

**ARTÍCULO DE REVISIÓN**

Vol. 36. No. 4 Octubre-Diciembre 2013
pp 294-305

La función mitocondrial y la cardioprotección

Dr. Pastor Luna-Ortiz,* Dr. Mohammed El-hafidi,** Dr. Martín Martínez-Rosas***

* Departamento de Farmacología.

** Departamento de Biomedicina Cardiovascular.

*** Departamento de Fisiología.

Instituto Nacional de Cardiología «Ignacio Chávez».

Solicitud de sobretiros:

Dr. Martín Martínez-Rosas

Departamento de Fisiología.

Instituto Nacional de Cardiología «Ignacio Chávez».

Juan Badiano Núm. 1, Col. Sección XVI, 14080,

Del. Tlalpan, México, D.F.

E-mail: martin5163@hotmail.com

Recibido para publicación: 25-08-13.

Aceptado para publicación: 07-10-13.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en

<http://www.medigraphic.com/rma>

RESUMEN

Las mitocondrias son organelos celulares que juegan un importante papel en la producción de energía. Además de esta función central, las mitocondrias están íntimamente involucradas en los procesos de necrosis y apoptosis que ocurren después de la reperfusión miocárdica. Por su participación en la muerte celular en el daño isquémico, las mitocondrias pueden considerarse como blancos terapéuticos potenciales en las estrategias de cardioprotección. En esta revisión se consideran varios aspectos de la función mitocondrial que constituyen posibles blancos para la protección miocárdica. Uno de estos elementos potenciales son los canales iónicos mitocondriales del corazón, en particular los canales de K⁺ dependientes del trifosfato de adenosina que median la protección miocárdica por el preacondicionamiento de isquemia. Otro elemento más es la modulación del transporte de Ca²⁺ mitocondrial mediante fármacos que producen finalmente cardioprotección. El poro de transición de la permeabilidad de la membrana mitocondrial es otro de los elementos que participa en la muerte celular al activarse y puede ser inhibido con ciertos fármacos. Finalmente, el aporte mejorado de sustratos a la mitocondria es otra estrategia de cardioprotección. Todos estos procesos protectores son activados por rutas de señalización en las células cardíacas, las cuales convergen en la mitocondria; estas rutas pueden ser estimuladas por fármacos como los anestésicos que, como se sabe, presentan efectos cardioprotectores. Actualmente se tiene la certeza de que el mejor entendimiento de los aspectos de la función mitocondrial pueden llevar a desarrollar mejores estrategias de protección miocárdica en el futuro.

Palabras clave: Mitocondria, canales iónicos, isquemia-reperfusión, cardioprotección.

SUMMARY

Mitochondria play an important role in energy metabolism within the cell. Also are known to be intimately involved in the processes that lead to cell death following reperfusion, in both necrotic and apoptotic forms of cell death, and so are potential targets for protective interventions. In this review, we consider several aspect of mitochondrial function that we believe to be possible targets for myocardial protection; namely, roles of the mitochondrial ion channels in the heart with particular emphasis on cardioprotection against ischemia/reperfusion injury, mitochondrial Ca²⁺ transport, the permeability transition pore, and improved mitochondrial substrate supply. These protective processes are activated by signaling pathways, which converge on mitochondria; these pathways can also be stimulated by pharmacological treatments like some anesthetics with cardioprotective effects. Finally, we describe how improved understanding of the aspects of mitochondrial function may lead to better protective strategies in the future.

Key words: Mitochondria, ion channels, ischemia-reperfusion, cardioprotection.

INTRODUCCIÓN

Las mitocondrias desempeñan un papel muy importante en el metabolismo energético de las células y también están relacionadas en la regulación de la vida y la muerte celular determinada por la apoptosis y la necrosis. Hasta hace poco tiempo se consideraba que la principal función de la mitocondria estaba limitada a la producción de energía en forma de adenosina trifosfato (ATP); sin embargo, recientemente se ha descrito un nuevo papel para este organelo dentro del proceso de la muerte celular programada (apoptosis) actuando de reservorio de proteínas apoptóticas como el citocromo C, el factor de inducción de apoptosis (FIA) y las procaspasas. Por otra parte, aunque se ha investigado el papel fisiológico de los canales iónicos en la membrana interna mitocondrial, aún no se conoce con exactitud su participación. En este sentido, se cree que los canales de K⁺ operan para regular el volumen mitocondrial⁽¹⁾ pero es difícil confirmar *in vivo* esta función⁽²⁾. El aumento y la disminución de volumen de las mitocondrias han sido propuestos como moduladores de la cantidad de oxidación de sustratos bajo condiciones normóxicas⁽³⁾, por lo que puede ser un factor importante para determinar la extensión de la lesión durante la isquemia y la reperfusión⁽⁴⁾. El papel fisiológico de los canales iónicos mitocondriales puede estar relacionado con la regulación del balance óxido-reducción, el cual es un mecanismo de señalización intracelular muy importante de transcripción, traducción, cascada de fosforilación y muerte celular, lo que coloca a los canales iónicos mitocondriales en una posición central en la activación de las vías que llevan a la necrosis y apoptosis.

ESTRUCTURA MITOCONDRIAL

Las mitocondrias presentan una estructura con dos compartimentos bien definidos –la matriz mitocondrial y el espacio intermembranal– delimitados por dos membranas –la interna y la externa– con características morfológicas, funcionales y de permeabilidad muy diferentes (Figura 1). La membrana interna se caracteriza morfológicamente por presentar unas invaginaciones (crestas) con multitud de complejos enzimáticos y proteínas que regulan el paso de metabolitos. Esta membrana resulta especialmente impermeable a iones, debido a su alto contenido en el fosfolípido cardiolipina y a la gran cantidad de bombas y transportadores específicos (como el translocador de nucleótidos de adenina (ANT)). Por el contrario, la membrana externa carece de crestas, por lo que en condiciones fisiológicas su permeabilidad es menos selectiva gracias a la presencia de una proteína denominada porina o canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC), que permite el paso de iones y metabolitos con pesos moleculares inferiores a 6,000 Da (Figura 1).

El papel principal de las mitocondrias es el de abastecer de energía a la célula ya que en su interior tiene lugar la fosfori-

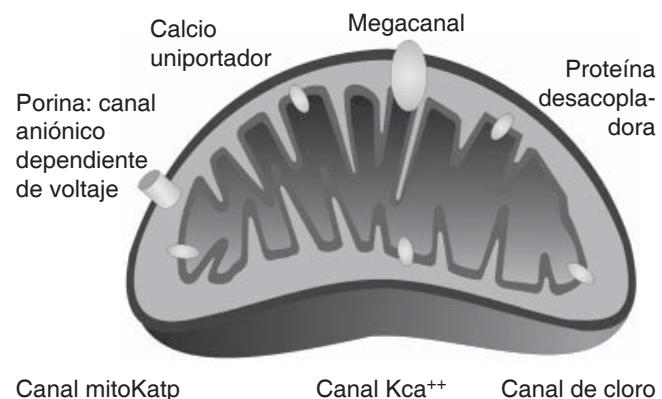


Figura 1. Canales iónicos mitocondriales.

lación oxidativa donde se genera un gran poder reductor. Esto se lleva a cabo mediante una serie de complejos enzimáticos: I, II, III y IV que forman la cadena transportadora de electrones. Estos complejos generan un gradiente electroquímico sobre la membrana interna mitocondrial mediante el paso de protones hacia el espacio intermembranal. Este gradiente es convertido en energía por la enzima ATP sintasa (o complejo V) en forma de moléculas de ATP. Los electrones son llevados de los complejos I y II al complejo III por la coenzima Q, y del complejo III al complejo IV por el citocromo C. La oxidación y la fosforilación están estrechamente acopladas en las mitocondrias del corazón normal, así que el transporte de electrones sólo puede ocurrir si el ADP (adenosín difosfato) es fosforilado. Cuando el corazón sufre una lesión isquémica se presenta la lesión irreversible, especialmente cuando el corazón isquémico es reperfundido, lo que se caracteriza por la aparición de precipitados de calcio en la matriz mitocondrial. Está bien demostrado que la isquemia afecta a las mitocondrias a través de la alteración del metabolismo energético mientras que la reperfusión causa lesión adicional con edema mitocondrial por deterioro de la homeostasis del calcio intracelular. La sobrecarga de calcio intracelular produce la activación de una variedad de enzimas, incluyendo calpaínas, fosfolipasas y proteíncinasas, las cuales, en conjunto, generan en las mitocondrias una señal que lleva a la apertura de un megacanal o poro en la membrana interna de la mitocondria llamado: poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (mPTP, por sus siglas en inglés), el cual es responsable de generar la cascada apoptótica que lleva rápidamente a la muerte celular.

GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO

La disfunción mitocondrial lleva a la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs), las cuales, por ser radicales libres derivados de oxígeno altamente reactivos, promueven

la muerte celular. Las evidencias sugieren que los sitios de generación de EROS están localizados en la cadena respiratoria mitocondrial⁽⁵⁾. Una de las EROS más importante es el anión superóxido que se produce en grandes cantidades. La producción del anión superóxido por la cadena respiratoria mitocondrial ocurre continuamente durante el metabolismo aeróbico normal. Se ha estimado que del 1 a 2% de todos los electrones que viajan por la cadena respiratoria mitocondrial nunca llegan al final pero sí forman este anión altamente reactivo por los complejos I y III de la cadena respiratoria. Los estudios recientes han identificado el complejo III como el principal sitio de producción de radicales libres de oxígeno en las mitocondrias, porque cuando se limita el flujo de electrones en el complejo III se previene la producción de EROS. En condiciones metabólicas normales, cada célula del cuerpo se expone a aproximadamente 10^{10} moléculas del anión superóxido cada día. Las mitocondrias también están equipadas con un adecuado mecanismo de defensa contra las EROS. La superóxido dismutasa de manganeso, presente en la mitocondria, es una enzima que puede eliminar a los aniones superóxido por una reacción de dismutación. Este mecanismo es el más común para la protección de la oxidación por parte del anión superóxido. Además, las mitocondrias contienen proteínas de la familia BcL, como la Bcl-2 que puede bloquear la muerte celular por apoptosis. Los estudios recientes han indicado que la homeostasis de EROS mitocondriales desempeñan un papel crucial en la vida y la muerte de muchas células eucarióticas, incluyendo los cardiomiositos por la liberación de EROS en respuesta a un estímulo proapoptótico.

POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL

La energía que se obtiene a través de la transferencia de electrones a lo largo de la cadena transportadora es usada para bombear protones desde la matriz mitocondrial hasta el espacio intermembranal –como ya se mencionó– creando un gradiente electroquímico de protones a través de la membrana mitocondrial interna ($\Delta\psi_m$: potencial de membrana mitocondrial). Este gradiente de protones permite a la ATP sintasa utilizar el flujo de ellos para producir ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico. De esta manera, la membrana mitocondrial interna separa dos compartimientos de diferente concentración de H⁺, lo que produce diferencias en la concentración química (Δ pH) y en la distribución de la carga ($\Delta\psi_m$) a través de la membrana. El resultado neto es una fuerza protón motriz (ΔG).

La regulación del $\Delta\psi_m$ de la mitocondria está dada en parte por la vía de la fosfatidil inositol 3 kinasa/Akt (PI3K/Akt). La vía de señalización de la PI3K/Akt es crucial en numerosos aspectos del crecimiento y la supervivencia celular. Esta vía se activa fisiológicamente con diversos factores de crecimiento y factores reguladores. La activación anormal de la vía resulta en alteración de los mecanismos de control

del crecimiento y la supervivencia celular. Se ha demostrado que la activación de Akt promueve la supervivencia neuronal por la activación de factores de crecimiento que actúan contra varios estímulos apoptóticos a través de la modulación de la actividad de la proteína Bcl-2 en las neuronas y de Bcl-xL en las células de Schwann ya que regulan la actividad del mPTP e impiden la liberación de proteínas apoptóticas. Además, los blancos de señalización de la PI3K favorecen la transcripción de genes como el factor nuclear κB (NF-κB) que codifican para proteínas antiapoptóticas.

LAS MITOCONDRIAS EN EL CORAZÓN

En el sistema cardiovascular, las mitocondrias representan posibles organelos blanco para tratar la lesión isquémica así como efectores para la cardioprotección. Como fue descrito por Jennings y Gañote hace 30 años⁽⁵⁾, el corazón es un órgano estrictamente aeróbico muy vulnerable a la disminución de la oferta de oxígeno. Por lo tanto, la isquemia miocárdica causa cambios profundos en la función mitocondrial. Éstos incluyen el cese de la síntesis de ATP, la inhibición de la respiración celular y la despolarización de la membrana mitocondrial. Esto se acompaña de diversos cambios celulares: uno de los más importantes es un aumento del Ca²⁺ intracelular y de fosfatos durante la isquemia y un gran aumento de las EROS originadas en la cadena respiratoria durante la reperfusión⁽⁶⁾. La producción energética mitocondrial depende de factores genéticos codificados por el núcleo y el ADN mitocondrial. Estos factores modulan la función mitocondrial normal incluyendo la actividad enzimática y la disponibilidad de cofactores y de sustratos energéticos. Desde el punto de vista terapéutico, también los canales iónicos mitocondriales desempeñan un papel muy importante en la lesión de isquemia y reperfusión. Los compuestos abridores de los canales de K sensibles a ATP mitocondriales (mitoKATP) o los canales de K activados por Ca²⁺ mitocondriales (mitoKca) disminuyen significativamente el tamaño del infarto y mejoran la recuperación funcional después de la isquemia-reperfusión. Por otro lado, bloqueando los canales iónicos mitocondriales como el mPTP se puede prevenir la pérdida de la función mitocondrial, lo cual produce la muerte celular por apoptosis y necrosis. Como la cardioprotección se relaciona con la activación de los canales mitoKATP y mitoKca y con la disminución de la apertura de los mPTP, es razonable pensar que estos fenómenos son parte de una misma vía de señalización, como fue demostrado por Costa en el 2006⁽⁷⁾.

LESIÓN DE REPERFUSIÓN: PAPEL DE LAS MITOCONDRIAS

Durante la perfusión normal las mitocondrias generan ATP, consumen gran cantidad de oxígeno y contribuyen a un ba-

lance en la producción y eliminación de las EROS. La falta de oxígeno durante la isquemia inhibe el flujo de electrones y la utilización miocárdica de ATP se hace inefficiente. En la isquemia prolongada se inhibe la Na⁺/K⁺-ATPasa debido a la disminución en los niveles de ATP y a la acidificación intracelular inducida por la producción de lactato. La hidrólisis de ATP activa el intercambiador Na⁺/H⁺ (NHE) porque la célula trata de restaurar el pH intracelular; esto produce un aumento en la concentración de sodio intracelular que activa a su vez el intercambiador Na⁺/Ca²⁺ (NCE), lo cual produce la sobrecarga de Ca²⁺ intracelular. La concentración de Ca²⁺ citosólico elevada puede contribuir a la lesión celular por activación enzimática de las nucleasas, las fosfolipasas y las proteasas que culmina con la destrucción de la integridad de la membrana produciendo la muerte celular si la isquemia es prolongada^(8,9).

En la reperfusión, los eventos intracelulares y mitocondriales como la sobrecarga de Ca²⁺, la inadecuada resíntesis de ATP, la pérdida de los fosfolípidos de membrana, la baja producción de óxido nítrico (ON) y el estrés oxidativo por las EROS contribuyen a la lesión de reperfusión^(10,11). Así, cuando ocurre el aumento en la concentración de ATP paradojicamente, contribuye a la lesión de reperfusión produciendo la hipercontractura de los cardiomiositos, la ruptura de la membrana y las subsecuentes bandas de necrosis⁽¹²⁾. La recuperación del pH, el estrés oxidativo y la sobrecarga de Ca²⁺ inducen la apertura de los mPTP lo que contribuye a la hipercontractura, la apoptosis y la necrosis^(13,14) (Figura 2).

Inicialmente, las mitocondrias son capaces de amortiguar el aumento citosólico de Ca²⁺ pero este proceso es limitado. Una baja concentración de Ca²⁺ mitocondrial está asociada con acidosis y una alta concentración de ADP que impiden la apertura del mPTP; por lo tanto, se mantiene la impermeabilidad de la membrana mitocondrial y su potencial membranal. Si la isquemia se extiende la transferencia de electrones se

altera, lo cual resulta en un aumento de la producción de las EROS⁽¹⁵⁾. Finalmente, los daños dependen de la duración del evento isquémico que determina el momento para el inicio de la reperfusión, la cual puede paradójicamente amplificar la lesión. Esto se debe principalmente a la generación de EROS que resultan de la reactivación de los complejos respiratorios sin coordinación funcional, lo que se traduce en una transferencia de electrones inefficiente que da lugar a la generación de anión superóxido. Las EROS tienen efectos directos sobre los componentes de la cadena respiratoria, lo que resulta en una disminución de la eficiencia de la fosforilación oxidativa. Además, las EROS causan daños no específicos en los lípidos, las proteínas y el ADN mitocondrial e inducen la peroxidación de la cardiolipina, un componente importante de la membrana interna mitocondrial, lo que aumenta la inhibición de la fosforilación oxidativa^(16,17). La producción de EROS se ve agravada por las altas concentraciones de Ca²⁺. Este catión es impulsado por el citosol hacia las mitocondrias para la restauración del potencial de membrana mitocondrial. Estas condiciones favorecen un aumento de la permeabilidad de la membrana mitocondrial y la formación del mPTP. Actualmente se considera que este fenómeno desempeña un papel central en los diferentes tipos de muerte celular. Crompton y colaboradores⁽¹⁸⁾ fueron los primeros en demostrar que la apertura del mPTP desempeña un papel crucial en la isquemia-reperfusión miocárdica. Aunque en general se acepta que la apertura del mPTP se produce en la reperfusión⁽¹⁹⁾, algunos estudios sugieren que también se produce durante la isquemia⁽²⁰⁾.

PORO TRANSICIONAL DE LA PERMEABILIDAD MITOCONDRIAL (mPTP)

El poro transicional de la permeabilidad mitocondrial (mPTP) es un megacanal de alta conductancia formado entre las membranas interna y externa de la mitocondria que permite la

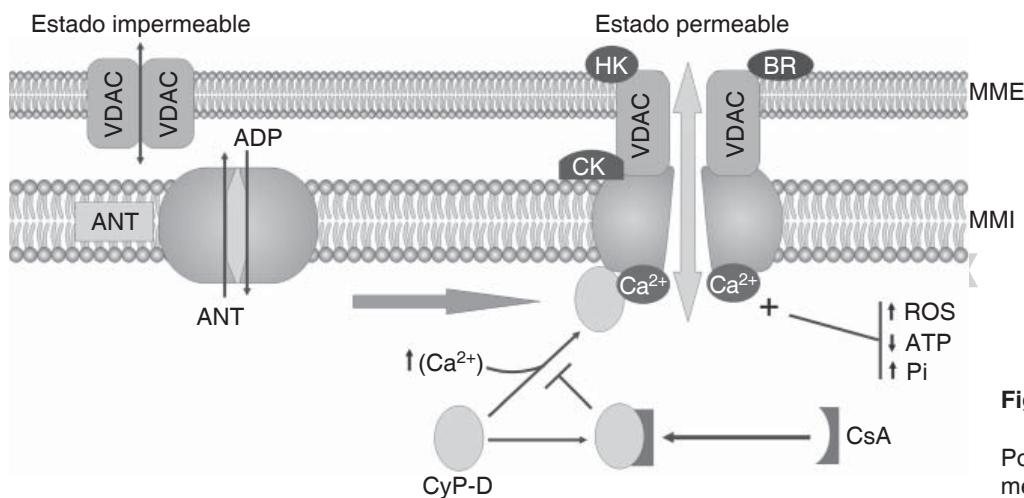


Figura 2.

Poro de transición de la permeabilidad mitocondrial.

comunicación entre el citoplasma y la matriz mitocondrial⁽²¹⁾. Fue descubierto por Hunter en 1979 y en los últimos años ha tomado una gran importancia en los estados de isquemia y reperfusión⁽²²⁾. Es un complejo multiproteico capaz de formar poros no selectivos en la membrana interna. Los componentes estructurales del poro son:

1. El translocador de nucleótidos de adenina (ANT) ubicado en la membrana interna.
2. La ciclofilina D, ubicada en la matriz.
3. El canal de aniones dependientes de voltaje (VDAC) o porina que se ubica en la membrana mitocondrial externa.

El VDAC es normalmente permeable a solutos de 1.5 kDa, lo que permite el libre intercambio de sustratos de la cadena respiratoria como el NADH y el FADH, además del intercambio ATP/ADP entre el espacio intermembranal y el citosol. En contraste, la membrana interna es casi impermeable lo que permite generar el gradiente electroquímico de protones usado en la fosforilación oxidativa. Sin embargo, la permeabilidad de ambas membranas puede ser interrumpida como se ha demostrado *in vitro*⁽²³⁾. De esta forma, la apertura del canal en la membrana interna disminuye el gradiente de H⁺ a través de la membrana desacoplando la cadena respiratoria de la producción de ATP. Como resultado, se hincha la matriz provocando la ruptura de la membrana externa y permitiendo la salida de moléculas proapoptóticas⁽²⁴⁾. En estado de homeostasis mitocondrial el poro se encuentra cerrado, la distancia entre las membranas es óptima y de esta forma existe un acoplamiento entre la VDAC-CK-ANT. Desde el punto de vista fisiológico, la regulación del volumen de la matriz mitocondrial tiene importantes consecuencias en el metabolismo energético del cardiomiocto; el estado impermeable del poro contribuye a dicha homeostasis⁽²⁵⁾. Durante la isquemia miocárdica el poro se abre permitiendo que la membrana interna sea permeable a moléculas < 1.5 kDa, lo cual produce tres consecuencias importantes. La primera, las proteínas intramitocondriales no pueden pasar por el poro y ejercen una presión coloidosmótica en la matriz con hinchazón. La membrana interna no sufre lisis; tal fenómeno sí ocurre en la membrana externa, con la liberación de proteínas, tales como el citocromo C. La segunda, la membrana interna, se hace permeable a los protones, lo cual desacopla la cadena respiratoria, disminuyendo la producción de ATP. La tercera, se promueve el funcionamiento inverso de la ATP sintasa, o sea que en vez de sintetizar ATP se promueve la hidrólisis para mantener el gradiente de H⁺ y el Δψ_m⁽²⁶⁾. Cuando ocurre la reperfusión, la mitocondria nuevamente es capaz de respirar y generar un potencial de membrana que permite la síntesis de ATP, con el aumento en radicales libres como producto de la cadena respiratoria; el pH mitocondrial comienza a aumentar y aún persiste la sobrecarga de Ca²⁺ y la depleción de ATP, promoviendo la apertura del mPTP⁽²⁷⁾.

De este modo, las mitocondrias se vuelven el objetivo terapéutico, sea promoviendo la inhibición directa del poro o indirectamente mediante la prevención de los fenómenos que promueven la apertura, tales como:

1. Previniendo la sobrecarga de calcio que se puede lograr con propofol⁽²⁸⁾ o con el aumento de las concentraciones de Mg²⁺ que inhibe el cotransportador Na⁺/Ca⁺⁺ y los canales de calcio tipo L⁽³⁰⁾.
2. Mejorando la bioenergética mitocondrial o el volumen de la matriz. Ambos son fenómenos propiciados por los fármacos que abren los canales de potasio (KCO: potassium channel openers).
3. Manteniendo un pH bajo durante la reperfusión, por ejemplo inhibiendo el intercambiador Na⁺/H⁺ con fármacos, como la amilorida, o agregando piruvato (Figura 3)⁽³¹⁾.

CANAL DE CALCIO EN LA MITOCONDRIA

La captación de calcio mitocondrial ha sido reconocida durante más de 50 años; aun las proteínas mediadoras de este esencial proceso transportador todavía no han sido clarificadas. Sin embargo, el uniportador de calcio mitocondrial es tal vez el transportador mejor entendido en la fisiología. El uniportador

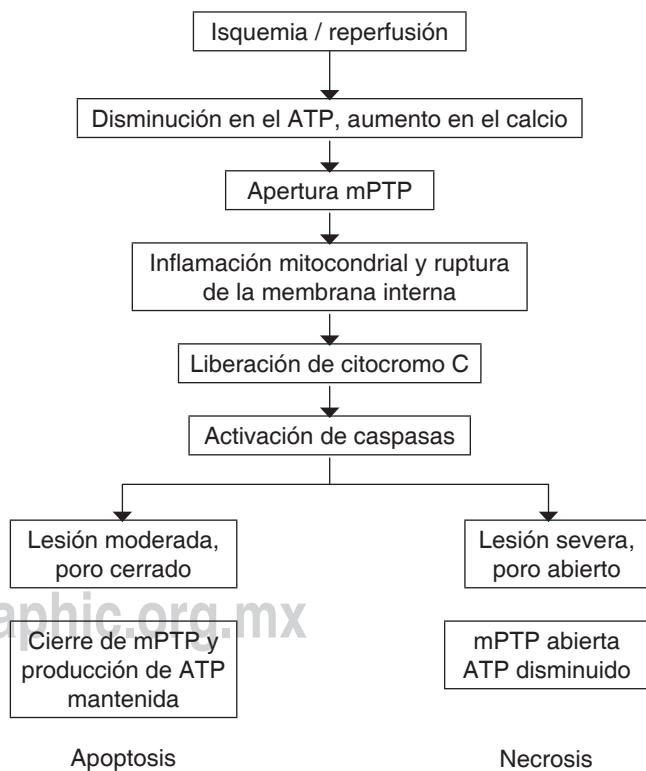


Figura 3. Papel de la mitocondria durante la isquemia-reperfusión.

de calcio presenta un mecanismo relativamente rápido y es un canal que transporta calcio con diferente selectividad y muy baja afinidad⁽³²⁾. Los estudios en mitocondrias aisladas han permitido la identificación de algunas moléculas reguladoras que actúan sobre el uniportador de calcio; en particular el más efectivo es el rojo de rutenio (RuR)⁽³³⁾. Esta vía de captación de calcio sensible al RuR es la principal ruta de entrada de calcio a la matriz mitocondrial; existen fuertes evidencias de que el aumento de calcio en la matriz mitocondrial es importante para la estimulación de la fosforilación oxidativa en varios sitios, incluyendo la deshidrogenasa sensible al calcio del ciclo de Krebs⁽³⁴⁾, y en uno o más sitios de la cadena de transporte de electrones⁽³⁵⁾.

CANALES MITOCONDRIALES DE POTASIO Y CARDIOPROTECCIÓN

Hace 25 años, Lampert y su grupo demostraron que los agentes farmacológicos capaces de abrir los canales de potasio (K^+) tenían un efecto cardioprotector contra la lesión de isquemia/reperfusión⁽³⁶⁾. Los primeros estudios propusieron que el objetivo de estos compuestos eran los canales de potasio sensibles al ATP en el sarcolema (sarKATP). Sin embargo, una nueva puerta se abrió en 1991 con el descubrimiento de canales de K^+ en la membrana interna de la mitocondria del hígado⁽³⁷⁾. Este hallazgo fue apoyado por evidencias de que una variedad de abridores e inhibidores de canales de K^+ influyen en la función mitocondrial⁽³⁸⁻⁴²⁾, con evidencias directas de la relación entre los canales mitoKATP y la cardioprotección contra la lesión de isquemia-reperfusión en el corazón intacto y en los miocitos aislados⁽⁴³⁾. Por lo tanto, la atención se ha desviado recientemente hacia la mitocondria como el objetivo primario para la cardioprotección.

MECANISMO DE CARDIOPROTECCIÓN POR LOS CANALES MITOCONDRIALES DE POTASIO

Una de las principales características fisiológicas de las mitocondrias es la generación de un potencial transmembranal a través de la membrana interna mitocondrial. Como se describió previamente, la energía que se obtiene a través de la transferencia de electrones a lo largo de la cadena transportadora, es usada para bombear protones desde la matriz mitocondrial hasta el espacio intermembranal, creando un gradiente electroquímico de protones, el potencial de membrana mitocondrial; esto es consecuencia directa de las reacciones bioquímicas que constituyen la cadena respiratoria. El potencial transmembranal mitocondrial es utilizado en la captación de calcio en la mitocondria ya que el ión sigue el gradiente eléctrico negativo en la matriz mitocondrial. Por lo tanto, la despolarización parcial a través de la apertura de los canales de potasio mitocondriales reduce esta fuerza para el

influjo de calcio mediante el canal uniportador de calcio, lo que resulta en la prevención de la sobrecarga de calcio en la mitocondria durante la isquemia.

CANALES DE POTASIO SENSIBLES AL ADENOSÍN TRIFOSFATO EN LA MITOCONDRIA

En 1991, Inoue y asociados⁽⁴⁴⁾ reportaron la identificación de canales de potasio sensibles al ATP en las mitocondrias. Con la técnica del *patch clamp* en el mitoplasma de hígado de rata se encontraron canales selectivos al potasio, sensibles a la inhibición por ATP, 4 aminopiridina y glibenclamida. La conductancia de estos canales es más baja que la de los canales en el sarcoplasma. Los estudios subsecuentes por parte de diferentes grupos han demostrado que los mitoKATP pueden ser los principales efectores en la cardioprotección. O'Rourke y colegas^(45,46) han indicado que los agentes farmacológicos como el diazóxido abren los canales mitoKATP y que el 5-hidroxidecanoato (5-HD) se ha usado para bloquear estos canales. Los abridores de los canales de potasio en la mitocondria como el diazóxido, el nicorandil y el minoxidil han demostrado ser cardioprotectores en todas las especies examinadas⁽⁴⁷⁾. La capacidad de estos agentes para abrir los canales KATP en la mitocondria y sus dosis terapéuticas fueron descritas en 1996⁽⁴⁸⁾. El diazóxido es 1,000 veces más potente para abrir los mitoKATP que para los canales sarc-KATP, lo cual lo hace una herramienta de mucho valor para determinar si la cardioprotección es mediada por la activación de estos canales en el sarcolema o en la mitocondria. En 1997, Garlid⁽⁴⁹⁾ presentó el primer trabajo en el que se mostraba evidencia directa de la relación entre los canales mitoKATP y la cardioprotección. Él y su grupo de investigadores reportaron que la farmacología de los canales de KATP de la membrana plasmática y los de la mitocondria era diferente al analizar el efecto protector contra la lesión de reperfusión del diazóxido. El efecto protector del diazóxido fue bloqueado por la glibenclamida y otros antagonistas de los canales de KATP. Estos resultados sugerían que el diazóxido y otros abridores de canales de KATP interactúan con los canales en la mitocondria para producir el efecto cardioprotector.

MODULACIÓN FARMACOLÓGICA DE LOS CANALES DE POTASIO SENSIBLES AL ATP

Los canales de potasio sensibles al ATP (Katp) pueden ser modulados por una gran variedad de fármacos, conocidos como abridores y bloqueadores de los canales de potasio⁽⁵⁰⁾. En general, la mayoría de los abridores de canales de potasio no son selectivos y actúan con potencia variable uniéndose a las subunidad SUR del canal de potasio para modular la activación. El más conocido de los bloqueadores de K^+ es la glibenclamida (gliburida) que se une a un sitio de alta

afinidad localizado en la subunidad SUR y a un sitio de baja afinidad en la subunidad Kir del canal Katp. La glibenclamida es un bloqueador no específico de los canales Katp y actúa tanto en el sarcolema como en la mitocondria. Los canales mitoKatp pueden ser bloqueados selectivamente con el 5-HD mientras que los canales sarcKatp pueden ser inhibidos por HMR 1883 o HMR 1098. En la actualidad no hay un abridor selectivo para los canales Katp en el sarcolema; sin embargo, los canales mitoKatp pueden ser abiertos selectivamente con diazóxido, que es 2,000 veces más selectivo para los canales en las mitocondrias que en el sarcolema.

CANALES MITOCONDRIALES DE POTASIO SENSIBLES AL ATP EN CIRUGÍA CARDÍACA

Existen suficientes evidencias que apoyan el papel de los canales de potasio sensibles al ATP, tanto del sarcolema como de la mitocondria en la cardioprotección; sin embargo, las evidencias acumuladas indican que los canales en las mitocondrias desempeñan el papel predominante en el mecanismo y que la modulación específica de estos canales es necesaria para lograr la cardioprotección. El soporte de este mecanismo cardioprotector proviene de investigaciones previas en estudios *in vitro* usando trabécula de corazón humano⁽⁵¹⁾. Dichos estudios han demostrado que los abridores de canales de potasio no específicos, como el nicorandil y el pinacidil, que abren los canales tanto en el sarcolema como en las mitocondrias producen cardioprotección cuando se usan solos; sin embargo, el efecto cardioprotector se limita o se inhibe cuando se usan en conjunto con la solución cardioplégica.

CANALES DE POTASIO SENSIBLES AL CALCIO EN LA MITOCONDRIA

Los canales de potasio sensibles al calcio (mitoKca) fueron detectados en la mitocondria de células del glioma humano en 1999⁽⁴⁹⁾ y en las mitocondrias de células cardíacas en 2002⁽⁵²⁾. De manera similar a los canales mitoKATP, el influxo de K por vía de los canales mitoKca acelera la transferencia de electrones en la cadena respiratoria, produce la oxidación en las mitocondrias y atenúa la sobrecarga de calcio mitocondrial acompañado de la despolarización de la membrana mitocondrial⁽⁵³⁾. También se ha demostrado que la apertura de los canales mitoKCa están modulados por la proteincinasa A (PKA), confiriendo cardioprotección contra la lesión de isquemia-reperfusión en el corazón de conejo⁽⁵⁴⁾.

PÉRDIDA DE LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL

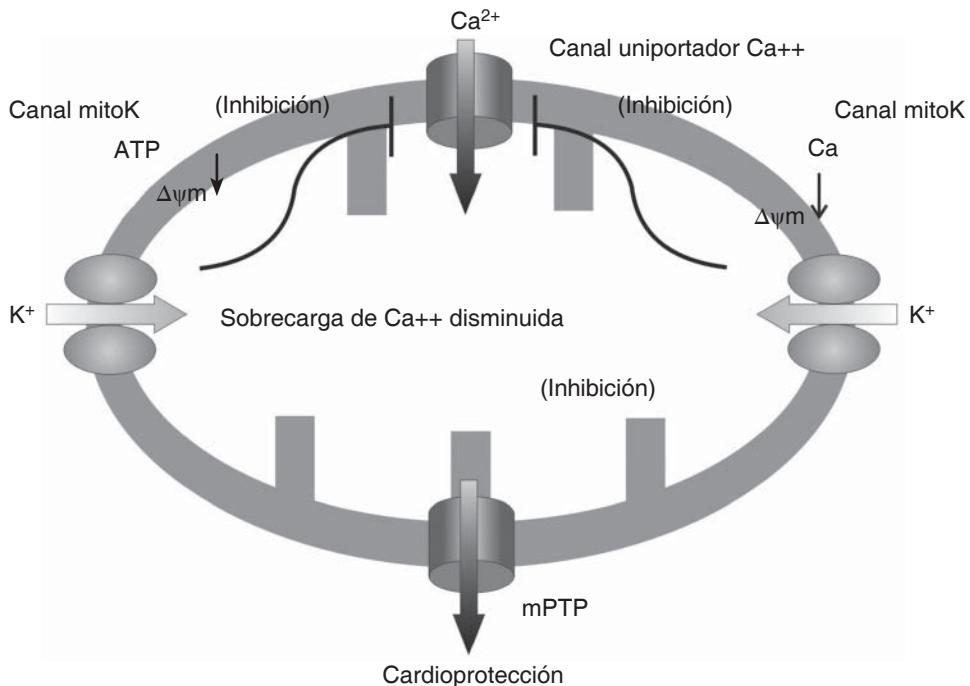
Las mitocondrias aisladas de corazones isquémicos o con isquemia-reperfusión tienen alteradas su función: disminución en el contenido de adenina nucleótido, actividad

disminuida del translocador de adenina nucleótido (ANT), depresión de la actividad del complejo de la cadena respiratoria, potencial de membrana más bajo y reducción de la actividad de la NADH deshidrogenasa⁽⁵⁵⁾. Aunque la mayoría de los estudios sugieren que la isquemia causa lesión en las mitocondrias cardíacas, otros sugieren que la función mitocondrial inicialmente está preservada durante la isquemia, pero que se compromete por los radicales libres de oxígeno durante la reperfusión⁽⁵⁴⁾.

La pérdida de la función mitocondrial es desastrosa para el corazón, ya que el ATP derivado de la fosforilación oxidativa se necesita para mantener la actividad contrátil. Es necesario que la membrana interna de las mitocondrias presente una impermeabilidad a los protones, porque esto se requiere para mantener el potencial de membrana y el gradiente de pH que provee la fuerza para la síntesis de ATP a través de la fosforilación oxidativa. La membrana interna también mantiene un gradiente de metabolitos entre el citosol y la mitocondria, con transportadores específicos para cada metabolito, lo que es esencial para la regulación metabólica. Si la barrera de permeabilidad de la membrana interna se altera, la mitocondria se vuelve desacoplada, impidiéndole sintetizar ATP y separar los metabolitos entre el citosol y la mitocondria.

APOPTOSIS EN LA ENFERMEDAD CARDÍACA

Existen evidencias que demuestran que la apoptosis o muerte celular programada que lleva a la pérdida de células cardíacas y a la remodelación del ventrículo izquierdo es un hecho significativo en pacientes con enfermedades cardíacas. En la vía mitocondrial de la apoptosis la liberación de proteínas proapoptóticas desde la mitocondria al citosol, como el citocromo C y el factor inductor de apoptosis (AIF) es un hecho importante en el inicio de la cascada de cambios citoplasmáticos, e incluye la activación de las proteasas de cisteína-aspartato (caspasas) y las endonucleasas nucleares que producen la muerte celular⁽⁵⁵⁾. La liberación de péptidos mitocondriales está facilitada por la apertura del megacanal, el mPTP, que se activa por la unión de proteínas proapoptóticas, como la Bax. Pero también existen las proteínas antiapoptóticas, como el Bcl-2, que previene la asociación de Bax con el poro mPTP, interfiriendo con la liberación del citocromo C y del AIF. La apertura del mPTP se activa por el influxo de EROS en la mitocondria⁽⁵⁶⁾. La apertura del mPTP produce una disminución del potencial transmembranal mitocondrial y una despolarización de la membrana mitocondrial. Los cambios en el potencial de membrana pueden ser una causa o una consecuencia de la apertura del poro, ya que se acompañan de un influxo masivo de protones. La disminución de la actividad de las enzimas respiratorias mitocondriales y de la fosforilación oxidativa puede contribuir al inicio de la apoptosis (Figura 4).

**Figura 4.**

Mecanismo de protección mediado por canales iónicos mitocondriales.

LAS MITOCONDRIAS: OBJETIVO PARA LA PROTECCIÓN MIOCÁRDICA

Se sabe que las mitocondrias están íntimamente relacionadas en el proceso que produce la muerte celular durante la reperfusión, en sus dos formas –apoptosis y necrosis–, por lo que son objetivos o blancos potenciales para intervenciones protectoras. Cuando la mitocondria se lesiona durante la reperfusión hay insuficiente ATP para la contracción y para la reparación celular que ocurre durante la isquemia. Sin embargo, si la mitocondria se protege de la lesión puede cambiar de la lesión irreversible hacia la recuperación celular. Los medios potenciales por medio de los cuales la mitocondria se puede proteger consisten en bloquear los procesos que, se sabe, comprometen su función, como la apertura del mPTP o en agregar sustitutos que puedan aumentar el metabolismo energético mitocondrial.

MODULADORES DEL SISTEMA DE TRANSPORTE DE CALCIO MITOCONDRIAL

Varios estudios han reportado un efecto protector del rojo de rutenio (RR) contra el daño por reperfusión o la reoxigenación en el corazón⁽⁵⁷⁾. Este efecto ha sido atribuido a su acción como inhibidor del uniportador de calcio pero también inhibe la liberación de calcio del retículo sarcoplásmico. Otros inhibidores de la captación de calcio en la mitocondria son el clonazepam y el intercambiador Na^+/Ca^{2+} .

INHIBIDORES DE LA PERMEABILIDAD DEL PORO DE TRANSICIÓN EN LA MITOCONDRIA

Si la apertura del mPTP es el evento clave en la lesión de reperfusión se puede predecir que inhibiendo este proceso se puede lograr cardioprotección, lo cual es posible conseguir con diversos fármacos.

Ciclosporina A

Se ha demostrado que la ciclosporina A (CsA) puede proteger el corazón y a los miocitos cardíacos de la lesión de reperfusión⁽⁵⁸⁾. Sin embargo, la CsA tiene un rango terapéutico muy estrecho y tiene efectos colaterales que la hacen difícil de usar de manera rutinaria. Se sabe que el sitio de acción de la CsA en mitocondrias aisladas es la ciclofilina D que se encuentra unida a la ANT y bloquea el mPTP. Esto último preservaría la fosforilación oxidativa y la función contrátil de las células miocárdicas. Sin embargo, no podemos descartar que la CsA inhiba la reacción inflamatoria y en consecuencia la acumulación de neutrófilos, lo que contribuye al daño celular en la isquemia miocárdica. También la sangliferina A ha demostrado efectos cardioprotectores pero aun no se tienen resultados concluyentes.

Piruvato

Esta demostrado que la adición de piruvato al medio de perfusión antes de la isquemia o durante la reperfusión inhibe la apertura del mPTP y mejora la recuperación cardíaca⁽⁵⁹⁾. En este estudio

se logró una observación muy importante que consiste en que el mPTP se puede cerrar después de estar abierto. En ausencia de piruvato, los corazones sometidos a 40 min de isquemia recuperan 50% de la presión desarrollada en el ventrículo izquierdo (PDVI) durante la reperfusión. Sin embargo, en presencia de piruvato a 10-mM los corazones recuperan 100% de su función. Parece ser que se puede recuperar totalmente aun si fue abierto el poro inicialmente y se cierra rápidamente. Hay tres mecanismos que explican este efecto cardioprotector del piruvato: aumento de la producción de ácido láctico manteniendo así un pH más bajo, su acción como eliminador de radicales libres de oxígeno y además el piruvato es un excelente energizador de la mitocondria, por lo que aumenta la producción de ATP⁽⁵⁹⁾.

Propofol

El propofol es un anestésico que se usa con gran frecuencia en la cirugía cardíaca y no cardíaca y como sedación en el periodo postoperatorio⁽⁶⁰⁾. Asimismo, ha sido demostrado que protege al corazón contra la lesión causada por el estrés oxidativo producido por peróxido de hidrógeno o contra la lesión de reperfusión, actuando como eliminador de radicales libres de oxígeno o inhibiendo los canales de calcio en la membrana plasmática⁽⁶¹⁾. Estos efectos disminuyen el estrés oxidativo y el calcio citosólico; ambos protegen a la mitocondria inhibiendo la apertura del mPTP. Se ha confirmado el efecto protector del propofol contra la lesión de reperfusión en corazón aislado y perfundido con sistema Langerdorff en concentraciones de 2 ug/mL, más bajas que las empleadas por otros autores y las usadas en la clínica⁽⁶²⁾. La presión desarrollada en el ventrículo izquierdo en los corazones tratados con propofol después de 30 min de isquemia se recuperan durante la reperfusión a 70% del valor preisquémico, comparado sólo con 36% en ausencia de propofol⁽⁶³⁾. Existen otros reportes de que el propofol puede inhibir el mPTP en la mitocondria aislada^(64,65), aunque la concentración usada en estos estudios fue considerablemente mayor que la empleada en la clínica. Se confirmó el efecto protector del propofol contra la lesión de reperfusión en el corazón con y sin el empleo de solución cardiopléjica. En la mitocondria aislada se observa el aumento de la actividad de la cadena respiratoria con el uso de propofol, lo que implica una disminución en el estrés oxidativo. Estos datos sugieren que el uso de propofol en anestesia puede ser un aditivo benéfico agregado a la solución cardiopléjica que se usa en la cirugía cardíaca.

Amobarbital

El amobarbital (amital sódico) es un barbitúrico de acción corta que bloquea el complejo I en forma reversible en el sitio rotenona. Cuando se administra un minuto antes de 25 min de la isquemia global funciona como cardioprotector en corazón de rata, produciendo una marcada mejoría en la función contrátil

y una disminución del tamaño del infarto. El tratamiento con amobarbital se ha asociado con la preservación de citocromo C que se libera en la isquemia y la reperfusión, debido en parte a la degradación oxidativa de la cardiolipina⁽⁶⁶⁾.

Benzodiazepinas

El descubrimiento de un receptor para las benzodiazepinas localizado en la membrana externa mitocondrial abre las posibilidades del uso de fármacos moduladores de estos receptores, utilizados como ansiolíticos anticonvulsionantes, relajantes musculares y sedantes en algunas patologías mitocondriales.

4-Clorodiazepam

El 4-clorodiazepam (CDZ) disminuye el tamaño del infarto de manera dependiente de la dosis. Usado en dosis de 10 mg/kg disminuye el área en riesgo en $11 \pm 1\%$ versus $31 \pm 3\%$ con el control, disminuye la apoptosis, restaura la función mitocondrial y mejora los parámetros de fosforilación oxidativa. Reduce la permeabilidad de la membrana mitocondrial con inhibición del citocromo C y la liberación del FIA, aumentando la resistencia de la mitocondria a la apertura del mPTP inducido por el calcio⁽⁶⁷⁾.

Acetaminofén

El acetaminofén (paracetamol) es un antiinflamatorio no esteroideo usado desde hace más de 100 años en la medicina como antipirético y analgésico. En investigaciones recientes también se ha establecido que es un agente cardioprotector efectivo durante la isquemia-reperfusión, la hipoxia, la reoxigenación, la administración exógena de peroxinitrito y en el infarto del miocardio experimental^(68,69). Se ha reportado que el tratamiento crónico y agudo con acetaminofén (0.35 mM) tiene un efecto cardioprotector después de la isquemia-reperfusión en modelos experimentales⁽⁷⁰⁾. En un estudio de corazones de cobayos que fueron sometidos a isquemia-reperfusión en el sistema de Langerdorff, con 30 min de isquemia seguidos de 60 min de reperfusión, al grupo tratado se le administró acetaminofén 0.35 mM y al grupo control se le asignó un vehículo; al final de la reperfusión los corazones fueron estudiados. El edema mitocondrial y la liberación de citocromo C se encontraron significativamente disminuidos, pero se observó que estaban abolidos en el grupo con acetaminofén. La apoptosis se encontró disminuida. Estos datos, junto con la fotomicrografía electrónica, sugieren que el acetaminofén produce cardioprotección en parte por la inhibición de formación del mPTP y la subsecuente prevención de la apoptosis⁽⁷¹⁾. El acetaminofén en dosis de 30 mg/kg IV ha demostrado tener efectos antiarrítmicos y de disminución del tamaño del infarto en perros a los que les fue administrado^(72,73).

Intralipid

El intralipid es la primera grasa en emulsión para uso en humanos. Un bolo de 5 mL/kg de intralipid al 20% mejora aproximadamente cuatro veces la recuperación de la función cardíaca en corazones aislados en isquemia y reperfusión y produce 70% de disminución del tamaño del infarto⁽⁷⁴⁾. En la actualidad, el inhibidor más específico para inhibir el mPTP es la ciclosporina A, que actúa inhibiendo a la ciclofilina D que es un componente específico del poro. Recientemente se demostró que el intralipid inhibe la apertura del poro y protege el corazón, reclutando las vías de salvamento de la lesión por reperfusión⁽⁷⁵⁾.

CONCLUSIÓN

En esta revisión se ha enfatizado la importancia de la función mitocondrial en la patogénesis de la lesión cardíaca y cómo el entendimiento de la función mitocondrial permite

diseñar mejores estrategias de cardioprotección. Esto es de particular importancia en la clínica y en la cirugía cardíaca en las que la protección miocárdica contra la lesión de isquemia-reperfusión es de vital importancia. Los eventos que se presentan en la isquemia-reperfusión (caída de ATP y elevación de Ca^{2+}) provocan cambios significativos en la permeabilidad de la membrana mitocondrial produciendo alteraciones en la regulación del metabolismo, por lo que la recuperación del miocardio se puede mejorar si se previene la lesión mediante la administración de fármacos que tienen como objetivo el mPTP o el transporte de calcio en la mitocondria.

Conocer cómo activar o inactivar la muerte celular programada, por ejemplo, nos podría permitir preservar los tejidos cardíacos, que de otra manera morirían por la falta de oxígeno durante la isquemia. Por todo ello, cabe esperar que en unos años se hable más acerca de una «farmacología mitocondrial».

REFERENCIAS

- Garlid KD. Cation transport in mitochondria-the potassium cycle. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1275:123-126.
- O'Rourke B. Evidence for mitochondrial K^+ channels and their role in cardioprotection. *Circ Res*. 2004;9:420-432.
- Halestrap AP. The regulation of the matrix volume of mammalian mitochondria *in vivo* and *in vitro* and its role in the control of mitochondrial metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 1989;973:355-382.
- Juhaszova M, Zorov DB, Kim SH, Pepe S, Fu Q et al. Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest*. 2004;113:1535-1549.
- Chen Q, Vázquez EJ, Moghaddas S et al. Production of reactive oxygen species by mitochondria. *J Biol Chem*. 2003;278:36027-36031.
- Jennings RB, Ganote CE. Mitochondrial structure and function in acute myocardial ischemic injury. *Circ Res*. 1976;38:80-91.
- Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*. 2003;552:335-344.
- Costa AD, Jakob R, Costa CL, Andrukiv K, West IC et al. The mechanism by which mito K_{ATP} opening and H_2O_2 inhibit the mitochondrial permeability transition. *J Biol Chem*. 2006;281:20801-20808.
- Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion –a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 2004;61:372-385.
- Halestrap AP, Pasdois P. The role of the mitochondrial permeability transition pore in heart disease. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1787:1402.
- Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J*. 1999;341:233-249.
- Piper HM, Abdallah Y, Schäfer C. The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 2004;61:365-371.
- Piper HM, Kassekert S, Abdallah Y. The sarcoplasmic reticulum as the primary target of reperfusion protection. *Cardiovasc Res*. 2006;70:170-173.
- Ruiz MM, Abellán A, Miró CE, García DD. Opening of mitochondrial permeability transition pore induces hypercontracture in Ca^{2+} overloaded cardiac myocytes. *Basic Res Cardiol*. 2007;102:542-552.
- Di Lisa F, Canton M, Carpi A, Kaludercic N, Menabó R. Mitochondrial injury and protection in ischemic pre-and postconditioning. *Antioxid Redox Signal*. 2011;14:881-891.
- Chen Q, Moghaddas S, Hoppel CL et al. Ischemic defects in the electron transport chain increase the production of reactive oxygen species from isolated rat heart mitochondria. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2008;294:C460-C466.
- Petrosillo G, Ruggiero FM, di Venosa N et al. Decreased complex III activity in mitochondria isolated from rat heart subjected to ischemia and reperfusion: role of reactive oxygen species and cardiolipin. *FASEB J*. 2003;17:714-716.
- Paradies G, Petrosillo G, Pistolese M et al. Decrease in mitochondrial complex I activity in ischemic/reperfused rat heart: involvement of reactive oxygen species and cardiolipin. *Circ Res*. 2004;94:53-59.
- Crompton M, Costi A, Hayat L. Evidence for the presence of a reversible Ca^{2+} -dependent pore activated by oxidative stress in heart mitochondria. *Biochem J*. 1987;245:915-918.
- Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J*. 1995;307:93-98.
- Borutaite V, Jekabsone A, Morkuniene R et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition prevents mitochondrial dysfunction, cytochrome c release and apoptosis induced by heart ischemia. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35:357-366.
- Hunter DR, Haworth RA, Southard JH. Relationship between configuration, function and permeability in calcium-treated mitochondria. *J Biol Chem*. 1976;251:5069-5077.
- Hunter DR, Haworth RA. The Ca^{2+} induced membrane transition in mitochondria I. The protective mechanisms. *Arch Biochem Biophys*. 1979;195:453-459.
- Zamzami N, Kroemer G. The mitochondrion in apoptosis: how Pandora's Box opens. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2:67-71.
- Shoshan-Barmatz V, Keinan N, Zaid H. Uncovering the role of VDAC in the regulation of cell life and death. *J Bioenerg Biomembr*. 2008;40:183-191.
- Suleiman M, Halestrap AP, Griffiths EJ. Mitochondria: a target for myocardial protection. *Pharmacol Therap*. 2004;6:27-32.
- Halestrap AP, Clarke J, Sabzali A, Javadov A. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion: a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 2004;61:372-385.

28. Xu MF, Wang YG, Hirai K, Ayub A, Ashraf A. Calcium preconditioning inhibits mitochondrial permeability transition and apoptosis. *Am J Physiol.* 2001;280:H899-H908.
29. Lim KHH, Modi P, Nicholson E et al. A pig model of warm-blood cardioplegic arrest to investigate the cardioprotective effects of propofol. *J Physiol.* 2001;536P:82P.
30. Headrick JP, McKirdy JC, Willis RJ. Functional and metabolic effects of extracellular magnesium in normoxic and ischemic myocardium. *Am J Physiol.* 1998;275:H917-H929.
31. Mallet RT. Pyruvate: metabolic protector of cardiac performance. *Proc Soc Exp Biol Med.* 2000;223:136-148.
32. Vainio H, Mela L, Chance B. Energy dependent bivalent cation translocation in rat liver mitochondria. *Eur J Biochem.* 1970;12:387-391.
33. Denton RM, McCormack JG. Ca^{2+} as a second messenger within mitochondria of the heart and other tissue. *Annu Rev Physiol.* 1990;52:451-466.
34. Balaban RS, Bose S, French SA, Territo PS. Role of calcium in metabolic signaling between cardiac sarcoplasmic reticulum and mitochondria *in vitro*. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003;284:C285-C293.
35. Lampert KA, Christensen CW, Pelc LR, Warltier DC, Gross GJ. Effects of nicorandil and nifedipine on protection of ischemic myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1984;6:536-542.
36. Inoue H, Nagase K, Kishi T, Higuti T. ATP-sensitive K^+ channel in the mitochondrial inner membrane. *Nature* 1991;352:244-247.
37. Paucek P, Mironova G, Mahdi F, Beavis AD, Woldegiorgis G et al. Reconstitution and partial purification of the glibenclamide-sensitive, ATP-dependent K^+ channel from rat liver and beef heart mitochondria. *J Biol Chem.* 1992;267:26062-26069.
38. Szewczyk A, Mikolajek B, Pikula S, Nalecz MJ. Potassium channel openers induce mitochondrial matrix volume changes via activation of ATP-sensitive K^+ channel. *Pol J Pharmacol.* 1993;45:437-443.
39. Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB et al. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels: possible mechanism of cardioprotection. *Circ Res.* 1997;81:1072-1082.
40. Sato T, Sasaki N, Seharaseyon J, O'Rourke B, Marban E. Selective pharmacological agents implicate mitochondrial but not sarcolemmal $\text{K}(\text{ATP})$ channels in ischemic cardioprotection. *Circulation.* 2000;101:2418-2423.
41. O'Rourke B. Evidence for mitochondrial K^+ channels and their role in cardioprotection. *Circ Res.* 2004;94:420-432.
42. Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marbán E. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection? *Circulation.* 1998;97:2463-2469.
43. Grover GJ, Garlid KD. ATP-sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology. *J Mol Cel Cardiol.* 2000;32:677-695.
44. Inoue I, Nagase H, Kishi T, Higuti T. ATP-sensitive K^+ channel in the mitochondrial inner membrane. *Nature* 1991;352:244-247.
45. Szewczyk A, Mikolajek B, Pikula S, Nalecz MJ. Potassium channel opener induce mitochondrial matrix volume changes via activation of ATP sensitive K^+ channel. *Pol J Pharmacol.* 1993;45:437-443.
46. Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbencio RB. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP sensitive K channels: possible mechanism of cardioprotection. *Cir Res.* 1997;81:1072-1082.
47. Grover GJ, Garlid KD. ATP sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology. *J Mol Cel Cardiol.* 2000;32:677-695.
48. Seino S. ATP sensitive potassium channel. *Annu Rev Physiol.* 1999;61:337-362.
49. Siemen D, Loupatatzis C, Borecky J, Gulbins E, Lang F. Ca^{2+} -activated K^+ channel of the BK-type in the inner mitochondrial membrane of a human glioma cell line. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;257:549-554.
50. McCully JD. The mitochondrial Katp channel and cardioprotection. *Ann Thorac Surg.* 2003;75:S667-S673.
51. Monti F. ATP dependent potassium channel modulation and cardioplegia induced protection of human atria muscle in an *in vitro* model of myocardial stunning. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;119:842-848.
52. Xu W, Liu Y, Wang S, McDonald T, van Eyk JE et al. Cytoprotective role of Ca^{2+} -activated K^+ channels in the cardiac inner mitochondrial membrane. *Science.* 2002;298:1029-1033.
53. Sato T, Saito T, Saegusa N, Nakaya H. Mitochondrial Ca^{2+} -activated K^+ channels in cardiac myocytes: a mechanism of the cardioprotective effect and modulation by protein kinase A. *Circulation.* 2005;11:198-120.
54. Steiman CM, Storm M. The conservation of mitochondrial function by ischemia-the ischemic paradox. *Acta Physiol Scand.* 1997;159:171-173.
55. Marzo I, Brenner C, Zamzami N, Susian SA, Beutner G et al. The permeability transition pore complex: a target for apoptosis regulation by caspases and Bcl-2 related proteins. *J Exp Med.* 1998;187:1261-1271.
56. Lemaster JJ, Nieminen AL, Qian T, Trost LC, Elmore SP et al. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis, and autophagy. *Biochim Biophys Acta* 1998;1366:177-196.
57. Figueiredo VM, Dresdner KP, Wolney AC, Keller AM. Postischemic reperfusion injury in the isolated rat heart: effect of ruthenium red. *Cardiovasc Res.* 1991;25:337-342.
58. Griffiths EJ, Ocampo CJ, Savage RG, Stern MD, Silverman H. Protective effects of low and high doses of cyclosporine a against reoxygenation injury of isolated rat cardiomyocytes: differential effects on mitochondrial calcium. *Cel Calcium.* 2000;27:87-95.
59. Chávez E, García N, Pavón N. Inhibición de la transición de la permeabilidad mitocondrial y del daño por reperfusión miocárdica por ciclosporina A. *Arch Cardiol Mex.* 2007;77:S477-S481.
60. Bryson HM, Fulton BR, Faulk D. Propofol –an update of its use in anesthesia and conscious sedation. *Drugs.* 1995;50:513-559.
61. Murphy PG, Myers DS, Davies WJ, Webster NRJ. The antioxidant potential of propofol. *Brit J Anesth.* 1992;68:616-618.
62. Cockshott ID. Propofol, pharmacokinetics and metabolism –an overview. *Postgrad Med.* 1985;61:45-50.
63. Javadov SA, Lim KHH, Kerr PM, Suleiman MS, Angelini GD. Protection of heart from reperfusion injury by propofol is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc Res.* 2000;45:360-369.
64. Ericksson O. Effects of the general anesthetic propofol on the Ca^{++} induced permeabilization of rat liver mitochondria. *FEBS Lett.* 1991;279:45-48.
65. Sztrark F, Ichas F, Ouhabi R, Dabade P, Mazatt JP. Effects of the anesthetic propofol on the calcium-induced permeability transition of the rat heart mitochondria. *FEBS Lett.* 1995;368:101-104.
66. Aldakkak M, Stowe DF, Chen Q, Lefnefsky EJ, Camara AKS. Inhibited mitochondrial respiration by amobarbital during cardiac ischemia improves redox state and reduces matrix Ca^{++} overload and ROS release. *Cardiovasc Res.* 2008;77:406-415.
67. Obame FN, Zini R, Souktani R, Berdeaux A, Morin D. Peripheral benzodiazepine receptor-induced myocardial protection is mediated by inhibition of mitochondrial membrane permeabilization. *JPET.* 2007;323:336-345.
68. Merrill G, McConnell P, Vandyke K, Powell S. Coronary and myocardial effects of acetaminophen: protection during ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280:H2631-H2638.
69. Merrill GF, Goldberg E. Antioxidant properties of acetaminophen and cardioprotection. *Basic Res Cardiol.* 2001;96:423-430.
70. Gelfetti R, Rork T, Merrill G. Chronically administered acetaminophen and the ischemia/reperfused myocardium. *Exp Biol Med (Maywood).* 2003;228:674-682.
71. Hadzimichalis NM, Baliga SS, Gelfetti R, Jaques KM, Firestein BL et al. Acetaminophen-mediated cardioprotection via inhibition of the

- mitochondrial permeability transition pore induced apoptotic pathway. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007;293:H3348-H3355.
72. Merril GF, Merril JH, Gofetti R, Jaques KM, Hadzichalis NS et al. Antiarrhythmic properties of acetaminophen in the dog. Exp Biol Med. 2007;232:1245-1252.
73. Merril GF, Rork TH, Spiler NM, Gofetti R. Acetaminophen and myocardial infarction in dogs. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004;287:H1913-H1920.
74. Rahman S, Li J, Bopassa JC, Umar S, Iorga A, Partownavid P et al. Phosphorylation of GSK-3 β mediates intralipid-induced cardioprotection against ischemia/reperfusion injury. Anesthesiology. 2011;115:242-253.
75. Li J, Lorga A, Sharma S, Young JY, Parton-Navid R et al. Intralipid, a clinically safe compound, protects the heart against ischemia reperfusion injury more efficiently than cyclosporine A. Anesthesiology. 2012;117:836-846.