

RESUMEN

La restauración del flujo sanguíneo es condición indispensable para la supervivencia del miocardio sometido a isquemia. Sin embargo, paradójicamente la reperfusión desencadena la muerte de células que habían sobrevivido al periodo isquémico. En este fenómeno, conocido como daño letal por reperfusión, los miocitos reperfundidos pueden morir de manera inmediata por necrosis o más tardíamente por necrosis o apoptosis.

La contribución de la muerte por apoptosis al total de la muerte celular continúa siendo objeto de debate. En la primera parte de esta tesis se ha investigado si las alteraciones metabólicas que ocurren durante un episodio isquémico actúan como estímulo iniciador de la apoptosis o, alternativamente, producen la inhibición de los mecanismos que desencadenan el proceso apoptótico. Los resultados obtenidos indican que la simulación de isquemia/reperfusión en miocitos aislados y corazón aislado no induce muerte por apoptosis. Por el contrario, la menor susceptibilidad de los miocitos a desarrollar apoptosis por exposición a agentes externos proapoptóticos (H_2O_2 y donadores de NO) respecto a miocitos normóxicos sugiere que la isquemia miocárdica genera un efecto protector frente a la apoptosis. Este mecanismo protector se encuentra asociado a un equilibrio claramente antiapoptótico del programa génico implicado en la regulación de la apoptosis.

La mayor parte de la muerte celular que tiene lugar durante la reperfusión se produce durante los primeros minutos en forma de necrosis. Esta ha sido tradicionalmente atribuida a la sobrecarga de Ca^{2+} citosólico que ocurre durante la deprivación energética. Con la reperfusión, la reactivación de la síntesis de ATP en presencia de unos niveles elevados de Ca^{2+} provoca una activación exagerada de la contractilidad de las miofibrillas dando lugar a un acortamiento extremo y rotura del sarcolema, fenómeno que se conoce como hipercontractura. La muerte provocada por la hipercontractura se ve favorecida por la fragilidad del citoesqueleto y sarcolema secundaria a un episodio isquémico previo, y por el edema celular causado por la abrupta normalización de la osmolaridad extracelular y la entrada de Na^+ al citosol. En la segunda parte de esta tesis se han estudiado dos nuevos mecanismos de prevención de la muerte inmediata por reperfusión dirigidos a disminuir por vías distintas el desarrollo de la hipercontractura. El primero actúa inhibiendo la función contráctil durante los primeros minutos de la reperfusión mediante la estimulación de la síntesis de GMPc. El segundo favorece la normalización del Ca^{2+} citosólico al inhibir la forma reversa del intercambiador Na^+/Ca^{2+} (NCX) durante el inicio de la reperfusión:

1. En corazones aislados de rata se produce durante la isquemia miocárdica una disminución en los niveles intracelulares de GMPc. La estimulación de la guanilato ciclasa soluble con L-arginina de manera previa a un protocolo de hipoxia/reoxigenación o la estimulación de la guanilato ciclasa de membrana con el factor natriurético urodilatina durante los primeros minutos de la reperfusión, aumenta los niveles de GMPc miocárdico presentes en el inicio de la reperfusión, reduce la muerte celular y mejora la recuperación funcional. El mecanismo de protección está mediado, al menos en parte, por una mayor susceptibilidad del miocardio reperfundido a la acción inhibitoria que el GMPc ejerce sobre la contracción. Este efecto permite reducir la fuerza contráctil generada al reestablecerse con la reperfusión el metabolismo celular, atenuando con ello el desarrollo de hipercontractura.

2. El segundo mecanismo se basa en la hipótesis de que durante el inicio de la reperfusión las condiciones electroquímicas en las que se encuentran los miocitos predicen un funcionamiento del NCX en modo reverso (entrada de Ca^{2+}). Esta entrada adicional de Ca^{2+} puede contribuir a la sobrecarga de Ca^{2+} citosólico que tiene lugar durante el periodo isquémico y, por tanto, a la hipercontractura. La inhibición del NCX con una nueva droga altamente específica, KB-R7943, durante los primeros minutos de la reperfusión apoyan esta hipótesis: KB-R7943 inhibe el NCX, favorece la recuperación de los niveles de Ca^{2+} y disminuye las oscilaciones de Ca^{2+} durante la reperfusión reduciendo la tasa de hipercontractura en miocitos aislados sometidos a protocolos que simulan isquemia/reperfusión. En corazones aislados atenúa la hipercontractura y liberación enzimática y mejora la recuperación funcional y, en un modelo porcino sometido a oclusión coronaria transitoria, reduce el tamaño del infarto a concentraciones que no tienen efectos hemodinámicos en condiciones normóxicas. Sin embargo, una vez reestablecido el transporte en sentido directo (salida de Ca^{2+}), la inhibición del NCX puede tener efectos perjudiciales.

En conclusión, los resultados obtenidos en estos estudios relativizan la muerte por apoptosis tras isquemia/reperfusión y acentúan la importancia terapéutica de aquellas estrategias destinadas a prevenir el desarrollo de hipercontractura como modo de limitar el daño letal por reperfusión.