

Puesta al día: Síndromes coronarios agudos (IV)

Protección contra el daño miocárdico por isquemia-reperfusión en la práctica clínica



David Garcia-Dorado*, Antonio Rodríguez-Sinovas, Marisol Ruiz-Meana y Javier Inserte

Hospital Universitario e Institut de Recerca Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

Historia del artículo:

On-line el 1 de abril de 2014

Palabras clave:

Daño por reperfusión

Infarto de miocardio

Condicionamiento isquémico remoto

Proteína G

RESUMEN

Pese a recibir lo más tempranamente posible la terapia de reperfusión, un amplio número de los pacientes que sufren infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST tienen infartos que comprometen su supervivencia y su calidad de vida. Parte de la muerte celular secundaria a una oclusión coronaria transitoria ocurre durante la reperfusión, por mal manejo del calcio en el sistema retículo sarcoplasmático-mitocondria, activación de calpaínas, estrés oxidativo y fallo mitocondrial, favorecidos por la rápida normalización del pH intracelular. Varios ensayos clínicos han demostrado que se puede limitar el tamaño del infarto mediante estrategias no farmacológicas —como el poscondicionamiento isquémico y el condicionamiento isquémico remoto— o farmacológicas —como la estimulación de la síntesis de guanosina monofosfato cíclico, la insulina, los agonistas del péptido glucagonoide tipo 1, los bloqueadores beta o la ciclosporina. Diversos ensayos clínicos han dado resultados negativos, en la mayoría de los casos por falta de datos preclínicos consistentes o un diseño equivocado, en particular, administración tardía. Son necesarios, pues, ensayos clínicos grandes con variables clínicas primarias y terapias combinadas y que consideren edad, sexo y comorbilidades, para que la protección contra el daño por reperfusión se convierta en un tratamiento estándar para los pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST.

© 2014 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Protection Against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Clinical Practice

ABSTRACT

Even when reperfusion therapy is applied as early as possible, survival and quality of life are compromised in a considerable number of patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. Some cell death following transient coronary occlusion occurs during reperfusion, due to poor handling of calcium in the sarcoplasmic reticulum-mitochondria system, calpain activation, oxidative stress, and mitochondrial failure, all promoted by rapid normalization of intracellular pH. Various clinical trials have shown that infarct size can be limited by nonpharmacological strategies—such as ischemic postconditioning and remote ischemic conditioning—or by drugs—such as cyclosporine, insulin, glucagon-like peptide-1 agonists, beta-blockers, or stimulation of cyclic guanosine monophosphate synthesis. However, some clinical studies have yielded negative results, largely due to a lack of consistent preclinical data or a poor design, especially delayed administration. Large-scale clinical trials are therefore necessary, particularly those with primary clinical variables and combined therapies that consider age, sex, and comorbidities, to convert protection against reperfusion injury into a standard treatment for patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction.

Full English text available from: www.revespcardiol.org/en

© 2014 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Reperfusion injury

Myocardial infarction

Remote ischemic conditioning

Protein kinase G

Sección patrocinada por AstraZeneca

INTRODUCCIÓN

Importancia del problema. Contribución de la muerte celular al impacto social de la cardiopatía isquémica

La cardiopatía isquémica es la primera causa de muerte en el conjunto de la población mundial y, si no se producen cambios de tendencia imprevistos, seguirá siéndolo en 2030¹. El impacto social de la cardiopatía isquémica es enorme no solo por la mortalidad que causa, sino por la morbilidad, la pérdida de calidad de vida y el elevado coste económico de todo ello. Este impacto se debe en su mayor parte a un mecanismo fisiopatológico: la muerte de los cardiomiocitos. En la cardiopatía isquémica, dicha muerte se

* Autor para correspondencia: Servicio de Cardiología, Hospital Universitari Vall d'Hebron e Institut de Recerca, Universitat Autònoma de Barcelona, Pg. Vall d'Hebron 119–129, 08035 Barcelona, España.

Correo electrónico: dgdorado@vhebron.net (D. Garcia-Dorado).

Abreviaturas

IAMCEST: infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST
 mPTP: poro de transición mitocondrial
 PKG: proteincinasa G
 PostC: poscondicionamiento
 RIC: condicionamiento isquémico remoto

produce casi exclusivamente en el contexto de episodios de isquemia miocárdica grave y prolongada, que ocurren como consecuencia de la complicación trombótica de placas de ateroma de las arterias coronarias epicárdicas, en lo que se conoce como síndrome coronario agudo. La muerte de los cardiomiocitos es más importante cuando la isquemia ocurre por oclusión coronaria completa, en ausencia de circulación colateral bien desarrollada, afecta a la mayor parte del espesor de la pared del ventrículo izquierdo y cursa con elevación del segmento ST en el electrocardiograma (infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST [IAMCEST]).

La muerte celular que ocurre en el síndrome coronario agudo no solo produce una pérdida directa de la actividad contráctil, sino que, además, puede causar cambios geométricos en la pared infartada, y cambios adaptativos en el miocardio restante, que conducen finalmente a disfunción general y dilatación del ventrículo, en un proceso denominado remodelado adverso^{2,3}. La cicatriz y el remodelado adverso conducen a insuficiencia cardíaca y favorecen la aparición de arritmias ventriculares potencialmente letales⁴, de modo que la muerte celular ocurrida durante el síndrome coronario agudo acaba por determinar no solo la mortalidad en la fase aguda, sino la morbimortalidad a largo plazo⁵.

Disminuir la muerte celular durante el síndrome coronario agudo, y en particular durante el IAMCEST, parece pues una estrategia lógica para disminuir el impacto de la cardiopatía isquémica en la salud y la sociedad.

La prevención del daño por reperfusión en el conjunto de estrategias para disminuir el impacto de la cardiopatía isquémica

La cardiopatía isquémica es una enfermedad de etiología mixta, genética y ambiental, cuyo sustrato anatomopatológico es la placa de ateroma. La ateromatosis coronaria se desarrolla de modo clínicamente silente durante años y solo produce manifestaciones clínicas cuando la luz del vaso se estrecha mucho, ya sea como consecuencia del crecimiento de la placa de ateroma o por la aparición de trombosis intracoronaria debida a la complicación de la placa, lo que da lugar a una pérdida de la continuidad endotelial por erosión, fisura o rotura del endotelio⁶. Por lo tanto, prevenir la aparición de placas de ateroma coronarias o su progresión es la primera línea de actuación contra la enfermedad.

Sin embargo, la prevención de la cardiopatía isquémica no está exenta de dificultades. Las intervenciones en el conjunto de la población son de gran coste y no pueden ser muy agresivas, ya que, de lo contrario, el precio en efectos adversos sería muy alto. Las intervenciones más agresivas, encaminadas a evitar el crecimiento de la placa, disminuir el riesgo de complicaciones o atenuar la trombosis secundaria, deben limitarse al tratamiento de sujetos con alto riesgo de sufrir la enfermedad. Aunque se ha avanzado mucho en la identificación de los factores de riesgo y el desarrollo de métodos para calcular el riesgo individual⁷, la eficacia en el control de los factores de riesgo de la enfermedad convencionales

es escasa⁸. Por otra parte, los estudios genéticos han identificado múltiples *loci* asociados a la aparición de la enfermedad ateromatosa, pero esta asociación es muy débil y su efecto en la capacidad predictiva de los factores de riesgo convencionales es escasa, especialmente cuando se tiene en cuenta los antecedentes familiares. La dificultad en prevenir la cardiopatía isquémica queda clara cuando se observa la evolución de su incidencia en distintas poblaciones. En España concretamente, se está lejos de controlar la cardiopatía isquémica con medidas de prevención, teniendo en cuenta, además, que la incidencia de los factores de riesgo convencionales se mantiene esencialmente estable y en algunos casos se prevé que aumente, como ocurre con la diabetes mellitus tipo 2, favorecida por la creciente frecuencia de obesidad infantil^{9,10}.

Es importante tener en cuenta que la eficacia de las estrategias de estratificación del riesgo y la prevención debe medirse no solo por su capacidad para disminuir la aparición de manifestaciones clínicas de cardiopatía isquémica, sino más específicamente, por su capacidad para disminuir la incidencia de síndrome coronario agudo y, en concreto, infarto agudo de miocardio (IAM), que originan la mayor parte de la morbilidad y la mortalidad asociadas a la enfermedad. Sin embargo, existe amplia evidencia de que la ocurrencia de IAM es muy difícil de predecir. En un gran estudio reciente, realizado en 542.008 pacientes con un primer infarto de miocardio, aproximadamente la mitad tenía uno o ningún factor de riesgo convencional^{11,12}. Más aún, cuando se analizó la mortalidad hospitalaria en distintos subgrupos de pacientes, esta fue inversamente proporcional al número de factores de riesgo clásicos que presentaban¹¹. Considerando ambas observaciones conjuntamente, se puede calcular que la gran mayoría de los pacientes que mueren en el hospital por un primer IAM presentaban un perfil de riesgo bajo, con 0-1 factores de riesgo. Por lo tanto, aunque es obvio que los esfuerzos para mejorar la estratificación del riesgo y la prevención de la cardiopatía isquémica son esenciales, no lo es menos la necesidad de mejorar la eficacia del tratamiento del IAM, de modo que su pronóstico mejore. En muchos casos, esta es la primera y única opción que tenemos de alterar el curso de la enfermedad.

El pronóstico del IAM depende fundamentalmente de su extensión, es decir, de la cantidad de células que mueren durante el evento¹³. El tamaño final de una necrosis depende fundamentalmente de la velocidad de progresión del daño isquémico (influida por el flujo residual, ya sea a través de la lesión o la circulación colateral, y por la temperatura, entre otros factores) y la duración de la isquemia^{14,15}. El tratamiento más efectivo para limitar el tamaño del infarto es la reperfusión precoz¹⁶⁻¹⁸. Sin embargo, la cantidad de miocardio salvado por la reperfusión disminuye rápidamente a medida que esta se retrasa y la ventana de tiempo durante la cual la reperfusión limita efectivamente el tamaño del infarto en pacientes con IAMCEST es breve. Después de 3 h de isquemia, en ausencia de circulación colateral y flujo residual (TIMI [Thrombolysis in Myocardial Infarction] 0), la cantidad de miocardio salvado es, en la mayoría de los casos, pequeña o nula¹⁹. La reperfusión más tardía también es beneficiosa, y se recomienda realizarla, en general, durante las primeras 12 h tras la aparición de los síntomas²⁰, pero en este caso el beneficio se debe a los efectos positivos de la reperfusión para la cicatrización, que limita su expansión y el remodelado adverso secundario²⁰ (figura 1).

La breve ventana disponible para limitar el tamaño del infarto mediante la reperfusión hace que, incluso cuando se dispone de sistemas adecuados de administración rápida de tratamiento de reperfusión (angioplastia primaria o trombolisis sin pasar por urgencias, antiagregación y anticoagulación óptimas, etc.), este no evite, en la gran mayoría de los pacientes, la aparición de necrosis que afecta a la mayor parte del espesor de la pared ventricular, lo que produce ondas Q, con consecuencias desfavorables para el pronóstico. La visión convencional es que, cuando el paciente con

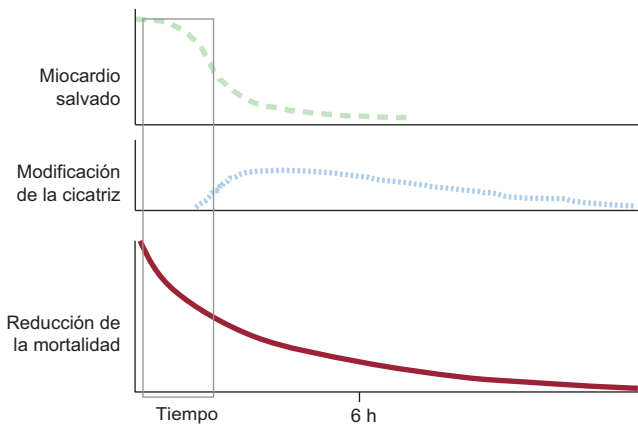


Figura 1. El beneficio de la reperfusion se debe fundamentalmente a la limitación del tamaño del infarto cuando el tiempo total de isquemia es breve. Cuando la reperfusion es más tardía, el efecto en la cicatrización con menor expansión de la cicatriz y remodelado adverso puede ser más importante.

IAMCEST llega a la sala de cateterismo, como ya no es posible acortar la duración de la isquemia ni modificar la circulación colateral o el flujo coronario residual (flujo TIMI), lo único que se puede hacer es abrir la arteria de manera completa y definitiva y observar si se ha llegado a tiempo de salvar miocardio. Sin embargo, una enorme cantidad de información preclínica y una creciente cantidad de datos clínicos indican que es posible aumentar la proporción de miocardio salvado por la reperfusion mediante tratamientos aplicados más o menos en el momento de la reperfusion. El presente artículo analiza la situación actual y el futuro esperable de los tratamientos encaminados a disminuir la muerte celular de pacientes con IAMCEST que reciben tratamiento de reperfusion, y no analizará, por lo tanto, la eficacia de estos tratamientos en otros contextos clínicos, como la cirugía cardiaca o la reanimación cardiopulmonar.

DAÑO POR REPERFUSIÓN

Concepto

Los primeros experimentos de laboratorio con oclusión coronaria transitoria permitieron observar que durante la reperfusion se producía una paradójica exacerbación de las alteraciones funcionales asociadas a la isquemia, en particular arritmias²¹⁻²³. Estudios en corazones aislados y perfundidos demostraron un aumento en la liberación de enzimas cardiacas al restaurar el flujo después de un periodo de isquemia²⁴. Posteriormente, se comprobó que, incluso en ausencia de necrosis, la reperfusion se acompañaba de disfunción contráctil transitoria (aturdimiento)²⁵. Sin embargo, las diferencias en los mecanismos y la relevancia clínica de todos estos fenómenos asociados a la reperfusion dificultaron la aceptación inicial del concepto de daño por reperfusion entre la comunidad científica y médica. La situación cambió cuando se introdujo el concepto de daño letal por reperfusion, con una definición operativa precisa: la muerte celular que se puede prevenir mediante intervenciones aplicadas en el momento de la reperfusion²⁶. En este artículo utilizaremos siempre la expresión «daño por reperfusion» según esta definición, cuya aplicación en el caso del IAMCEST se ilustra en la figura 2²⁷.

Fisiopatología del daño por isquemia-reperfusion

La oclusión de una arteria coronaria crea una zona de isquemia (área en riesgo) cuyos bordes laterales están nítidamente definidos debido a la ausencia de comunicación entre lechos capilares

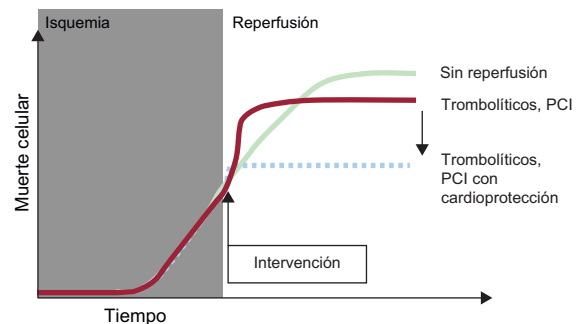


Figura 2. Ilustración del concepto de daño por reperfusion. Durante la isquemia miocárdica, la muerte celular progresa. La reperfusion detiene este proceso, pero el beneficio se limita por el aumento de la muerte celular durante los primeros minutos de reperfusion; esto se puede evitar con tratamientos cardioprotectores aplicados en el momento de la restauración del flujo. PCI: intervención coronaria percutánea primaria. Modificada con permiso de García-Dorado et al²⁷.

adyacentes^{28,29} y en la que el flujo residual, si lo hay, se distribuye por el subepicardio. La reperfusion se acompaña de edema extracelular e intracelular, debido a la permeabilización endotelial y la creación de un gradiente osmótico entre los espacios extravascular e intravascular³⁰. El edema extracelular aparece a los pocos minutos de la reperfusion y puede contribuir a las alteraciones de la función mecánica del miocardio y durar varios días en pacientes con IAMCEST, de modo que se ha utilizado para delimitar la zona de área en riesgo mediante resonancia magnética³⁰. Además de edema, la reperfusion se acompaña de depósito de plaquetas en todo el miocardio reperfundido como consecuencia de su adhesión (dependiente de P-selectina) al endotelio activado.

Si la reperfusion no se lleva a cabo de forma suficientemente precoz, se produce una zona de muerte celular. La muerte celular ocurre fundamentalmente por necrosis, y muy rápidamente, en los primeros minutos de reperfusion²⁶. En contra de lo que se pensó durante un tiempo, la apoptosis no tiene un papel importante en la muerte por isquemia-reperfusion; de hecho, los cardiomiocitos adultos tienen silenciada la expresión de proteínas esenciales en el programa de apoptosis³¹. La zona necrótica tiene una extensión lateral que coincide con la extensión lateral del área en riesgo, y una extensión transmural que crece hacia el subepicardio a medida que la reperfusion se retrasa (fenómeno del frente de onda)¹⁴. Cuando la reperfusion es tardía y el infarto es extenso, se producen en su interior zonas de daño microvascular grave con pérdida de la barrera endotelial, hemorragia intersticial y detención del flujo (áreas sin reflujo)³². Las áreas sin reflujo se asocian a infartos extensos y mal pronóstico, lo que ha llevado a pensar que pueden contribuir a la muerte celular. Sin embargo, no hay evidencia definitiva de que esto sea así, y muchos datos indican que las zonas sin reflujo se producen en zonas ya necrosadas³³. Lo que sí parece probable es que las zonas sin reperfusion dificulten la cicatrización y favorezcan la expansión de la cicatriz y el remodelado adverso posterior³⁴.

Daño celular isquémico

El daño por reperfusion, así definido, puede ocurrir en diversas situaciones clínicas, aparte del IAMCEST, en las que se produce muerte celular secundaria a isquemia miocárdica transitoria, en particular durante la cirugía cardiaca o en la reanimación cardiopulmonar. Sin embargo, los mecanismos implicados pueden ser diferentes en función de las alteraciones producidas antes de restaurar el flujo (concomitancia de hipotermia, soluciones cardiopléjicas, hipoxia con flujo preservado, etc.). Nos centraremos

en los mecanismos del daño por reperfusión que aparece después de un periodo de isquemia grave regional y normotérmica.

Se ha revisado en múltiples ocasiones las alteraciones celulares producidas por la isquemia^{26,35-38}. La isquemia regional causa, en pocos segundos, la detención de la fosforilación oxidativa debido a la falta de oxígeno en la cadena respiratoria mitocondrial. La síntesis de adenosintrifosfato (ATP) queda limitada a la vía glucolítica, lo cual conduce, con el ciclo de Krebs detenido, a una acumulación intracelular de ácido láctico^{26,38}. Este hecho, junto con la imposibilidad de eliminar el CO₂ del espacio extracelular por la detención del flujo, hace que el pH intracelular caiga rápidamente hasta alcanzar en pocos minutos valores próximos a 6,4^{39,40}. La acidosis y la acumulación de fosfato inorgánico detienen en pocos segundos la actividad contráctil, incluso cuando la concentración de ATP sigue siendo prácticamente normal. Durante los minutos siguientes, la concentración de ATP sigue descendiendo hasta alcanzar niveles críticos, muy próximos a cero, que promueven la aparición del rigor isquémico⁴¹. El agotamiento del ATP se acelera en su fase final por la inversión de la actividad de la ATPasa mitocondrial (complejo V de la cadena respiratoria), que lo consume para mantener el potencial de membrana mitocondrial⁴². La acidosis activa el intercambiador Na⁺/H⁺ del sarcolema, con la consiguiente entrada de Na⁺, mientras que el agotamiento energético detiene la expulsión de Na⁺ a través de la Na⁺/K⁺ ATPasa. Como consecuencia de todo ello, el Na⁺ se acumula en el interior de la célula y hace funcionar el intercambiador Na⁺/Ca²⁺ en sentido inverso y aumenta el Ca²⁺ citosólico^{26,38}. La célula se despolariza. Las mitocondrias captan Ca²⁺ a favor de la electronegatividad de su matriz al inicio de la isquemia, pero dejan de hacerlo cuando se despolarizan⁴³. El retículo sarcoplasmático tampoco puede captar Ca²⁺ del citosol, ya que el transportador necesita ATP para funcionar.

Daño por reperfusión

La reinstauración del flujo miocárdico hace que se recupere la actividad respiratoria, el potencial de membrana mitocondrial y la síntesis de ATP. El potencial de membrana celular se recupera, lo que, en presencia de una concentración elevada de Na⁺ en el citosol, pone en marcha el intercambiador Na⁺/Ca²⁺ en su forma inversa, lo que agrava aún más la sobrecarga de Ca²⁺ citosólico. La disponibilidad de ATP en presencia de Ca²⁺ aumentado activa la captación de Ca²⁺ por el retículo sarcoplasmático hasta superar el umbral necesario para abrir los canales de rianodina, con lo que el Ca²⁺ se libera al citosol. La repetición cíclica de este proceso da lugar a oscilaciones de Ca²⁺ que se propagan por la célula^{26,38}. Los canales de rianodina están conectados físicamente con las mitocondrias, de modo que el Ca²⁺ se libera específicamente en microdominios subcelulares desde los que puede entrar, a favor del gradiente de potencial, a la matriz mitocondrial a través del unitransportador mitocondrial de Ca²⁺. Las características fisicoquímicas de este transportador hacen que las oscilaciones de Ca²⁺ favorezcan el aumento del Ca²⁺ mitocondrial. Las oscilaciones de Ca²⁺ y su efecto en las mitocondrias dependen, por una parte, de la actividad de los canales de rianodina y el unitransportador mitocondrial de Ca²⁺ y, por otra, de la actividad del transportador encargado, que a su vez se modula por fosfolambano⁴⁴⁻⁴⁶. Durante la reperfusión, la activación de la proteincinasa A, la proteincinasa G (PKG) y la oxidación/fosforilación de la cinasa dependiente de calcio y calmodulina modulan, a través de cambios en la fosforilación de los canales de rianodina, fosfolambano y el unitransportador mitocondrial de Ca²⁺, la magnitud de las oscilaciones de Ca²⁺ y el grado de sobrecarga de Ca²⁺ mitocondrial⁴⁷.

Las oscilaciones citosólicas de Ca²⁺ tienen consecuencias deletéreas para las células. En primer lugar, favorecen una

activación contráctil excesiva, que puede desencadenar hipercontractura⁴⁸. La hipercontractura es capaz romper la arquitectura celular y causar rotura sarcolemal y muerte celular⁴⁹. En segundo lugar, las oscilaciones de Ca²⁺ crean, a su vez, oscilaciones del potencial de membrana celular en forma de despolarizaciones precoces o pospotenciales, un mecanismo importante de las arritmias por reperfusión⁵⁰. En tercer lugar, favorecen la apertura del poro de transición mitocondrial (mPTP).

El mPTP es un canal de alta permeabilidad, de identidad molecular no bien determinada, que permite la conexión directa entre la matriz mitocondrial y el espacio intermembranario⁵¹. Al abrirse, disipa el potencial de membrana mitocondrial y detiene la síntesis de ATP, causa edema y rotura mitocondrial y permite la salida de moléculas mitocondriales al citosol, incluido el Ca²⁺. Se considera que la permeabilización es un mecanismo importante de muerte celular durante la reperfusión. La permeabilización mitocondrial y la hipercontractura secundaria a la sobrecarga y las oscilaciones de Ca²⁺ están interrelacionadas, de modo que las oscilaciones favorecen la apertura del mPTP⁵² y la permeabilización mitocondrial promueve la salida de Ca²⁺ hacia el citosol, lo que favorece el desarrollo de más oscilaciones e hipercontractura⁵³. Parece que la hipercontractura tiene un papel más importante en la génesis de la muerte celular después de episodios de isquemia relativamente breves, mientras que el mPTP es el principal mecanismo de la muerte celular por reperfusión después de una isquemia prolongada⁵⁴.

Tanto la hipercontractura como la apertura del mPTP se ven favorecidas por dos fenómenos importantes que ocurren durante los primeros minutos de reperfusión. El primero es la normalización rápida del pH intracelular, que permite la activación contráctil y la apertura del mPTP, ambas inhibidas por la acidosis^{55,56}. Además, la normalización del pH permite la activación de las calpaínas, proteasas dependientes de Ca²⁺ que se encontraban inhibidas por el pH ácido. La activación de las calpaínas daña el citoesqueleto e impide la función normal de la Na⁺/K⁺ ATPasa, con lo que agrava la sobrecarga de Na⁺ y Ca²⁺ y cierra el círculo vicioso⁵⁷⁻⁵⁹.

Durante la reperfusión se generan radicales libres del oxígeno que participan de manera muy importante en el daño por reperfusión, ya que favorecen directamente la apertura del mPTP⁶⁰ y agravan las alteraciones de la homeostasis del Ca²⁺ oxidando la cinasa dependiente de calcio y calmodulina⁶¹. Además, lo que es importante, el anión superóxido disocia la sintasa del óxido nítrico (NO) de la tetrahidrobiopterina, lo que resulta en la producción de anión superóxido, un potente oxidante, en vez de NO. El resultado es la disminución de la disponibilidad de NO y de la vía de señalización que este inicia (guanosina monofosfato cíclico [GMPc] y PKG)⁶². La disminución de PKG acelera la normalización del pH (ya que la PKG inhibe el intercambiador Na⁺/H⁺) y favorece las oscilaciones del Ca²⁺ (actuando sobre fosfolambano), acciones ambas con efectos negativos para la supervivencia celular, como ya se ha explicado.

Finalmente, la muerte celular puede propagarse entre miocitos adyacentes a través de las comunicaciones intercelulares tipo *gap junctions*⁶³⁻⁶⁶, que permiten el paso de Na⁺ de una célula a otra⁶⁷. El Na⁺, a su vez, favorece la entrada de Ca²⁺ en la célula contigua y puede causarle la muerte si está suficientemente dañada (es decir, si la función de la bomba de Na está alterada, ha daño en el citoesqueleto, etc.)⁶⁷. La comunicación intercelular a través de *gap junctions* también requiere la normalización del pH, puesto que la acidosis provoca el cierre de estos canales⁶⁸.

Los mecanismos mencionados se resumen en la [figura 3](#).

La microvasculatura y las células sanguíneas

Tanto la isquemia como la reperfusión miocárdica suceden, en realidad, en un tejido que contiene un número muy alto de células

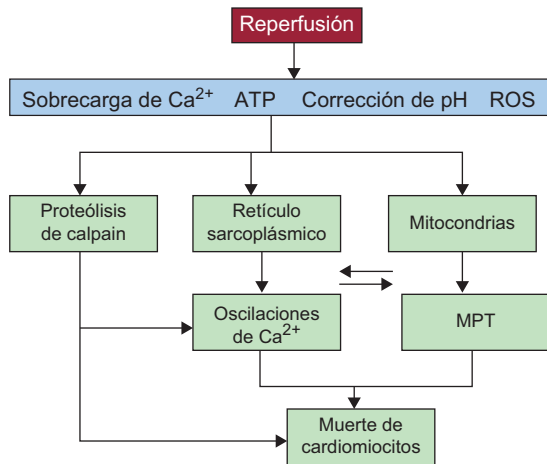


Figura 3. Esquema de los principales mecanismos de la muerte de los cardiomiocitos durante la reperfusión miocárdica. Durante la reperfusión se producen oscilaciones de calcio dependientes del retículo sarcoplásmico y permeabilización mitocondrial favorecida por la sobrecarga de calcio y el estrés oxidativo. La recuperación de la acidosis favorece ambos fenómenos, íntimamente relacionados gracias al contacto físico entre mitocondrias y retículo sarcoplásmico y también la activación de proteasas dependientes del calcio (calpaína) (véase la explicación detallada en el texto). ATP: adenosintrifosfato; MPT: transición de permeabilidad mitocondrial; ROS: radicales de oxígeno libres.

que no son miocitos, como células endoteliales, fibroblastos y células sanguíneas. Las plaquetas activadas que se depositan en el miocardio reperfundido tienen un efecto deletéreo para los cardiomiocitos, por mecanismos independientes de la obstrucción del flujo microvascular y probablemente relacionados con la liberación de sustancias como la trombina. De este modo son capaces de empeorar el manejo del Ca^{2+} y desencadenar otros efectos adversos en las células⁶⁹⁻⁷². La activación de las células endoteliales y la liberación de micropartículas y ARN ribosómico también afecta negativamente a la supervivencia de los miocitos a través de la activación masiva de factor de necrosis tumoral alfa, entre otros factores⁷³.

ESTRATEGIAS MÁS PROMETEDORAS PARA LIMITAR EL DAÑO POR REPERFUSIÓN

La demostración de la existencia del daño por reperfusión se basó en la utilización de herramientas farmacológicas que interferían con los mecanismos antes descritos. Sin embargo, por razones que se analizan más adelante, ninguna de estas herramientas se ha trasladado a la práctica clínica. Por lo tanto, son múltiples las dianas potencialmente útiles para el tratamiento del daño por reperfusión para las que no se han desarrollado medicamentos⁷⁴.

Cardioprotección endógena

El primer tratamiento aplicado con éxito a pacientes con IAMCEST fue el poscondicionamiento isquémico (PostC)^{75,76}. A diferencia de los tratamientos farmacológicos, el PostC disminuye el daño por reperfusión introduciendo breves episodios de isquemia justo al comienzo de la reperfusión⁷⁷, por lo cual tiene efecto protector sin necesidad de agentes externos (cardioprotección endógena).

El PostC actúa por mecanismos diferentes que el preconditionamiento isquémico, en el que periodos de isquemia breves y repetidos inmediatamente antes de un episodio largo disminuyen la muerte celular causada por este. El preconditionamiento

isquémico ofrece una protección más robusta, pero no es aplicable a pacientes con IAMCEST. La protección otorgada por el PostC no solamente es menor, sino que varía dependiendo de las condiciones. Su eficacia es escasa o nula después de episodios de isquemia breves que causan infartos pequeños⁷⁸. El efecto protector del PostC se debe fundamentalmente a que retrasa unos minutos la normalización del pH intracelular, debido al enlentecimiento del lavado de metabolitos secundario a las interrupciones del flujo, y a la disminución del daño oxidativo, que preserva la vía de señalización NO-GMPc-PKG, inhibiendo el intercambiador Na^+/H^+ ^{79,80}.

Recientemente se ha descrito una forma de protección endógena consistente en inducir a distancia (generalmente en las extremidades) isquemia miocárdica intermitente inmediatamente antes o en los primeros minutos de reperfusión: el condicionamiento isquémico remoto (RIC)⁸¹⁻⁸³. El RIC tiene sobre el PostC la ventaja de que no requiere manipular la arteria coronaria durante los primeros minutos de reperfusión, pero los mecanismos por los que ejerce su efecto protector siguen sin esclarecerse^{83,84}.

Cardioprotección farmacológica

La preservación de la vía de señalización de la PKG tiene múltiples efectos protectores. Además de retrasar la normalización del pH y reducir las oscilaciones del Ca^{2+} como ya se ha descrito, parece que tiene efectos mitocondriales directos que dificultan la permeabilización mitocondrial⁸⁵. De hecho, hay amplia evidencia del efecto protector de los tratamientos que normalizan el GMPc al principio de la reperfusión, bien sea mediante estimulación de la guanilatociclasa particulada mediante péptidos natriuréticos⁸⁶, bien mediante estimulación directa e independiente de NO de la guanilatociclasa soluble⁸⁷. La utilidad de la estimulación de la guanilatociclasa soluble mediante NO exógeno no es tan homogénea, probablemente porque el exceso de NO puede causar daño oxidativo⁸⁸.

Otra estrategia ampliamente estudiada, usando tanto intervenciones farmacológicas^{89,90} como modelos genéticamente modificados⁹⁰, es inhibir la apertura del mPTP. En ambos casos se actúa sobre una de las proteínas que participan en su apertura inducida por Ca^{2+} , la ciclofilina D. La ciclosporina, un fármaco ampliamente utilizado como inmunosupresor, actúa a través de la ciclofilina D inhibiendo el mPTP^{89,90} en respuesta al Ca^{2+} . Se está estudiando otras moléculas para inhibir el mPTP sobre las que la información existente es preliminar. Más recientemente, se ha identificado la disfunción del complejo I de la cadena respiratoria como una diana potencialmente útil, y se han propuesto distintas formas de prevenirla, sobre las que, sin embargo, hay poca información.

Se están realizando estudios preclínicos sobre otras dianas, entre las que destacan las relacionadas con la vía de señalización de la insulina y el metabolismo energético. Entre las primeras, la aplicación precoz de soluciones con glucosa, insulina y potasio⁹¹⁻⁹³ y los miméticos estables del péptido glucagonoide tipo 1⁹⁴ han recibido particular atención y han proporcionado resultados prometedores. Otras formas potencialmente protectoras de alterar el metabolismo energético en el momento de la reperfusión incluyen el uso de trimetazidina⁹⁵ o el aporte de sustratos específicos⁹⁶.

Finalmente, hay muchas otras intervenciones sobre distintas dianas dirigidas a mecanismos del daño por reperfusión; sin embargo, sus efectos resultan controvertidos. Entre ellas se encuentra la activación de leucocitos o factores del complemento (que ocurre cuando la mayor parte de la muerte celular ha sucedido) o la apoptosis dependiente de caspasas (una vía de muerte celular prácticamente inoperante en cardiomiocitos adultos).

ENSAYOS CLÍNICOS

Durante la última década, varios ensayos clínicos han testado en pacientes distintas estrategias para limitar el tamaño del infarto y disminuir el daño por reperfusión. Sus poblaciones diana, tamaños muestrales, diseños, objetivos primarios y resultados se han revisado recientemente⁹⁷⁻¹⁰⁰. Todos ellos carecen de potencia estadística para detectar efectos en la evolución clínica y están dimensionados para detectarlas en variables subrogadas, en concreto tamaño del infarto, medido o estimado por distintos métodos. Algunas estrategias, como el PostC, han sido objeto de múltiples estudios e incluso metanálisis, mientras que para otras intervenciones solo hay datos disponibles de un único estudio. A continuación se analizan los resultados obtenidos con distintas intervenciones cardioprotectoras.

Condicionamiento isquémico

En general, los estudios basados en maniobras de condicionamiento isquémico han sido positivos¹⁰¹.

Poscondicionamiento isquémico

Varios estudios han analizado la eficacia de este tratamiento, el primero descrito como capaz de limitar el daño por reperfusión de los pacientes. En el estudio inicial, se realizaron reoclusiones de la arteria reperfundida mediante cuatro inflados del balón de angioplastia de 1 min de duración, separados por periodos de 1 min con el balón desinflado, comenzando al minuto de abrir la arteria. Este protocolo disminuyó significativamente el tamaño del infarto medido como área bajo la curva de creatinina⁷⁵. Estudios posteriores realizados por distintos grupos obtuvieron resultados variados^{76,102-105}, cuyas diferencias se ha intentado explicar por la participación de distintos factores, como el diferente grado de utilización de *stent* directo, o diferencias en la antiagregación perioperatoria¹⁰³. Aunque considerados en general los datos existentes indican que el PostC produce cierta disminución del tamaño del infarto¹⁰⁶, el uso de este procedimiento no se ha extendido apreciablemente durante los últimos años, probablemente por la escasa y variable protección que parece proporcionar, su carácter antiintuitivo (producir reoclusiones) y el temor a complicaciones por los inflados repetidos del balón de angioplastia. Una limitación común a los distintos ensayos clínicos sobre PostC es que no pueden ser a doble ciego. Esta es una limitación importante que deja abierta la puerta a posibles sesgos en la exclusión de pacientes, asignación de eventos y determinaciones no completamente automatizadas, como es el caso de la determinación del tamaño mediante resonancia magnética¹⁰⁷.

Condicionamiento isquémico a distancia

Al igual que ocurrió con el PostC, el RIC se aplicó a pacientes al poco tiempo de haberse descrito en estudios de laboratorio y mucho antes de que sus mecanismos fuesen conocidos¹⁰⁸. El RIC puede inducirse mediante el inflado de un manguito de presión arterial colocado en el brazo hasta presiones superiores a la sistólica durante periodos de 5 min separados 5 min. Los resultados descritos hasta el momento son coherentemente positivos y concordantes con la evidencia preclínica. El RIC tiene múltiples ventajas sobre el PostC, y es un firme candidato a ocupar un lugar en las recomendaciones de práctica clínica. En primer lugar, es extraordinariamente seguro y barato; segundo, puede aplicarse en la ambulancia y a todos los pacientes con IAMCEST que reciben tratamiento de reperfusión, no solo a los que reciben angioplastia primaria, y tercero, la protección proporcionada por el RIC parece ir

más allá del área miocárdica en riesgo y el IAMCEST. Hay en marcha estudios en otros tejidos¹⁰⁹, y ya hay evidencia sólida de que disminuye el daño miocárdico en distintos tipos de cirugía^{110,111}, particularmente la revascularización coronaria^{112,113}. Aunque es complicado hacer que los estudios sobre RIC sean a doble ciego, no es imposible, ya que se puede utilizar inflados a baja presión programados automáticamente que actúan como tratamiento placebo¹¹⁴.

Tratamientos farmacológicos

Los resultados de tratamientos farmacológicos para disminuir el tamaño del infarto en IAMCEST son tan variados como las estrategias y los diseños utilizados. Sin embargo, los estudios basados en estrategias con una experiencia preclínica claramente sólida y diseños que reproducen fielmente las condiciones de los estudios preclínicos han sido generalmente positivos^{108,115-119}.

Péptido natriurético auricular

La diana farmacológica para la prevención del daño miocárdico por reperfusión sobre la que hay evidencia preclínica más sólida probablemente sea la vía de señalización GMPc/PKG. Sin embargo, solo un ensayo clínico ha evaluado directamente esta estrategia en pacientes con IAMCEST¹¹⁵, y demostró limitación del infarto enzimático y mejoría de la función ventricular de pacientes que recibieron péptido natriurético auricular intravenoso en el momento de la reperfusión, de modo que reprodujeron el efecto beneficioso de este tratamiento en animales⁸⁶.

Glucosa-insulina-potasio

La administración de insulina también señala a través de la vía GMPc/PKG (vía Akt y PI3P), además de incrementar la utilización de la glucosa^{120,121}. La evidencia preclínica sobre la utilidad de la insulina al principio de la reperfusión miocárdica es sólida^{91,120-123}. Sin embargo, la traslación a la clínica dio lugar a resultados negativos, fáciles de explicar por la administración demasiado tardía del tratamiento¹²⁴⁻¹²⁶. Un reciente estudio aleatorizado y a doble ciego ha encontrado, no obstante, que la administración de glucosa-insulina-potasio es capaz de reducir el tamaño del infarto y las complicaciones eléctricas graves cuando se administra en la ambulancia a pacientes con IAMCEST que van a recibir angioplastia primaria¹¹⁷.

Péptido glucagonoide tipo 1

La estimulación de la vía del péptido glucagonoide tipo 1 también actúa, entre otras vías, por la del GMPc/PKG^{127,128}. Hay evidencia sólida sobre los efectos cardioprotectores de potenciar la señalización dependiente del péptido glucagonoide tipo 1, bien sea utilizando análogos estables del péptido glucagonoide tipo 1, bien inhibidores de su degradación^{128,129}. Se han realizado dos ensayos clínicos para evaluar el efecto de exenatida en pacientes con IAMCEST sometidos a angioplastia primaria, y ambos han sido positivos^{118,130}. Dado su elevado perfil de seguridad, esta estrategia resulta especialmente prometedora.

Adenosina

La adenosina es producto de la degradación de adenosina monofosfato y tiene, entre otros, un potente efecto vasodilatador. Además de sus efectos en la vasculatura y los leucocitos, tiene

razones que más frecuentemente han conducido a resultados negativos son las siguientes: a) utilización de tratamientos que, según la investigación preclínica, requieren administrarlos antes de la isquemia, como los inhibidores del intercambiador Na^+/H^+ , que se han demostrado eficaces solo cuando se administran antes de la isquemia¹⁴⁰⁻¹⁴² y fallaron en los estudios clínicos en que se administraron en el momento de la reperfusión¹⁴³; b) comienzo tardío del tratamiento, pues múltiples ensayos han iniciado la aplicación de los tratamientos en estudio después de los primeros 30 min de reperfusión, cuando la mayor parte del daño por reperfusión ya ha ocurrido, como es el caso de estudios con glucosa-insulina-potasio¹²⁴ o eritropoyetina¹⁴⁴, y c) estrategias terapéuticas con evidencia preclínica claramente insuficiente o contradictoria, por ejemplo, la asistencia mecánica ventricular durante la reperfusión¹⁴⁵, la inhibición de la proteínasa C-delta¹⁴⁶, la inhibición del sistema del complemento¹⁴⁷ o el nicorandil¹¹⁵.

Además de un diseño incorrecto, poco justificado o muy arriesgado, otros factores pueden dificultar la traslación de los datos experimentales a la clínica¹⁰⁰. Uno muy importante es la edad avanzada y las comorbilidades de los pacientes, en contraste con la utilización de animales sanos y jóvenes en los estudios de laboratorio. Otro es la concomitancia de terapias que pueden tener efecto protector o interferir con el de los tratamientos⁹⁷. Finalmente, la elevada variabilidad del tamaño del infarto y el flujo residual o la circulación colateral en pacientes con IAM hace más difícil la detección de diferencias entre grupos^{97,100}. Para evitar estos problemas, se han propuesto directrices respecto a la investigación preclínica y el diseño de estudios clínicos sobre protección contra el daño por reperfusión¹⁹.

Finalmente, la evidencia de que una intervención disminuye el tamaño del infarto en pacientes con IAMCEST no es suficiente para su aplicación en la práctica clínica. Es preciso realizar estudios con variables principales clínicas robustas, que requieren un gran número de pacientes con beneficio clínico confirmado.

PROTECCIÓN CONTRA EL DAÑO POR REPERFUSIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA ACTUAL Y EN EL FUTURO INMEDIATO

Todos los tratamientos contra el daño por reperfusión en el IAMCEST descritos hasta aquí son en este momento experimentales. Sin embargo, se puede hablar de protección contra el daño miocárdico en algunas situaciones de la práctica clínica. En primer lugar, en estudios preclínicos se ha demostrado que algunos de los tratamientos que reciben los pacientes con IAMCEST tienen un efecto cardioprotector. Entre ellos, la morfina y sus derivados¹⁴⁸, inhibidores P2Y₁₂ otros fármacos antiplaquetarios¹⁴⁹ y las estatinas¹⁵⁰ o los bloqueadores beta¹³⁷. En segundo lugar, hay tratamientos que, por su simplicidad y seguridad, algunos grupos podrían adoptar antes de que haya evidencia sólida sobre su utilidad clínica real. El PostC es uno de ellos. El RIC podría entrar en esta categoría.

En este momento hay estudios en marcha para evaluar tratamientos contra el daño por reperfusión utilizando variables subrogadas, y están ya en marcha algunos grandes estudios que utilizan variables de resultado clínico. La siguiente frontera será probablemente doble; por una parte, incluirá la personalización del tratamiento antirreperfusión en función de la situación clínica, las características del paciente y las comorbilidades. Por otra, la combinación de distintas estrategias complementarias. Algunos de estos estudios ya están en fase de diseño y pendientes de financiación.

CONCLUSIONES

La protección miocárdica contra el daño por reperfusión es una estrategia prometedora para disminuir las consecuencias de la

enfermedad coronaria para la salud individual y la sociedad. Durante los próximos años será necesario profundizar en el estudio de los mecanismos moleculares de la muerte celular durante la reperfusión miocárdica y en el desarrollo de nuevos tratamientos para prevenirlo y definir la mejor forma de utilizar estos tratamientos en la práctica clínica. Al tratarse de tratamientos que se aplicarían una sola vez en la mayoría de los pacientes, su desarrollo compete en desventaja con el de fármacos para uso crónico, mucho más rentables. Hasta ahora, los fármacos utilizados para este fin ya se estaban utilizando en otras indicaciones (*repurposing*). La tarea de añadir al arsenal contra el daño por reperfusión fármacos específicamente diseñados se debería incentivar activamente. El papel de la financiación pública es particularmente imprescindible en la investigación de tratamientos sin valor económico, como el RIC. Los datos disponibles hacen esperar que, con el esfuerzo combinado de investigadores, académicos, agencias públicas e industria, el tratamiento del daño por reperfusión sea una realidad que mejore la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes con IAMCEST y limite el impacto social de la cardiopatía isquémica en un futuro próximo.

FINANCIACIÓN

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y el Instituto de Salud Carlos III (Red de Investigación Cardiovascular RD12/0042/0021, PI12/00788, PI12/01738 y SAF2008/03067).

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

- Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006;3:e442.
- Sabbah HN, Goldstein S. Ventricular remodeling: consequences and therapy. *Eur Heart J.* 1993;14 (suppl C):24-9.
- Gajarsa JJ, Kloner RA. Left ventricular remodeling in the post-infarction heart: a review of cellular, molecular mechanisms, and therapeutic modalities. *Heart Fail Rev.* 2011;16:13-21.
- Gaudron P, Eilles C, Kugler I, Ertl G. Progressive left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction. Potential mechanisms and early predictors. *Circulation.* 1993;87:755-63.
- Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35:569-82.
- Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, Corti R, Badimon JJ. Atherosclerosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:937-54.
- Smith Jr SC. Current and future directions of cardiovascular risk prediction. *Am J Cardiol.* 2006;97:28A-32A.
- Scirica BM. Acute coronary syndrome: emerging tools for diagnosis and risk assessment. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:1403-15.
- Quelly SB, Lieberman LS. Global prevalence of overweight and obesity in preschoolers. *Anthropol Anz.* 2011;68:437-56.
- Franco M, Sanz B, Otero L, Dominguez-Vila A, Caballero B. Prevention of childhood obesity in Spain: a focus on policies outside the health sector. *SESPAS report 2010.* *Gac Sanit.* 2010;24 Suppl 1:49-55.
- Canto JG, Kiefe CI, Rogers WJ, Peterson ED, Frederick PD, French WJ, et al. Number of coronary heart disease risk factors and mortality in patients with first myocardial infarction. *JAMA.* 2011;306:2120-7.
- Canto JG, Kiefe CI, Rogers WJ, Peterson ED, Frederick PD, French WJ, et al. Atherosclerotic risk factors and their association with hospital mortality among patients with first myocardial infarction (from the National Registry of Myocardial Infarction). *Am J Cardiol.* 2012;110:1256-61.
- Thompson PL, Fletcher EE, Katavatis V. Enzymatic indices of myocardial necrosis: influence on short- and long-term prognosis after myocardial infarction. *Circulation.* 1979;59:113-9.
- Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation.* 1977;56:786-94.

15. García-Dorado D, García del Blanco B. Door-to-balloon time and mortality. *N Engl J Med*. 2014;370:179.
16. Downey JM, Cohen MV. Reducing infarct size in the setting of acute myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis*. 2006;48:363-71.
17. Goel K, Pinto DS, Gibson CM. Association of time to reperfusion with left ventricular function and heart failure in patients with acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention: a systematic review. *Am Heart J*. 2013;165:451-67.
18. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. Intravenous streptokinase given within 0-4 hours of onset of myocardial infarction reduced mortality in ISIS-2. *Lancet*. 1987;1:502.
19. Hausenloy DJ, Bøtker HS, Condorelli G, Ferdinandy P, García-Dorado D, Heusch G, et al. Translating cardioprotection for patient benefit: position paper from the Working Group of Cellular Biology of the Heart of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res*. 2013;98:7-27.
20. Takemura G, Nakagawa M, Kanamori H, Minatoguchi S, Fujiwara H. Benefits of reperfusion beyond infarct size limitation. *Cardiovasc Res*. 2009;83:269-76.
21. Tennant R, Wiggers CJ. The effect of coronary occlusion on myocardial contraction. *Am J Physiol*. 1935;112:351-61.
22. Majidi M, Kosinski AS, Al Khatib SM, Lemmert ME, Smolders L, Van Weert A, et al. Reperfusion ventricular arrhythmia 'bursts' in TIMI 3 flow restoration with primary angioplasty for anterior ST-elevation myocardial infarction: a more precise definition of reperfusion arrhythmias. *Europace*. 2008;10:988-97.
23. Lang TW, Corday E, Gold H, Meerbaum S, Rubins S, Costantini C, et al. Consequences of reperfusion after coronary occlusion Effects on hemodynamic and regional myocardial metabolic function. *Am J Cardiol*. 1974;33:69-81.
24. Sakai K, Gebhard MM, Spieckermann PG, Bretschneider HJ. Enzyme release resulting from total ischemia and reperfusion in the isolated, perfused guinea pig heart. *J Mol Cell Cardiol*. 1975;7:827-40.
25. Heusch G, Schulz R. Characterization of hibernating and stunned myocardium. *Eur Heart J*. 1997;18(18 Suppl D):D102-10.
26. Piper HM, García-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 1998;38:291-300.
27. García-Dorado D, Piper HM. Postconditioning: reperfusion of «reperfusion injury» after hibernation. *Cardiovasc Res*. 2006;69:1-3.
28. Sjöquist PO, Duker G, Almgren O. Distribution of the collateral blood flow at the lateral border of the ischemic myocardium after acute coronary occlusion in the pig and the dog. *Basic Res Cardiol*. 1984;79:164-75.
29. Berry C, Balachandran KP, L'Allier PL, Lesperance J, Bonan R, Oldroyd KG. Importance of collateral circulation in coronary heart disease. *Eur Heart J*. 2007;28:278-91.
30. García-Dorado D, Andres-Villarreal M, Ruiz-Meana M, Inserte J, Barba I. Myocardial edema: a translational view. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;52:931-9.
31. Sanchis D, Llovera M, Ballester M, Comella JX. An alternative view of apoptosis in heart development and disease. *Cardiovasc Res*. 2008;77:448-51.
32. Schwartz BG, Kloner RA. Coronary no reflow. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;52:873-82.
33. Barrabes JA, García-Dorado D, Gonzalez MA, Ruiz-Meana M, Solares J, Puigfeli Y, et al. Regional expansion during myocardial ischemia predicts ventricular fibrillation and coronary reocclusion. *Am J Physiol*. 1998;274:H1767-75.
34. Reffelmann T, Hale SL, Dow JS, Kloner RA. No-reflow phenomenon persists long-term after ischemia/reperfusion in the rat and predicts infarct expansion. *Circulation*. 2003;108:2911-7.
35. García-Dorado D. Myocardial reperfusion injury: a new view. *Cardiovasc Res*. 2004;61:363-4.
36. García-Dorado D, Ruiz-Meana M, Piper HM. Lethal reperfusion injury in acute myocardial infarction: facts and unresolved issues. *Cardiovasc Res*. 2009;83:165-8.
37. Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*. 2003;75:S644-8.
38. Piper HM, Abdallah Y, Schafer C. The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 2004;61:365-71.
39. Hendriks M, Mubagwa K, Verdonck F, Overloop K, Van Hecke P, Vanstapel F, et al. New Na(+)-H+ exchange inhibitor HOE 694 improves postischemic function and high-energy phosphate resynthesis and reduces Ca2+ overload in isolated perfused rabbit heart. *Circulation*. 1994;89:2787-98.
40. Inserte J, Barba I, Hernandez V, García-Dorado D. Delayed recovery of intracellular acidosis during reperfusion prevents calpain activation and determines protection in postconditioned myocardium. *Cardiovasc Res*. 2009;81:116-22.
41. Bowers KC, Allshire AP, Cobbold PH. Bioluminescent measurement in single cardiomyocytes of sudden cytosolic ATP depletion coincident with rigor. *J Mol Cell Cardiol*. 1992;24:213-8.
42. Grover GJ, Atwal KS, Sleph PG, Wang FL, Monshizadegan H, Monticello T, et al. Excessive ATP hydrolysis in ischemic myocardium by mitochondrial F1F0-ATPase: effect of selective pharmacological inhibition of mitochondrial ATPase hydrolase activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287:H1747-55.
43. Ruiz-Meana M, García-Dorado D, Miro-Casas E, Abellan A, Soler-Soler J. Mitochondrial Ca2+ uptake during simulated ischemia does not affect permeability transition pore opening upon simulated reperfusion. *Cardiovasc Res*. 2006;71:715-24.
44. Piper HM, Kasseckert S, Abdallah Y. The sarcoplasmic reticulum as the primary target of reperfusion protection. *Cardiovasc Res*. 2006;70:170-3.
45. Piper HM, Abdallah Y, Kasseckert S, Schluter KD. Sarcoplasmic reticulum-mitochondrial interaction in the mechanism of acute reperfusion injury. *Viewpoint Cardiovasc Res*. 2008;77:234-6.
46. Kranias EG, Hajjar RJ. Modulation of cardiac contractility by the phospholamban/SERCA2a regulome. *Circ Res*. 2012;110:1646-60.
47. Joiner ML, Koval OM, Li J, He BJ, Allamargot C, Gao Z, et al. CaMKII determines mitochondrial stress responses in heart. *Nature*. 2012;491:269-73.
48. Ruiz-Meana M, García-Dorado D, Gonzalez MA, Barrabes JA, Soler-Soler J. Effect of osmotic stress on sarcolemmal integrity of isolated cardiomyocytes following transient metabolic inhibition. *Cardiovasc Res*. 1995;30:64-9.
49. Barrabes JA, García-Dorado D, Ruiz-Meana M, Piper HM, Solares J, Gonzalez MA, et al. Myocardial segment shrinkage during coronary reperfusion in situ Relation to hypercontracture and myocardial necrosis. *Plügers Arch*. 1996;431:519-26.
50. Priori SG, Mantica M, Napolitano C, Schwartz PJ. Early afterdepolarizations induced in vivo by reperfusion of ischemic myocardium. A possible mechanism for reperfusion arrhythmias. *Circulation*. 1990;81:1911-20.
51. Halestrap AP. What is the mitochondrial permeability transition pore? *J Mol Cell Cardiol*. 2009;46:821-31.
52. Abdallah Y, Kasseckert SA, Iraqi W, Said M, Shahzad T, Erdogan A, et al. Interplay between Ca2+ cycling and mitochondrial permeability transition pores promotes reperfusion-induced injury of cardiac myocytes. *J Cell Mol Med*. 2011;15:2478-85.
53. Ruiz-Meana M, Abellan A, Miro-Casas E, García-Dorado D. Opening of mitochondrial permeability transition pore induces hypercontracture in Ca(2+) overloaded cardiac myocytes. *Basic Res Cardiol*. 2007;102:542-52.
54. Ruiz-Meana M, Inserte J, Fernandez-Sanz C, Hernandez V, Miro-Casas E, Barba I, et al. The role of mitochondrial permeability transition in reperfusion-induced cardiomyocyte death depends on the duration of ischemia. *Basic Res Cardiol*. 2011;106:1259-68.
55. Ruiz-Meana M, Pina P, García-Dorado D, Rodriguez-Sinovas A, Barba I, Miro-Casas E, et al. Glycine protects cardiomyocytes against lethal reoxygenation injury by inhibiting mitochondrial permeability transition. *J Physiol*. 2004;558:873-82.
56. Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J*. 1995;307:93-8.
57. Inserte J, García-Dorado D, Ruiz-Meana M, Agullo L, Pina P, Soler-Soler J. Ischemic preconditioning attenuates calpain-mediated degradation of structural proteins through a protein kinase A-dependent mechanism. *Cardiovasc Res*. 2004;64:105-14.
58. Inserte J, García-Dorado D, Hernandez V, Soler-Soler J. Calpain-mediated impairment of Na+/K+-ATPase activity during early reperfusion contributes to cell death after myocardial ischemia. *Circ Res*. 2005;97:465-73.
59. Hernandez V, Inserte J, Sartorio CL, Parra VM, Poncelas-Nozal M, García-Dorado D. Calpain translocation and activation as pharmacological targets during myocardial ischemia/reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;49:271-9.
60. Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 2004;61:372-85.
61. Erickson JR, He BJ, Grumbach IM, Anderson ME. CaMKII in the cardiovascular system: sensing redox states. *Physiol Rev*. 2011;91:889-915.
62. Inserte J, Hernandez V, Vilarrosa U, Abad E, Poncelas-Nozal M, García-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:e005975.
63. Rodriguez-Sinovas A, Sanchez JA, Gonzalez-Loyola A, Barba I, Morente M, Aguilar R, et al. Effects of substitution of Cx43 by Cx32 on myocardial energy metabolism, tolerance to ischemia and preconditioning protection. *J Physiol*. 2010;588:1139-51.
64. Sanchez JA, Rodriguez-Sinovas A, Barba I, Miro-Casas E, Fernandez-Sanz C, Ruiz-Meana M, et al. Activation of RISK and SAFE pathways is not involved in the effects of Cx43 deficiency on tolerance to ischemia-reperfusion injury and preconditioning protection. *Basic Res Cardiol*. 2013;108:351.
65. Rodriguez-Sinovas A, García-Dorado D, Ruiz-Meana M, Soler-Soler J. Enhanced effect of gap junction uncouplers on macroscopic electrical properties of reperfused myocardium. *J Physiol*. 2004;559:245-57.
66. García-Dorado D, Rodriguez-Sinovas A, Ruiz-Meana M. Gap junction-mediated spread of cell injury and death during myocardial ischemia-reperfusion. *Cardiovasc Res*. 2004;61:386-401.
67. Ruiz-Meana M, García-Dorado D, Hofstaetter B, Piper HM, Soler-Soler J. Propagation of cardiomyocyte hypercontracture by passage of Na(+) through gap junctions. *Circ Res*. 1999;85:280-7.
68. Liu S, Taffet S, Stoner L, Delmar M, Vallano ML, Jalife J. A structural basis for the unequal sensitivity of the major cardiac and liver gap junctions to intracellular acidification: the carboxyl tail length. *Biophys J*. 1993;64:1422-33.
69. Barrabes JA, García-Dorado D, Mirabet M, Inserte J, Agullo L, Soriano B, et al. Antagonism of selectin function attenuates microvascular platelet deposition and platelet-mediated myocardial injury after transient ischemia. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:293-9.
70. Barrabes JA, Inserte J, Mirabet M, Quiroga A, Hernandez V, Figueras J, et al. Antagonism of P2Y12 or GPIIb/IIIa receptors reduces platelet-mediated myocardial injury after ischaemia and reperfusion in isolated rat hearts. *Thromb Haemost*. 2010;104:128-35.
71. Mirabet M, García-Dorado D, Inserte J, Barrabes JA, Lidon RM, Soriano B, et al. Platelets activated by transient coronary occlusion exacerbate ischemia-

- reperfusion injury in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;283:H1134–41.
72. Mirabet M, Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Barrabes JA, Soler-Soler J. Thrombin increases cardiomyocyte acute cell death after ischemia and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;39:277–83.
 73. Simsekilyilmaz S, Cabrera-Fuentes HA, Meiler S, Kostin S, Baumer Y, Liehn EA, et al. Role of extracellular RNA in atherosclerotic plaque formation in mice. *Circulation.* 2014;129:598–606.
 74. Inserte J, Barrabes JA, Hernandez V, Garcia-Dorado D. Orphan targets for reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2009;83:169–78.
 75. Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation.* 2005;112:2143–8.
 76. Thuny F, Lairez O, Roubille F, Mewton N, Rioufol G, Sportouch C, et al. Post-conditioning reduces infarct size and edema in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59:2175–81.
 77. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H579–88.
 78. Rodriguez-Sinovas A, Cabestrero A, Garcia DB, Inserte J, Garcia A, Garcia-Dorado D. Intracoronary acid infusion as an alternative to ischemic postconditioning in pigs. *Basic Res Cardiol.* 2009;104:761–71.
 79. Inserte J, Ruiz-Meana M, Rodriguez-Sinovas A, Barba I, Garcia-Dorado D. Contribution of delayed intracellular pH recovery to ischemic postconditioning protection. *Antioxid Redox Signal.* 2011;14:923–39.
 80. Inserte J, Barba I, Poncelas-Nozal M, Hernandez V, Agullo 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;50:903–9.
 81. Andreka G, Vertesaljai M, Szanthoni G, Font G, Piroth Z, Fontos G, et al. Remote ischaemic postconditioning protects the heart during acute myocardial infarction in pigs. *Heart.* 2007;93:749–52.
 82. Schmidt MR, Smerup M, Konstantinov IE, Shimizu M, Li J, Cheung M, et al. Intermittent peripheral tissue ischemia during coronary ischemia reduces myocardial infarction through a KATP-dependent mechanism: first demonstration of remote ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;292:H1883–90.
 83. Hausenloy DJ, Iliodromitis EK, Andreadou I, Papalois A, Gritsopoulos G, Anastasiou-Nana M, et al. Investigating the signal transduction pathways underlying remote ischemic conditioning in the porcine heart. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2012;26:87–93.
 84. Shi W, Vinten-Johansen J. Endogenous cardioprotection by ischaemic post-conditioning and remote conditioning. *Cardiovasc Res.* 2012;94:206–16.
 85. Cohen MV, Downey JM. Ischemic postconditioning: from receptor to end-effector. *Antioxid Redox Signal.* 2011;14:821–31.
 86. Padilla F, Garcia-Dorado D, Agullo L, Barrabes JA, Inserte J, Escalona N, et al. Intravenous administration of the natriuretic peptide urodilatin at low doses during coronary reperfusion limits infarct size in anesthetized pigs. *Cardiovasc Res.* 2001;51:592–600.
 87. Bice JS, Keim Y, Stasch JP, Baxter GF. NO-independent stimulation or activation of soluble guanylyl cyclase during early reperfusion limits infarct size. *Cardiovasc Res.* 2014;101:220–8.
 88. Ferdinandy P, Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol.* 2003;138:532–43.
 89. Skyschally A, Schulz R, Heusch G, Cyclosporine A. at reperfusion reduces infarct size in pigs. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2010;24:85–7.
 90. Baines CP, Kaiser RA, Purcell NH, Blair NS, Osinska H, Hambleton MA, et al. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature.* 2005;434:658–62.
 91. Abdallah Y, Gkatzoflia A, Gligorievski D, Kasseckert S, Euler G, Schluter KD, et al. Insulin protects cardiomyocytes against reoxygenation-induced hypercontracture by a survival pathway targeting SR Ca²⁺ storage. *Cardiovasc Res.* 2006;70:346–53.
 92. Jonassen AK, Aasum E, Riemersma RA, Mjos OD, Larsen TS. Glucose-insulin-potassium reduces infarct size when administered during reperfusion. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2000;14:615–23.
 93. Jonassen AK, Sack MN, Mjos OD, Yellon DM. Myocardial protection by insulin at reperfusion requires early administration and is mediated via Akt and p70s6 kinase cell-survival signaling. *Circ Res.* 2001;89:1191–8.
 94. Ravassa S, Zudaire A, Diez J. GLP-1 and cardioprotection: from bench to bedside. *Cardiovasc Res.* 2012;94:316–23.
 95. Khan M, Meduru S, Mostafa M, Khan S, Hideg K, Kuppusamy P. Trimetazidine, administered at the onset of reperfusion, ameliorates myocardial dysfunction and injury by activation of p38 mitogen-activated protein kinase and Akt signaling. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;333:421–9.
 96. Rodrigo R, Prieto JC, Castillo R. Cardioprotection against ischaemia/reperfusion by vitamins C and E plus n-3 fatty acids: molecular mechanisms and potential clinical applications. *Clin Sci (Lond).* 2013;124:1–15.
 97. Dirksen MT, Laarman GJ, Simoons ML, Duncker DJ. Reperfusion injury in humans: a review of clinical trials on reperfusion injury inhibitory strategies. *Cardiovasc Res.* 2007;74:343–55.
 98. Gerczuk PZ, Kloner RA. An update on cardioprotection: a review of the latest adjunctive therapies to limit myocardial infarction size in clinical trials. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59:969–78.
 99. Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest.* 2013;123:92–100.
 100. Rodriguez-Sinovas A, Abdallah Y, Piper HM, Garcia-Dorado D. Reperfusion injury as a therapeutic challenge in patients with acute myocardial infarction. *Heart Fail Rev.* 2007;12:207–16.
 101. Heusch G. Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic. *Lancet.* 2013;381:166–75.
 102. Darling CE, Solari PB, Smith CS, Furman MI, Przyklenk K. 'Postconditioning' the human heart: multiple balloon inflations during primary angioplasty may confer cardioprotection. *Basic Res Cardiol.* 2007;102:274–8.
 103. Freixa X, Bellera N, Ortiz-Perez JT, Jimenez M, Pare C, Bosch X, et al. Ischaemic postconditioning revisited: lack of effects on infarct size following primary percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J.* 2012;33:103–12.
 104. Elzbiaciak M, Wita K, Grabka M, Chmurawaj J, Doruchowska A, Turski M, et al. Effect of postconditioning on infarction size, adverse left ventricular remodeling, and improvement in left ventricular systolic function in patients with first anterior ST-segment elevation myocardial infarction. *Pol Arch Med Wewn.* 2013;123:268–76.
 105. Yang XC, Liu Y, Wang LF, Cui L, Wang T, Ge YG, et al. Reduction in myocardial infarct size by postconditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J Invasive Cardiol.* 2007;19:424–30.
 106. Mewton N, Ivanès F, Cour M, Ovize M. Postconditioning: from experimental proof to clinical concept. *Dis Model Mech.* 2010;3:39–44.
 107. Arai AE. Magnetic resonance imaging for area at risk, myocardial infarction, and myocardial salvage. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2011;16:313–20.
 108. Botker HE, Kharbanda R, Schmidt MR, Botcher M, Kaltoft AK, Terkelsen CJ, et al. Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial. *Lancet.* 2010;375:727–34.
 109. Candilio L, Malik A, Hausenloy DJ. Protection of organs other than the heart by remote ischemic conditioning. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2013;14:193–205.
 110. Zhong H, Gao Z, Chen M, Zhao J, Wang F, Li L, et al. Cardioprotective effect of remote ischemic postconditioning on children undergoing cardiac surgery: a randomized controlled trial. *Paediatr Anaesth.* 2013;23:726–33.
 111. Cheung MM, Kharbanda RK, Konstantinov IE, Shimizu M, Frndova H, Li J, et al. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47:2277–82.
 112. Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E, et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2007;370:575–9.
 113. Munk K, Andersen NH, Schmidt MR, Nielsen SS, Terkelsen CJ, Sloth E, et al. Remote ischemic conditioning in patients with myocardial infarction treated with primary angioplasty: impact on left ventricular function assessed by comprehensive echocardiography and gated single-photon emission CT. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2010;3:656–62.
 114. Rahman IA, Mascaro JG, Steeds RP, Frenneaux MP, Nightingale P, Gosling P, et al. Remote ischemic preconditioning in human coronary artery bypass surgery: from promise to disappointment? *Circulation.* 2010;122:S53–9.
 115. Kitakaze M, Asakura M, Kim J, Shintani Y, Asanuma H, Hamasaki T, et al. Human atrial natriuretic peptide and nicorandil as adjuncts to reperfusion treatment for acute myocardial infarction (J-WIND): two randomised trials. *Lancet.* 2007;370:1483–93.
 116. Thibault H, Piot C, Staat P, Bontemps L, Sportouch C, Rioufol G, et al. Long-term benefit of postconditioning. *Circulation.* 2008;117:1037–44.
 117. Selker HP, Beshansky JR, Sheehan PR, Massaro JM, Griffith JL, D'Agostino RB, et al. Out-of-hospital administration of intravenous glucose-insulin-potassium in patients with suspected acute coronary syndromes: the IMMEDIATE randomized controlled trial. *JAMA.* 2012;307:1925–33.
 118. Lonborg J, Kelbaek H, Vejstrup N, Botker HE, Kim WY, Holmvang L, et al. Exenatide reduces final infarct size in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction and short-duration of ischemia. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012;5:288–95.
 119. Piot C, Croisille P, Staat P, Thibault H, Rioufol G, Mewton N, et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2008;359:473–81.
 120. Gao F, Gao E, Yue TL, Ohlstein EH, Lopez BL, Christopher TA, et al. Nitric oxide mediates the antiapoptotic effect of insulin in myocardial ischemia-reperfusion: the roles of PI3-kinase, Akt and endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. *Circulation.* 2002;105:1497–502.
 121. Opie LH, Bruyneel K, Owen P. Effects of glucose, insulin and potassium infusion on tissue metabolic changes within first hour of myocardial infarction in the baboon. *Circulation.* 1975;52:49–57.
 122. Oates A, Nubani R, Smiley J, Kistler L, Hughey S, Theiss P, et al. Myocardial protection of insulin and potassium in a porcine ischemia-reperfusion model. *Surgery.* 2009;146:23–30.
 123. Suranadi IW, Demaison L, Chate V, Peltier S, Richardson M, Lleverve X. An increase in the redox state during reperfusion contributes to the cardioprotective effect of GIK solution. *J Appl Physiol.* 2012;113:775–84.
 124. Diaz R, Paolasso EA, Piegas LS, Tajer CD, Moreno MG, Corvalán R, et al. ECLA (Estudios Cardiológicos Latinoamérica) Collaborative Group. Metabolic Modulation of Acute Myocardial Infarction. The ECLA Glucose-Insulin-Potassium Pilot Trial. *Circulation.* 1998;98:2227–34.

125. Ceremuzynski L, Budaj A, Czeplak A, Burzykowski T, Achremczyk P, Smielak-Korombel W, et al. Low-dose glucose-insulin-potassium is ineffective in acute myocardial infarction: results of a randomized multicenter Pol-GIK trial. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1999;13:191-200.
126. Mehta SR, Yusuf S, Diaz R, Zhu J, Pais P, Xavier D, et al. Effect of glucose-insulin-potassium infusion on mortality in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: the CREATE-ECLA randomized controlled trial. *JAMA.* 2005;293:437-46.
127. Timmers L, Henriques JP, De Kleijn DP, Devries JH, Kemperman H, Steendijk P, et al. Exenatide reduces infarct size and improves cardiac function in a porcine model of ischemia and reperfusion injury. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53:501-10.
128. Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hofer J, Bolz SS, Drucker DJ, Husain M. Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways. *Circulation.* 2008;117:2340-50.
129. Timmer JR, Van der Horst IC, Ottervanger JP, De Luca G, Van't Hof AW, Bilo HJ, et al. Glucose-insulin-potassium infusion as adjunctive therapy in myocardial infarction: current evidence and potential mechanisms. *Ital Heart J.* 2004;5:727-31.
130. Lonborg J, Vejlstrop N, Kelbaek H, Botker HE, Kim WY, Mathiasen AB, et al. Exenatide reduces reperfusion injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2012;33:1491-9.
131. Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NA, DiCarli MF, Leeser MA, Browne KF, et al. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the Acute Myocardial Infarction Study of Adenosine (AMISTAD) trial. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34:1711-20.
132. Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, Kloner RA, Alexander RW. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMIS-TAD-II). *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:1775-80.
133. Lee CH, Low A, Tai BC, Co M, Chan MY, Lim J, et al. Pretreatment with intracoronary adenosine reduces the incidence of myonecrosis after nonurgent percutaneous coronary intervention: a prospective randomized study. *Eur Heart J.* 2007;28:19-25.
134. García-Dorado D, Otaegui I, Rodríguez Palomares JF, Evangelista E, Pineda V, Ruiz Salmerón R, et al. Primary results of the PROMISE trial: myocardial protection with intracoronary adenosine given before reperfusion in patients with STEMI. *Eur Heart J.* 2014;34 Suppl 1:669.
135. Ghaffari S, Kazemi B, Toluey M, Sepehrvand N. The effect of prethrombolytic cyclosporine-A injection on clinical outcome of acute anterior ST-elevation myocardial infarction. *Cardiovasc Ther.* 2013;31:e34-9.
136. MITOCARE Study Group. Rationale and design of the MITOCARE Study: a phase II, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study to assess the safety and efficacy of TRO40303 for the reduction of reperfusion injury in patients undergoing percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *Cardiology.* 2012;123:201-7.
137. Ibanez B, Prat-Gonzalez S, Speidl WS, Vilahur G, Pinero A, Cimmino G, et al. Early metoprolol administration before coronary reperfusion results in increased myocardial salvage: analysis of ischemic myocardium at risk using cardiac magnetic resonance. *Circulation.* 2007;115:2909-16.
138. Ibanez B, Macaya C, Sánchez-Brunete V, Pizarro G, Fernández-Friera L, Mateos A, et al. Effect of early metoprolol on infarct size in ST-segment-elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: the Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction (METOCARD-CNIC) trial. *Circulation.* 2013;128:1495-503.
139. Ndrepepa G, Kastrati A. Intravenous beta-blockers in primary percutaneous coronary intervention: new hope for an old therapy. *Circulation.* 2013;128:1487-9.
140. Klein HH, Pich S, Bohle RM, Lindert-Heimberg S, Nebendahl K. Na(+)/H(+) exchange inhibitor cariporide attenuates cell injury predominantly during ischemia and not at onset of reperfusion in porcine hearts with low residual blood flow. *Circulation.* 2000;102:1977-82.
141. Rodríguez-Sinovas A, García-Dorado D, Padilla F, Inserte J, Barrabés JA, Ruiz-Meana M, et al. Pre-treatment with the Na+/H+ exchange inhibitor cariporide delays cell-to-cell electrical uncoupling during myocardial ischemia. *Cardiovasc Res.* 2003;58:109-17.
142. Ruiz-Meana M, Garcia-Dorado D, Pina P, Inserte J, Agullo L, Soler-Soler J. Cariporide preserves mitochondrial proton gradient and delays ATP depletion in cardiomyocytes during ischemic conditions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H999-1006.
143. Thérooux P, Chaitman BR, Danchin N, Erhardt L, Meinertz T, Schroeder JS, et al. Inhibition of the sodium-hydrogen exchanger with cariporide to prevent myocardial infarction in high-risk ischemic situations. Main results of the GUARDIAN trial. Guard during ischemia against necrosis (GUARDIAN) Investigators. *Circulation.* 2000;102:3032-8.
144. Ludman AJ, Yellon DM, Hasleton J, Ariti C, Babu GG, Boston-Griffiths E, et al. Effect of erythropoietin as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention: a randomised controlled clinical trial. *Heart.* 2011;97:1560-5.
145. Cyrus T, Mathews SJ, Lasala JM. Use of mechanical assist during high-risk PCI and STEMI with cardiogenic shock. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2010;75 Suppl 1: S1-6.
146. Bates E, Bode C, Costa M, Gibson CM, Granger C, Green C, et al. Intracoronary KAI-9803 as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-segment elevation myocardial infarction. *Circulation.* 2008;117:886-96.
147. Mahaffey KW, Granger CB, Nicolau JC, Ruzyllo W, Weaver WD, Theroux P, et al. Effect of pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, as adjunctive therapy to fibrinolysis in acute myocardial infarction: the COMPLEMENT inhibition in myocardial infarction treated with thrombolytics (COMPLY) trial. *Circulation.* 2003;108:1176-83.
148. Forster K, Kuno A, Solenkova N, Felix SB, Krieg T. The delta-opioid receptor agonist DADLE at reperfusion protects the heart through activation of pro-survival kinases via EGF receptor transactivation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H1604-8.
149. Yang XM, Liu Y, Cui L, Yang X, Liu Y, Tandon N, et al. Platelet P2Y₁₂ blockers confer direct postconditioning-like protection in reperfused rabbit hearts. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2013;18:251-62.
150. D'Annunzio V, Donato M, Erni L, Miksztowicz V, Buchholz B, Carrion CL, et al. Rosuvastatin given during reperfusion decreases infarct size and inhibits matrix metalloproteinase-2 activity in normocholesterolemic and hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2009;53:137-44.