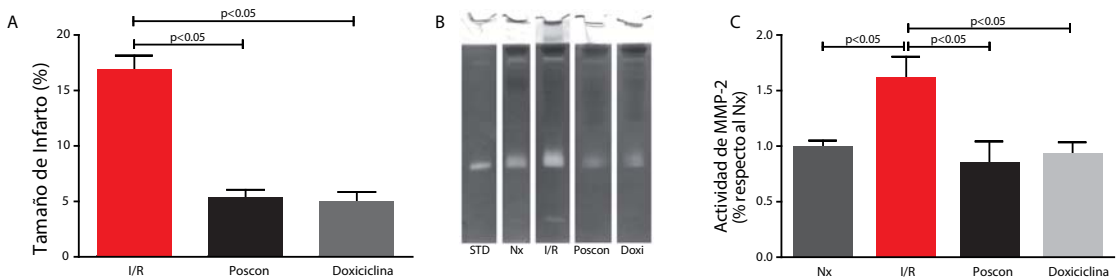


Figura 4. El panel A muestra el tamaño del infarto, expresado como porcentaje del área del ventrículo izquierdo. El área de infarto disminuyó significativamente en el grupo con poscondicionamiento isquémico y en el grupo tratado con doxiciclina (50 mM). En el panel B de la izquierda se observa un zimograma, representativo de la actividad gelatinolítica ventricular izquierda. En el panel C se observa el análisis densitométrico de la actividad gelatinolítica de MMP-2 en muestras tomadas en condiciones de normoxia (Nx), después de 30 minutos de isquemia y 2 minutos de la reperfusión (I/R), en los corazones sometidos a un protocolo de poscondicionamiento (Poscon) y en aquellos tratados con doxiciclina, respectivamente.

la mejora de la función endotelial, y la reducción del componente inflamatorio. Sin embargo, estudios posteriores demostraron que la protección está mediada por la activación de señales intracelulares, de las cuales muchas son compartidas con el preconditionamiento isquémico²⁷. Estas vías de señalización intracelular incluirían a receptores de proteína G acoplados a la membrana y serían activados por moléculas liberadas al espacio extracelular en el inicio de la reperfusión (Figura 2)²⁸. Nuestro grupo demostró la participación de los receptores A₁ de adenosina como disparadores del poscondicionamiento isquémico (Figura 3)⁴. En un estudio previo, Yang et al. habían mostrado que la adenosina participa en el mecanismo del poscondicionamiento²⁹. Sin embargo, el subtipo de receptor implicado en el poscondicionamiento es controversial, ya que Kin et al. mostraron la participación de los receptores A_{2A} y A₃ de adenosina en un modelo de isquemia/reperfusión *in vivo*, en ratas³⁰. Por otra parte, Philippe et al. demostraron que los receptores de A_{2b} adenosina serían los responsables de desencadenar la señal cardioprotectora³¹. Sin embargo, otros tipos de receptores de membrana también podrían estar involucrados en el mecanismo de protección del poscondicionamiento. En este sentido, nuestro grupo ha mostrado que el poscondicionamiento puede ser activado por receptores α 1-adrenérgicos, actuando sobre la vía Akt y GSK-3 β ³².

Por otra parte, la persistencia de un estado de acidosis durante la reperfusión también juega un papel importante en el mecanismo del poscondicionamiento³³ (Figura 2). En este sentido, ha sido mostrado que una recuperación lenta y progresiva del pH intracelular (pHi) en el inicio de la reperfusión previene la aparición y propagación de la hipercontractura³⁴ y la activación de calpaína, una proteasa dependiente de Ca⁺⁺³³. Tanto el poscondicionamiento como la reperfusión de un corazón isquémico con un *buffer* de pH ácido retrasan la normalización de pHi durante los primeros minutos de la reperfusión y reducen la muerte celular^{6,8}. Sin embargo, sólo el poscondicionamiento aumenta los niveles de GMPC, y la inhibición farmacológica de este mecanismo de señalización PKG/cGMP acelera la normalización de pHi durante la reperfusión y anula la protección conferida por el poscondicionamiento mientras que la protección conferida por la perfusión con el *buffer* ácido permanece sin cambios. Esto demuestra que existe una relación entre la vía de señalización de GMPC/PKG y la regulación de pHi en el inicio de la reperfusión^{35,36}. Además, diferentes estudios han demostrado que la enzima PKG inhibe al intercam-

biador Na⁺-H⁺ (NHE)^{12,13}. La activación de la PKG, a partir de un análogo de GMPC, inhibe al intercambiador Na⁺-H⁺ acidificando el medio intracelular¹⁴ prolongando el estado de acidosis. Por otro lado, la contribución de la acidosis intracelular a la cardioprotección conferida por el poscondicionamiento también está relacionada con la activación de la enzima Akt, la quinaasa regulada extracelularmente (ERK)^{37,38} y la inhibición de la apertura del poro de transición mitocondrial (MPTP), durante las primeras etapas de la reperfusión.

Como ya hemos mencionado, otros estudios describen la participación de la proteína quinaasa G (PKG) como posible mediador del efecto protector³⁹. La activación de la vía cGMP/PKG se desencadenaría a partir de la activación de la PI3K/Akt (Figura 2). Sin embargo, esto merece mayor estudio ya que un trabajo reciente sugiere que la fosforilación de estas quinasas durante la reperfusión no se asocia con una reducción en el tamaño de infarto⁴⁰ cuestionando su papel en la protección conferida por el poscondicionamiento. Como es conocido, al inicio de la reperfusión existe mayor formación de ROS, incluyendo el anión superóxido (O₂⁻). La formación de O₂⁻ se produce debido a una biodisponibilidad reducida de NO por aumento en la producción de peroxinitrito (ONOO⁻) y la oxidación de tetrahidrobiopterina (BH4). Siendo este un cofactor necesario para el acoplamiento de la NOS, el cual disminuye durante la isquemia/reperfusión. Dado que el poscondicionamiento impide una reperfusión brusca, podría reducir la concentración de ROS y aumentar la de NO por activación de la vía cGMP/PKG. Inserte et al.⁴¹ mostraron que la menor producción de O₂⁻ y/o ONOO⁻, al inicio de la reperfusión, limita la oxidación de BH4 y reduce el desacoplamiento de la eNOS. Por lo tanto, los niveles de NO por activación de la vía PKG/cGMP se incrementan (Figura 2).

El ONOO⁻ cumple un papel importante en diferentes patologías cardiovasculares tales como la lesión por isquemia/reperfusión⁴². Muchas enzimas, entre ellas la Na⁺/K⁺-ATPasa se inactivan y disminuyen su función por la exposición a ONOO⁻⁴³. Sin embargo, las metaloproteinasas de la matriz (MMP) son conocidas por ser activadas a partir de especies oxidantes incluyendo el ONOO⁻. Durante la isquemia/reperfusión, la MMP-2 se activa intracelularmente y es capaz de degradar la troponina I⁴⁴, la cadena liviana de la miosina I⁴⁵ y la α -actinina del citoesqueleto⁴⁶. En relación con esto, Giricz et al.⁴⁷ demostraron que la inhibición de la MMP-2 reduce el tamaño de infarto de manera similar al preconditionamiento isquémico. Nosotros observamos un efecto protector con doxiciclina (inhibidor de MMP) en el ta-

maño del infarto (**Figura 4A**) y también demostramos que el poscondicionamiento es capaz de inhibir la actividad de las MMP-2 en el inicio de la reperfusión en corazones de conejo aislados (**Figura 4C**)⁴⁸. Esto está de acuerdo con los resultados de Insete et al. que demostraron una menor producción de ONOO⁻⁴¹, el activador principal de MMP-2. Por lo tanto, el poscondicionamiento isquémico podría ejercer su efecto protector a partir de atenuar la actividad de la MMP-2 y prevenir el desacoplamiento de la eNOS, aumentando de los niveles de NO por la activación de la vía PKG/cGMP.

La activación de la PKG podría favorecer la apertura de canales de potasio mitocondrial (mKATP), posiblemente a través de la fosforilación de PKC-ε. En la misma forma que el preconditionamiento isquémico⁴⁹, se ha propuesto que existe un "enlace" entre la apertura de mKATP y la MPTP^{50,51}, lo que sugiere que los mKATP podrían ser mediadores del efecto cardioprotector del poscondicionamiento (**Figura 3**).

La apertura del MPTP se considera un acontecimiento clave en la muerte celular por isquemia/reperfusión⁵². Este episodio se ve favorecido por condiciones como la isquemia y la reperfusión, la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno, la depleción de ATP y, más específicamente, la acumulación de Ca²⁺ en la matriz mitocondrial⁵³. Sin embargo, la apertura de la MPTP durante la reperfusión puede ser regulada por la activación/inhibición de varias quinasas, incluyendo la GSK3-β^{54,55}. Otros autores⁵⁶ asociaron la activación de la enzima PI3K con el cierre del MPTP. Sin embargo, como ya hemos mencionado, la participación de estas señales en el mecanismo de poscondicionamiento debe ser reconsiderada⁴⁰.

POSCONDICIONAMIENTO Y COMORBILIDADES

El fenotipo de un paciente con alto riesgo de sufrir un infarto de miocardio es: sexo masculino, edad promedio de 65 años, y una combinación de comorbilidades que incluyen hipertensión arterial, síndrome metabólico, diabetes mellitus, hiperlipidemia y aterosclerosis, entre otros⁵⁷. Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados en laboratorios de investigación básica utilizan animales jóvenes y sanos, sin comorbilidades. Esto es interesante, ya que se ha descrito que algunas de las comorbilidades mencionadas pueden modificar la respuesta del corazón a los diferentes mecanismos de protección⁵⁸.

La presencia de hipertrofia ventricular izquierda constituye un factor de riesgo independiente que aumenta la morbimortalidad del paciente. En los pacientes con hipertrofia ventricular, el riesgo de infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca, muerte súbita y otros trastornos cardiovasculares se incrementa 6 veces⁵⁹. Sin embargo, hay pocos trabajos en los que se haya estudiado el efecto del poscondicionamiento en un modelo animal con hipertrofia ventricular. En este sentido, Penna et al. demostraron que la presencia de hipertrofia en un modelo de ratas, tratadas con nandrolona, aumenta la susceptibilidad del corazón a la lesión por isquemia/reperfusión y abole el efecto protector del poscondicionamiento en el tamaño del infarto⁶⁰. Por el contrario, Fantinelli et al. han descrito que la presencia de hipertrofia ventricular, en un modelo de rata SHR, no suprime los efectos beneficiosos del poscondicionamiento⁶¹.

La hipercolesterolemia es un hallazgo frecuente en los pacientes con enfermedad cardiovascular. Algunos estudios han demostrado que tanto el preconditionamiento isquémico como el poscondicionamiento se suprimen en los animales con hipercolesterolemia.

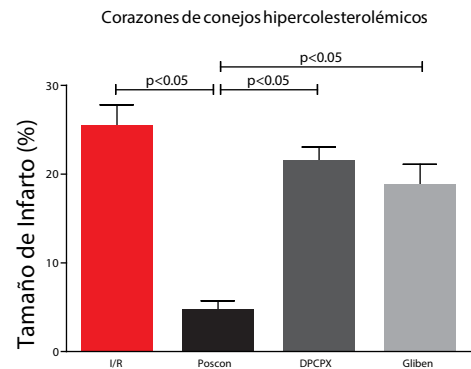


Figura 5. Se observa el efecto de las diferentes intervenciones sobre el tamaño del infarto en corazones de animales hipercolesterolémicos. El tamaño del infarto se expresa como un porcentaje del área del ventrículo izquierdo. El poscondicionamiento reduce significativamente el tamaño del infarto, mientras que la administración de DPCPX (bloqueante selectivo de los receptores A₁) y la glibenclamida (bloqueante de canales de K⁺ ATP dependientes) evitan este efecto.

Ilidromitis et al. describieron que la hipercolesterolemia provoca la abolición del efecto protector del poscondicionamiento, pero no del preconditionamiento⁶², mientras que Kupa et al. encontraron resultados similares en ratas que recibieron una dieta rica en colesterol al 2%, durante 12 semanas⁶³. Nuestro grupo demostró que el poscondicionamiento reduce el tamaño del infarto en conejos normales e hipercolesterolémicos (de 4 semanas de dieta enriquecida al 1% de colesterol), a través de la activación de los receptores A₁ de adenosina y los canales de KATP (**Figuras 3 y 5**)⁴. Es importante señalar que, en nuestro modelo experimental, los animales presentan disfunción endotelial que fue evaluada a través de la respuesta vasodilatadora a la acetilcolina, sin aterosclerosis.

La prevalencia de obesidad asociada a la diabetes mellitus (DM) se ha incrementado significativamente, sobre todo en los países desarrollados. La presencia de estas comorbilidades se asocia a un peor resultado en pacientes con enfermedad coronaria, aumentando el riesgo de complicaciones durante los procedimientos de revascularización (angioplastia y CABG). Además, la obesidad y la DM provocan daños por sí mismas en diferentes componentes celulares, principalmente a nivel mitocondrial⁶⁴. Es importante mencionar que la función mitocondrial es un factor importante que participa en la adaptación del miocardio a la isquemia. Por lo tanto, podría ser que en presencia de DM o de obesidad, la capacidad del miocardio para ser poscondicionado se encuentre abolida o reducida⁶⁵.

Una serie de estudios se han llevado a cabo para evaluar el efecto protector del poscondicionamiento en el miocardio de modelos animales con DM^{66,67}. La mayoría de los estudios mostraron que la diabetes interfiere con los mecanismos de protección de las intervenciones cardioprotectoras⁶⁸. La protección miocárdica por poscondicionamiento se consigue mediante la activación de múltiples vías de señalización, como la inhibición de la apertura del MPTP en la reperfusión a través de la fosforilación de la GSK-3β. Los defectos inducidos por la DM en las vías de señalización pueden ser diferentes dependiendo del modelo y/o la fase de DM^{68,69-70}. Przyklenk et al. demostraron una pérdida de la eficacia del poscondicionamiento en un modelo murino de DM tipo 1 y tipo 2, que se caracteriza por la incapacidad de re-

Tabla 1: Poscondicionamiento isquémico en pacientes sometidos a angioplastia o cirugía cardíaca.

Referencia	Demora (s)	Número de ciclos	Duración de los ciclos de isquemia/reperfusión (s)	Intervención	Resultados
Laskey WK et al. ⁷²	180	2	90/180	Angioplastia	Mejoría en la resolución del segmento ST, la reserva de flujo coronario y menor concentración sérica CPK.
Staat P et al. ⁷³	60	4	60/60	Angioplastia	Reducción del área bajo la curva de CPK y mejoría del <i>blush grade</i> .
Darling CE et al. ⁷⁴	30	6	25/25	Angioplastia	Reducida liberación de CPK.
Zhao et al. ⁸⁶	30	3	30/30	Angioplastia	Reducción del área bajo la curva de CPK e incremento de la fracción de eyección.
Luo et al. ⁸⁷	30	3	30/30	Cardioplegia en cirugía cardíaca	Reducido pico de CPKmb. Reducido requerimiento de inotrópicos.
Thibault et al. ⁸⁸	60	4	60/60	Angioplastia	Reducida liberación de CPK y troponina I. Incremento de la fracción de eyección.
Luo et al. ⁸⁹	30	2	30/30	Cardioplegia en cirugía cardíaca	Reducida liberación de CPK y troponina I.
Ma et al. ⁹⁰	60	3	30/30	Angioplastia	Rápido CTFC y mejor WMSI. Reducido pico de CPK, CK-MB y MDA. Mejoría en la vasodilatación dependiente del endotelio.

CTFC: TIMI frame count corregido. WMSI: score de motilidad de la pared. MDA: malondialdehído. Demora: tiempo desde el final de la isquemia hasta el inicio del protocolo de poscondicionamiento.

ducir el tamaño del infarto y la no regulación positiva de la fosforilación de ERK⁷¹. Sin embargo, Oosterlinck et al. mostraron que el efecto cardioprotector de poscondicionamiento se mantuvo en ratones C57BL/6J después de 10 semanas de infarto de miocardio⁶⁶. Así, más estudios utilizando comorbilidades son necesarios para determinar si la presencia de las mismas atenúa los efectos beneficiosos del poscondicionamiento isquémico.

APLICACIONES CLÍNICAS DEL POSCONDICIONAMIENTO

La principal razón para estudiar los mecanismos intracelulares de diferentes estrategias cardioprotectoras es la posibilidad de aplicarlos en los seres humanos. En este sentido, los estudios clínicos sobre el poscondicionamiento han aumentado en los últimos años, pero ellos son pequeños con resultados inconsistentes. En estos trabajos, los autores utilizaron diferentes puntos finales para definir el efecto biológico potencial del poscondicionamiento: a) la evaluación de enzimas miocárdicas, b) la medición del flujo coronario por angiografía, c) la evaluación de la función ventricular izquierda, d) el tamaño de infarto y e) la incidencia de eventos cardíacos adversos durante el seguimiento (**Tabla 1**).

Laskey et al. describieron que el poscondicionamiento atenúa la elevación del segmento ST y el pico de CPK plasmática, en pacientes sometidos a angioplastia percutánea, en comparación con los que recibieron un procedimiento estándar⁷². De la misma manera, Staat et al. realizaron un estudio en 37 pacientes citados para la angioplastia percutánea primaria⁷³. Aquellos pacientes que alcanzaron un grado de flujo TIMI 2-3 fueron asignados al azar para recibir un procedimiento de angioplastia estándar o un protocolo de poscondicionamiento con 4 ciclos de 1 minuto. Estos autores demostraron que el área de CPK-MB bajo la curva se redujo significativamente en aquellos pacientes que recibieron el protocolo de poscondicionamiento. En concordancia con estos hallazgos, Darling et al. estudiaron una población más heterogénea de pacientes diagnosticados con STEMI, flujo TIMI 0-1, y con lesión de un único vaso sanguíneo que fueron sometidos a angioplastia primaria⁷⁴. También encontraron una disminución en la liberación de CPK, aunque solo en los pacientes que recibieron 4

o más ciclos de "inflación"/"desinflación" durante la angioplastia, en comparación con aquellos que recibieron entre 1-3 ciclos.

Pocos estudios evaluaron el efecto del poscondicionamiento sobre el fenómeno de no reflujo⁷⁵. Mewton et al.⁷⁶ estudiaron pacientes con elevación del ST mayor a 0,1 mV en dos derivaciones continuas que fueron sometidos a angioplastia primaria. Las áreas de infarto y de no reflujo fueron medidas usando resonancia magnética con gadolinio. Este estudio aleatorizado demostró que el poscondicionamiento realizado durante la angioplastia (4 ciclos de 1 minuto cada uno), aplicado en pacientes con STEMI, logró una reducción significativa del no reflujo. A su vez, este efecto protector se asoció con una reducción en el tamaño del infarto.

Analizando los diferentes estudios en Fase 2 realizados hasta la fecha, nueve han confirmado una reducción significativa de la liberación de CPKmb o de troponina en pacientes sometidos a angioplastia y poscondicionamiento, en comparación con los que recibieron el tratamiento convencional^{77,78}. Un estudio demostró un beneficio sostenido durante 6 meses después del infarto, el cual se evidencia a través de una mejoría progresiva de la fracción de eyección⁷⁹.

Wei et al. realizaron un metaanálisis para investigar la evidencia actual que existe sobre el poscondicionamiento en pacientes sometidos a angioplastia primaria⁸⁰. Analizaron trece estudios que compararon al poscondicionamiento con el procedimiento habitual. Los autores concluyeron que el poscondicionamiento presenta un efecto protector sobre el corazón isquémico, particularmente en pacientes con elevación del segmento ST. En un metaanálisis similar que incluye 10 ensayos aleatorios con 560 pacientes, se observó que el poscondicionamiento realizado durante la angioplastia reduce el tamaño de infarto y mejora la fracción de eyección en pacientes con STEMI. Tales efectos beneficiosos fueron más significativos en las personas jóvenes del sexo femenino o cuando se utilizaron las técnicas de colocación de stents directos⁸¹. La técnica de *stent* directo ha presentado una incidencia más baja de microémbolos⁸²⁻⁸⁴ con lo cual su utilización podría eliminar la posible microembolización inducida por el poscondicionamiento.

A pesar de que los resultados son prometedores, debemos ser cautelosos porque los estudios en pacientes presentan diferencias sustan-

ciales con aquellos realizados en animales de laboratorio, particularmente debido a diferencias en la circulación colateral y en las zonas de riesgo. En consecuencia, todos estos hallazgos deben ser corroborados con más estudios clínicos que se realicen con mayor cantidad de pacientes. Sus resultados deberían responder a algunas de las siguientes preguntas: a) ¿El efecto beneficioso del poscondicionamiento persiste en pacientes con enfermedad coronarias y comorbilidades?, b) ¿Se traduce el efecto del poscondicionamiento en una mejora de la función ventricular, remodelado ventricular y esperanza de vida de los pacientes?, c) ¿Es una estrategia que podría ser utilizada en todos los pacientes con infarto agudo de miocardio?

Esperemos que los resultados del estudio en fase 3 DANAMI-3 (DANish Study of Optimal Acute Treatment of Patients With ST-elevation Myocardial Infarction. ClinicalTrials.gov identificador: NCT01435408)⁸⁵ que se está desarrollando actualmente pueda responder algunas de estas preguntas críticas.

CONCLUSIONES

A pesar de los avances que se han logrado en las últimas décadas en cuanto al conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos que con-

ducen al daño por isquemia/reperfusión, algunos resultados siguen siendo controvertidos y todavía se desconocen mucho de los factores implicados.

Distintos tipos de intervenciones (farmacológicas o mecánicas) aplicadas durante la reperfusión precoz han demostrado que es posible reducir el tamaño de infarto. Entre ellas, el poscondicionamiento isquémico, el cual representa una maniobra mecánica que, aplicada en los primeros minutos de la reperfusión, reduce el tamaño del infarto, la tasa de apoptosis y atenúa la disfunción endotelial. De esta manera, el tratamiento del daño ocasionado por isquemia/reperfusión con un protocolo de poscondicionamiento podría ser una oportunidad para disminuir la muerte celular, y en consecuencia mejorar el pronóstico de los pacientes con infarto de miocardio sometido a reperfusión. Sin embargo, es necesaria una investigación intensa para poder trasladar estos conocimientos a la práctica clínica en pacientes con infarto agudo de miocardio.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Buenos Aires: este trabajo fue apoyado por Grant (UBACYT B069), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (05 / PICT13069; 06 / PICT01071).

BIBLIOGRAFÍA

- Gibbons RJ, Valeti US, Araoz PA, Jaffe AS. The quantification of infarct size. *J Am Coll Cardiol* 2004;19, 44:1533-1542.
- Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ. Heart Disease and Stroke Statistics—2013 Update A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2014 Jan 21;129(3):e28-e292.
- 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(2):H579-588.
- 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; 49:287-292.
- Gomez L, Thibault H, Gharib A, Dumont JM, Vuagniaux G, Scalfaro P, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition improves functional recovery and reduces mortality following acute myocardial infarction in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293:H1654-1661.
- 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:H1011-1018.
- Skyschally A, van Caster P, Iliodromitis EK, Schulz R, Kremastinos DT, Heusch G. Ischemic postconditioning: experimental models and protocol algorithms. *Basic Res Cardiol* 2009; 104:469-483.
- Engelman DT, Watanabe M, Engleman RM, Rousou JA, Flack JE 3rd, Deaton DW, et al. Constitutive nitric oxide release is impaired after ischemia and reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110:1047-1053.
- 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(1):74-85.
- Schwartz BG, Kloner RA. Coronary no reflow. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 52:873-882.
- Reffelmann T, Kloner RA. The no-reflow phenomenon: A basic mechanism of myocardial ischemia and reperfusion. *Basic Res Cardiol* 2006; 101:359-372.
- 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(2):137-142.
- Sun HY, Wang NP, Halkos M, Kerendi F, Kin H, Guyton RA, et al. Postconditioning attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Apoptosis* 2006;11(9):1583-1593.
- Tian Y, Zhang W, Xia D, Modi P, Liang D, Wei M. Postconditioning inhibits myocardial apoptosis during prolonged reperfusion via a JAK2-STAT3-Bcl-2 pathway. *J Biomed Sci* 2011;2:18-53.
- Kin H, Wang NP, Mykytenko J, Reeves J, Deneve J, Jiang R, et al. Inhibition of myocardial apoptosis by postconditioning is associated with attenuation of oxidative stress-mediated nuclear factor-kappa B translocation and TNF alpha release. *Shock* 2008;29:761-768.
- Sun HY, Wang N, Halkos M, Kerendi F, Kin H, Guyton RA, et al. Postconditioning attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Apoptosis*, 2006;11(9):1583-1593.
- Penna C, Perrelli MG, Tullio F, Angotti C, Camporeale A, Poli V, et al. Diazoxide postconditioning induces mitochondrial protein S-Nitrosylation and a redox-sensitive mitochondrial phosphorylation/translocation of RISK elements: no role for SAFE. *Basic Res Cardiol*. 2013;108(5):371.
- Anversa P, Cheng W, Liu Y, Leri A, Redaelli G, Kajstura J. Apoptosis and myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* 1998; 93:8-12.
- Rodriguez M, Lucchesi BR, Schaper J. Apoptosis in myocardial infarction. *Ann Med* 2002;34(6):470-479.
- Yaoita H, Ogawa K, Maehara K, Maruyama Y. Apoptosis in relevant clinical situations: contribution of apoptosis in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2000; 45(3):630-641.
- Garg S, Hofstra L, Reutelingsperger C, Narula J. Apoptosis as a therapeutic target in acutely ischemic myocardium. *Curr Opin Cardiol* 2003;18(5):372-377.
- Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Myocardial apoptosis and ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2002; 55:438-455.
- Cohen MV, Yang XM, Neumann T, Heusch G, Downey JM. Favorable remodeling enhances recovery of regional myocardial function in the weeks after infarction in ischemically preconditioned hearts. *Circulation* 2000;102(5):579-583.
- Penna C, Tullio F, Merlino A, Moro F, Raimondo S, Rastaldo R, et al. Postconditioning cardioprotection against infarct size and post-ischemic systolic dysfunction is influenced by gender. *Basic Res Cardiol* 2009;104(4):390-402.

25. Shinohara G, Morita K, Nagahori R, Koh Y, Kinouchi K, Abe T, et al. Ischemic postconditioning promotes left ventricular functional recovery after cardioplegic arrest in an in vivo piglet model of global ischemia reperfusion injury on cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;142(4):926-932.
26. Sasaki H, Shimizu M, Ogawa K, Okazaki F, Taniguchi M, Taniguchi I, et al. Brief ischemia-reperfusion performed after prolonged ischemia (ischemic postconditioning) can terminate reperfusion arrhythmias with no reduction of cardiac function in rats. *Int Heart J* 2007;48(2):205-213.
27. Bell RM, Yellon DM. Conditioning the whole heart-not just the cardiomyocyte. *J Mol Cell Cardiol* 2012;53:24-32.
28. Ovize 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(3):406-423.
29. Yang XM, Philipp S, Downey JM, Cohen MV. Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation. *Basic Res Cardiol* 2005;100(1):57-63.
30. 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(1):124-133.
31. Philipp S, Yang XM, Cui L, Davis AM, Downey JM, Cohen MV. Postconditioning protects rabbit hearts through a protein kinase C-adenosine A2b receptor cascade. *Cardiovasc Res* 2006;70(2):308-314.
32. Buchholz B, D'Annunzio V, Giani JF, Siachoque N, Dominici FP, Turyn D, et al (2014) Ischemic postconditioning reduces infarct size through the α -1 adrenergic receptor pathway. *J Cardiovasc Pharmacol. J Cardiovasc Pharmacol* 2014;63(6):504-11.
33. Inserte J, Barba I, Hernando V, Garcia-Dorado D. Delayed recovery of intracellular acidosis during reperfusion prevents calpain activation and determines protection in postconditioned myocardium. *Cardiovasc Res* 2009;81(1):116-22.
34. Schäfer C, Ladilov Y, Siegmund B, Piper HM. Importance of bicarbonate transport for protection of cardiomyocytes against reoxygenation injury. *Am J Physiol* 2000;278(5):H1457-H1463.
35. Penna C, Cappello S, Mancardi D, Raimondo S, Rastaldo R, Gattullo D, et al. Postconditioning reduces infarct size in the isolated rat heart: role of coronary flow and pressure and the nitric oxide/cGMP pathway. *Basic Res Cardiol* 2006;101(2):168-79.
36. 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(5):1103-10.
37. Fujita M, Asanuma H, Hirata A, Wakeno M, Takahama H, Sasaki H, et al. Prolonged transient acidosis during early reperfusion contributes to the cardioprotective effects of postconditioning. *Am J Physiol* 2007;292(4):H2004-H2008.
38. 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;95:230-232.
39. Inserte J, Barba I, Poncelas-Nozal M, Hernando V, Agulló L, Ruiz-Meana M, et al. cGMP/PKG pathway mediates myocardial postconditioning protection in rat hearts by delaying normalization of intracellular acidosis during reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2011;50(5):903-909.
40. Skyschally A, van Caster P, Boengler K, Gres P, Musiolik J, Schilawa D, et al. Ischemic postconditioning in pigs: no causal role for RISK activation. *Circ Res* 2009;104(1):15-18.
41. Inserte J, Hernando V, Vilardosa U, Abad E, Poncelas-Nozal M, Garcia-Dorado D. Activation of cGMP/protein kinase G pathway in postconditioned myocardium depends on reduced oxidative stress and preserved endothelial nitric oxide synthase coupling. *J Am Heart Assoc* 2013;2(1):e005975.
42. Wang W, Sawicki G, Schulz R. Peroxynitrite-induced myocardial injury is mediated through matrix metalloproteinase-2. *Cardiovasc Res* 2002;53(1):165-174.
43. Singh RB, Hryshko L, Freed D, Dhalla NS. Activation of proteolytic enzymes and depression of the sarcolemmal Na⁺/K⁺-ATPase in ischemia-reperfused heart may be mediated through oxidative stress. *Can J Physiol Pharmacol* 2012;90(2):249-260.
44. Rork TH, Hadzimichalis NM, Kappil MA, Merrill GF. Acetaminophen attenuates peroxynitrite-activated matrix metalloproteinase-2-mediated tropoin I cleavage in the isolated guinea pig myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2006;40(4):553-561.
45. Sawicki G, Leon H, Sawicka J, Sariahmetoglu M, Schulze CJ, Scott PG, et al. Degradation of myosin light chain in isolated rat hearts subjected to ischemia-reperfusion injury: a new intracellular target for matrix metalloproteinase-2. *Circulation* 2005;112(4):544-552.
46. Sung MM, Schulz CG, Wang W, Sawicki G, Bautista-López NL, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 degrades the cytoskeletal protein alpha-actinin in peroxynitrite mediated myocardial injury. *J Mol Cell Cardiol* 2007;43(4):429-36.
47. Giricz Z, Lalu MM, Csonka C, Bencsik P, Schulz R, Ferdinandy P. Hyperlipidemia attenuates the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning: role of matrix metalloproteinase-2 inhibition. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;316(1):154-161.
48. Donato M, D'Annunzio V, Buchholz B, Miksztovcz V, Carrión CL, Valdez LB, et al. Role of matrix metalloproteinase-2 in the cardioprotective effect of ischaemic postconditioning. *Exp Physiol* 2010;95(2):274-281.
49. Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion-a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004;61(3):372-385.
50. Penna C, Perrelli MG, Pagliaro P. Mitochondrial pathways, permeability transition pore, and redox signaling in cardioprotection: therapeutic implications. *Antioxid Redox Signal* 2013;18(5):556-599.
51. Myktyenko J, Reeves JG, Kin H, Wang NP, Zatta AJ, Jiang R, et al. Persistent beneficial effect of postconditioning against infarct size: role of mitochondrial K (ATP) channels during reperfusion. *Basic Res Cardiol* 2008;103(5):472-484.
52. Javadov S, Karmazyn M. Mitochondrial permeability transition pore opening as an endpoint to initiate cell death and as a putative target for cardioprotection. *Cell Physiol Biochem* 2007;20:1-22.
53. Gomez L, Paillard M, Thibault H, Derumeaux G, Ovize M. Inhibition of GS-K3beta by postconditioning is required to prevent opening of the mitochondrial permeability transition pore during reperfusion. *Circulation* 2008;117(21):2761-2768.
54. Hausenloy DJ, Ong SB, Yellon DM. The mitochondrial permeability transition pore as a target for preconditioning and postconditioning. *Basic Res Cardiol* 2009;104:189-202.
55. Argaud L, Gateau-Roesch O, Raïsky O, Loufouat J, Robert D, Ovize M. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* 2005;111(2):194-197.
56. Bopassa JC, Ferrera R, Gateau-Roesch O, Couture-Lepetit E, Ovize M. PI 3-kinase regulates the mitochondrial transition pore in controlled reperfusion and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006;69(1):178-185.
57. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S Jr, Fuster V. Assessment of Cardiovascular Risk by Use of Multiple-Risk-Factor Assessment Equations. *Circulation* 1999;100(13):1481-1492.
58. Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol Rev* 2007;59(4):418-458.
59. Messerli FH, Grossman E. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: an update. *Hypertension* 2001;38(3):E11.
60. Penna C, Tullio F, Perrelli MG, Moro F, Abbadessa G, Piccione F, et al. Ischemia/reperfusion injury is increased and cardioprotection by a postconditioning protocol is lost as cardiac hypertrophy develops in nandrolone treated rats. *Basic Res Cardiol* 2011;106(3):409-420.
61. Fantinelli JC, Mosca SM. Comparative effects of ischemic pre and postconditioning on ischemia-reperfusion injury in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Mol Cell Biochem* 2007;296:45-51.
62. Iliodromitis EK, Zoga A, Vrettou A, Andreadou I, Paraskevaïdis IA, Kaklamanis L, et al. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits. *Atherosclerosis* 2006;188(2):356-362.
63. Kupai K, Csonka C, Fekete V, Odendaal L, van Rooyen J, Marais de W, et al. Cholesterol diet-induced hyperlipidemia impairs the cardioprotective effect of postconditioning: role of peroxynitrite. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297(5):H1729-1735.
64. Sack MN. Type 2 diabetes, mitochondrial biology and the heart. *J Mol Cell Cardiol* 2009;46:842-849.
65. Xu J, Wu Y, Song P, Zhang M, Wang S, Zou MH. Proteasome-dependent degradation of guanosine 5'-triphosphate cyclohydrolase I causes tetrahydrobiopterin deficiency in diabetes mellitus. *Circulation* 2007;116:944-953.
66. Oosterlinck W, Dresselaers T, Geldhof V, Nevelsteen I, Janssens S, Himmelfreich U, et al. Diabetes mellitus and the metabolic syndrome do not abolish, but might reduce, the cardioprotective effect of ischemic postconditioning. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2013;145(6):1595-1602.
67. Ren JY, Song JX, Lu MY, Chen H. Cardioprotection by ischemic postconditioning is lost in isolated perfused heart from diabetic rats: Involvement of transient receptor potential vanilloid 1, calcitonin gene-related peptide and substance P. *Regul Pept* 2011;169:49-57.
68. Miki T, Itoh T, Sunaga D, Miura T. Effects of diabetes on myocardial infarct size and cardioprotection by preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Diabetol* 2012;11:67.

69. Ovize 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;87:406-423.
70. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301(5): H1723-H1741.
71. Przyklenk K, Maynard M, Greiner DL, Whittaker P. Cardioprotection with postconditioning: loss of efficacy in murine models of type-2 and type-1 diabetes. *Antioxid Redox Signal* 2011;14(5):781-790.
72. 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;72:212-220.
73. Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005; 112:2143-2148.
74. 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(3):274-278.
75. Skyschally A, Walter B, Heusch G. Coronary microembolization during early reperfusion: infarct extension, but protection by ischaemic postconditioning. *Eur Heart J*. 2013;34(42):3314-21.
76. Newton N, Thibault H, Roubille F, Lairez O, Rioufol G, Sportouch C, et al. Postconditioning attenuates no-reflow in STEMI patients. *Basic Res Cardiol* 2013; 108(6):383.
77. Heusch G. Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic. *Lancet*. 2013; 381: 166-75.
78. Ovize M, Thibault H, Przyklenk K. Myocardial conditioning: opportunities for clinical translation. *Circ Res*. 2013; 113: 439-50.
79. Sörensson P, Rydén L, Saleh N, Tornvall P, Arheden H, Pernow J. Long-term impact of postconditioning on infarct size and left ventricular ejection fraction in patients with ST-elevation myocardial infarction. *BMC Cardiovasc Disord*. 2013;13: 22.
80. Wei Y, Ruan L, Zhou G, Zhao L, Qi B, Ouyang P, et al. Local ischemic postconditioning during primary percutaneous coronary intervention: a meta-analysis. *Cardiology* 2012;123(4):225-233.
81. Zhou C, Yao Y, Zheng Z, Gong J, Wang W, Hu S, et al. Stenting technique, gender, and age are associated with cardioprotection by ischaemic postconditioning in primary coronary intervention: a systematic review of 10 randomized trials. *Eur Heart J*. 2012;33(24): 3070-7.
82. Loubeyre C, Morice MC, Lefevre T, Piéchaud JF, Louvard Y, Dumas P. A randomized comparison of direct stenting with conventional stent implantation in selected patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2002;39(1):15-21.
83. Heusch G. Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic. *Lancet*. 2013; 381: 166-75.
84. Ovize M, Thibault H, Przyklenk K. Myocardial conditioning: opportunities for clinical translation. *Circ Res*. 2013; 113: 439-50.
85. DANish Study of Optimal Acute Treatment of Patients With ST-elevation Myocardial Infarction; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01435408.
86. Zhao CM, Yang XJ, Yang JH, Cheng XJ, Zhao X, Zhou BY, et al. Effect of ischemic postconditioning on recovery of left ventricular contractile function after acute myocardial infarction. *J Int Med Res* 40(3):1082-1088.
87. Luo W, Li B, Lin G, Chen R, Huang R. Does cardioplegia leave room for postconditioning in paediatric cardiac surgery? *Cardiol Young* 2008;18(3):282-287.
88. Thibault H, Piot C, Staat P, Bontemps L, Sportouch C, Rioufol G, et al. Long-term benefit of postconditioning. *Circulation* 2008;117(8):1037-104.
89. Luo W, Li B, Chen R, Huang R, Lin G. Effect of ischemic postconditioning in adult valve replacement. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;33(2):203-208.
90. Ma XJ, Yin HJ, Guo CY, Jiang YR, Wang JS, Shi DZ. Ischemic postconditioning through percutaneous transluminal coronary angioplasty in pigs: roles of PI3K activation. *Coron Artery Dis* 2012; 23(4):245-250.