

Artículo de Revisión

Influencia del metabolismo sistémico y miocárdico en la recuperación cardíaca post-isquémica

Influence of systemic and myocardial metabolism on post-ischemic heart recovery

Romina Hermann, María Gabriela Marina Prendes, Alicia Varela

Cátedra de Fisiología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Iquimefa-CONICET. Buenos Aires, Argentina

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido el 21 de marzo de 2015
Aceptado después de revisión el
17 de abril de 2015
Online el 30 de septiembre de 2015
www.revistafac.org.ar

Los autores declaran no tener
conflicto de intereses

Palabras clave:

Metabolismo
Miocardio
Isquemia
Reperusión

Keywords:

Metabolism
Myocardium
Ischemia
Reperfusion

RESÚMEN

El corazón es un órgano que por su incesante actividad contráctil requiere un elevado y continuo aporte de energía, que sólo se logra mediante el metabolismo aeróbico que ocurre en la mitocondria. Para mantener la función cardíaca y satisfacer la alta demanda energética el corazón es capaz de utilizar una gran variedad de sustratos para la obtención de energía (flexibilidad metabólica), siendo altamente regulada la contribución de cada uno de estos. Por otra parte, la isquemia miocárdica compromete el aporte de oxígeno y nutrientes a los miocitos, resultando insuficientes para satisfacer las demandas energéticas del miocardio. En esta situación, la restricción del flujo coronario es seguida de profundas consecuencias funcionales, bioquímicas y morfológicas, que llevan rápidamente al deterioro de la actividad contráctil y a la alteración de las propiedades elásticas y eléctricas de las células cardíacas, que son potencialmente reversibles y no provocan muerte celular inmediata. A pesar de que la reperusión es la intervención absolutamente imprescindible para salvar al tejido miocárdico, a veces se requieren horas o días para que el miocardio viable recupere completamente su funcionalidad o bien puede surgir una nueva lesión celular que reduce el efecto beneficioso de la propia reperusión. En este trabajo, se presenta una revisión actualizada acerca de la influencia del metabolismo sistémico y miocárdico en la recuperación cardíaca post-isquémica, enfatizando en la importancia de la manipulación metabólica en las primeras horas críticas de iniciados los síntomas.

Influence of systemic and myocardial metabolism on post-ischemic heart recovery.

ABSTRACT

The heart is an organ that because of its incessant contractile activity requires large amounts of energy, which is only achieved through the aerobic metabolism that occurs in the mitochondria. To afford this high and continuous energy demand, the heart is able to use a variety of metabolic substrates (metabolic flexibility) in response to energy demands, with these pathways being highly regulated. On the other hand, myocardial ischemia compromises the supply of oxygen and nutrients to the myocytes and makes it insufficient to meet the energy demands of the myocardium. In this situation, the restriction of coronary flow is followed by deep functional, biochemical and morphological consequences, leading to the deterioration of contractile activity and the alteration of the elastic and electrical properties, which are potentially reversible and do not cause immediate cell death. Although reperfusion is absolutely essential to save the myocardial tissue, sometimes hours or days are required to fully recover the viable myocardium and a new cell injury may emerge, reducing the beneficial effect of the reperfusion proper. In this review, an update regarding the influence of systemic and myocardial metabolism in post-ischemic cardiac recovery is presented, emphasizing the importance of metabolic manipulation in the first critical hours after the onset of symptoms.

INTRODUCCIÓN

Los procesos de urbanización, el envejecimiento y los nuevos modos de vida en todo el mundo están haciendo que las enfermedades cardiovasculares sean una causa cada vez más importante de morbilidad y mortalidad. A pesar de la medicina preventiva, de las técnicas de revascularización y de los avances farmacológicos, la cardiopatía isquémica es una de las principales causas de muerte en el mundo y la Organización Mundial de la Salud predice que será una de las principales causas de muerte para el año 2030 (*Informe sobre la Salud en el Mundo 2008* - Organización Mundial de la Salud). Cuando ocurre restricción aguda del flujo coronario, que genera un desbalance entre la demanda y la oferta de oxígeno, surgen profundas consecuencias funcionales, bioquímicas y morfológicas, que llevan rápidamente al deterioro de la actividad contráctil, a la alteración de las propiedades elásticas y eléctricas de las células cardíacas y eventualmente a la muerte celular. Por otra parte, el metabolismo de los sustratos energéticos (glucosa, ácidos grasos) se ve profundamente alterado desde el inicio de los síntomas, hecho que a su vez, es determinante de la capacidad de recuperación

del tejido miocárdico comprometido, sugiriendo la importancia de diseñar intervenciones metabólicas desde las primeras horas críticas de iniciados los síntomas, como coadyuvantes a las terapias empleadas actualmente en la clínica.

Metabolismo cardíaco en situaciones de aerobiosis

El corazón es el órgano que posee la más alta demanda energética del organismo, recicla aproximadamente 6 Kg de ATP diarios (20 a 30 veces su propio peso) para mantener su ininterrumpida actividad contráctil. Para satisfacer esta alta demanda energética el corazón es omnívoro, ya que es capaz de utilizar hidratos de carbono, lípidos, aminoácidos y cuerpos cetónicos para producir ATP. Si bien la glucólisis (proceso en el cual la glucosa proveniente del líquido extracelular o del glucógeno almacenado en el miocito es convertida en piruvato) es una vía activa en el miocardio, más del 90% del ATP producido en condiciones basales, proviene de la fosforilación oxidativa mitocondrial, principalmente a partir del piruvato o de los ácidos grasos de cadena larga (16-18 átomos de carbono), sustratos que compiten por su oxidación, participando en el recambio completo

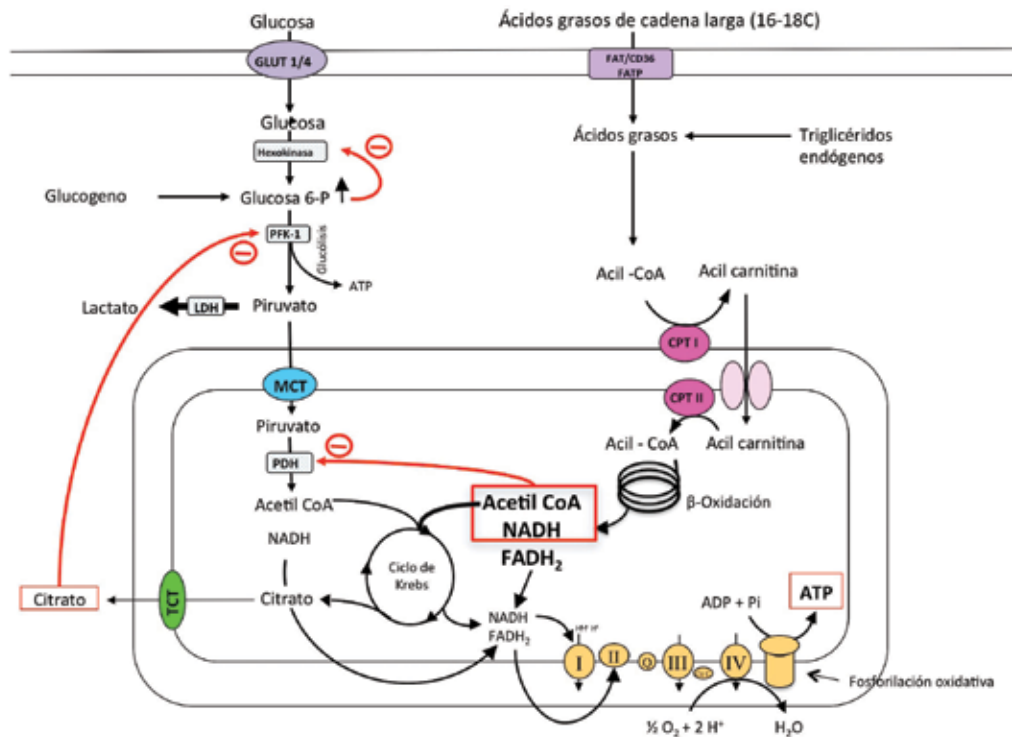


FIGURA 1.

Efecto Randle. En presencia de elevadas concentraciones plasmáticas de ácidos grasos, la glucólisis se ve inhibida como consecuencia de la oxidación preferencial de estos sustratos. El aumento en la concentración citosólica de citrato, inhibidor alostérico de la enzima 6-fosfofructosa-1-quinasa (PFK-1), produce un aumento de la glucosa 6-fosfato (Glucosa 6-P) que a su vez inhibe la hexoquinasa. Por otra parte, la conversión de piruvato a acetyl-CoA, catalizada por el complejo enzimático piruvato deshidrogenasa (PDH), resulta más fuertemente inhibida que la glucólisis por el aumento de las razones [acetyl-CoA]/[CoA] y [NADH]/[NAD] observado al oxidarse ácidos grasos de cadena larga, siendo el piruvato desviado hacia la formación de lactato por la enzima lactato deshidrogenasa (LDH).

FAT/CD36, FATP: Proteínas transportadoras de ácidos grasos; **LDH:** Lactato deshidrogenasa; **MCT:** proteína de transporte de monocarboxilatos; **TCT:** proteína de transporte de tricarboxilatos; **CPT I:** carnitina palmitoil transferasa I, **CPT II:** carnitina palmitoil transferasa II (median la entrada de los acil-CoA a la mitocondria).

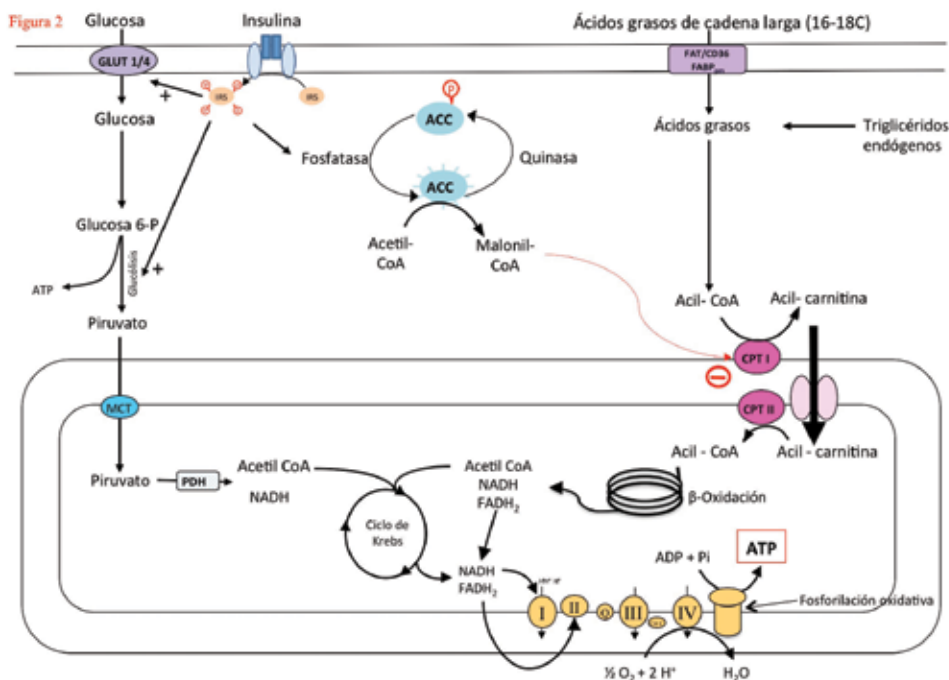


FIGURA 2.

Acciones de la insulina sobre el metabolismo energético del miocito. En el estado post-prandial, en presencia de altas concentraciones de glucosa e insulina y bajas concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres, la utilización de glucosa es estimulada. El piruvato proveniente de la glucólisis representa el principal sustrato para el metabolismo oxidativo y la oxidación de ácidos grasos es inhibida. La insulina activa la enzima acetilCoA carboxilasa (ACC), que cataliza la conversión de acetil-CoA en malonil-CoA. Éste último es un inhibidor alostérico de la enzima carnitina palmitoil transferasa-1 (CPT-1) enzima clave para la entrada de los ésteres de Coenzima A de los ácidos grasos de cadena larga (acil CoA) a la mitocondria para su posterior β -oxidación.

IRS: sustrato del receptor insulínico.

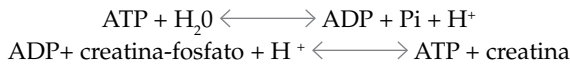
cada aproximadamente 10 segundos del relativamente bajo contenido total de ATP (~750 mg).

Los ácidos grasos captados por el miocito mediante difusión pasiva o difusión mediada por transportadores son rápidamente esterificados a acil-Coenzima A (acil-CoA) para su posterior β -oxidación o para su almacenamiento como triglicéridos. En presencia de elevadas concentraciones plasmáticas de ácidos grasos, como ocurre en el ayuno, la glucólisis se ve inhibida como consecuencia de la oxidación preferencial de estos sustratos. En estas condiciones, aumenta la concentración citosólica de citrato, inhibidor alostérico de la 6-fosfofructosa-1-quinasa (PFK-1), enzima clave de la glucólisis que cataliza la fosforilación irreversible de la fructosa-6 fosfato a fructosa-1,6-bisfosfato. La inhibición de esta enzima, produce un aumento en la concentración de glucosa 6-fosfato, que a su vez inhibe a la hexoquinasa, enzima que cataliza la fosforilación de la glucosa y por ende su atrapamiento en la célula. El aumento resultante de la glucosa intracelular frena el transporte facilitado de la misma. A su vez, la conversión de piruvato (producto final de la glucólisis) a acetil-CoA, catalizada por el complejo enzimático piruvato deshidrogenasa (PDH), proceso que acopla la glucólisis con la oxidación de la glucosa, resulta más fuertemente inhibida que la glucólisis por el aumento de la

razones [acetil-CoA] / [CoA] y [NADH] / [NAD] que se observa cuando se oxidan los ácidos grasos de cadena larga, siendo el piruvato desviado hacia la formación de lactato. Este efecto fue descrito en la década del 60 por Randle y col. y se lo denominó efecto Randle^{1,2} (Figura 1). A la inversa, cuando la concentración de ácidos grasos libres es baja y la concentración de glucosa e insulina son elevadas, como ocurre en el estado post-prandial, la lipólisis en el tejido adiposo es inhibida y los niveles de los ácidos grasos plasmáticos descienden. En estas condiciones, la utilización de glucosa es estimulada y el piruvato proveniente de la glucólisis representa el principal sustrato para el metabolismo oxidativo, mientras que la oxidación de los ácidos grasos es inhibida³. En esta situación, la insulina activa la enzima acetil-CoA carboxilasa, que cataliza la conversión de acetil-CoA en malonil-CoA. Éste último es un inhibidor alostérico de la enzima carnitina palmitoil transferasa-1 (CPT-1), enzima clave para la entrada de los ésteres acil-CoA a la mitocondria para su posterior β -oxidación (Figura 2). Metabolismo cardíaco en situaciones de isquemia.

En el miocardio isquémico el flujo coronario se encuentra restringido y la oferta de oxígeno y de nutrientes no puede satisfacer la demanda energética para mantener la actividad contráctil normal. A pesar de las reservas de creatina-

fosfato, compuesto que representa una fuente rápida de reposición de ATP:



si la síntesis de ATP no ocurre en forma paralela a su hidrólisis, se produce su agotamiento en cuestión de minutos secundariamente a la reducción del aporte de oxígeno.

La restricción de la fosforilación oxidativa, que es la fuente primaria de ATP, lleva a un incremento compensatorio de la glucólisis y a la transformación del piruvato en lactato, produciéndose un desacople entre la glucólisis y la oxidación de la glucosa. Si bien el flujo glucolítico es activado inicialmente a nivel de la enzima PFK-1, debido al incremento del fosfato inorgánico y del ADP junto con el descenso del ATP (reversión del efecto Pasteur), la producción glucolítica de ATP tiende a frenarse. Este freno se debe a dos factores: *a)* el incremento de la relación NADH/NAD⁺ debido a la inhibición de la cadena respiratoria y *b)* al descenso del pH intracelular como consecuencia de la hidrólisis del ATP glucolítico, generado por la ATP sintasa mitocondrial trabajando en forma revertida^{4,5}.

La activación del flujo glucolítico a partir de la glucosa plasmática o del glucógeno tisular, por un lado, es importante debido a la estrecha relación entre el ATP glucolítico y el mantenimiento de la actividad de las bombas Na⁺-K⁺-ATPasa de la membrana celular y Ca²⁺-ATPasa de retículo sarcoplásmico. Pero, por otro lado, la acidosis intracelular disminuye la respuesta de las proteínas contráctiles al Ca²⁺ y además activa el intercambiador Na⁺-H⁺, que lleva a una sobrecarga celular de Na⁺, que no puede ser revertida por la Na⁺-K⁺-ATPasa debido a la depleción del ATP. La dis-

minución de la diferencia de potencial electroquímico del Na⁺ frena o revierte el intercambiador Na⁺-Ca²⁺ generando una sobrecarga celular de Ca²⁺, que posee efectos adversos sobre la funcionalidad y puede originar muerte celular. Durante los primeros minutos de la reperfusión, el intercambiador Na⁺-H⁺ se hiperactiva como consecuencia del rápido lavado extracelular de los H⁺ y la sobrecarga celular de Ca²⁺ se exagera paralelamente a la rápida normalización del pH intracelular. Estas alteraciones en la homeostasis iónica llevan a la sobrecarga mitocondrial de Ca²⁺, que a su vez induce la apertura del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (PTP), poro no selectivo y permeable a todos los solutos de hasta 1,5 kDa. La apertura del PTP provoca la despolarización de la membrana mitocondrial interna y el desacople de la fosforilación oxidativa, que lleva a la depleción de ATP y a la muerte celular por necrosis. Por otra parte, la pérdida de la permeabilidad selectiva de dicha membrana permite el paso indiscriminado de iones y metabolitos hasta alcanzar el equilibrio e induce la hinchazón de la matriz. Como resultado del edema mitocondrial, eventualmente se produce la ruptura de la membrana mitocondrial externa y consecuentemente la liberación de factores pro-apoptóticos desde el espacio intermembrana hacia el citosol, que puede llevar a la muerte celular por apoptosis. La apertura del PTP inducida por calcio, se ve favorecida en los primeros minutos de la reperfusión debido al estallido en la producción de radicales libres del oxígeno por reactivación de la cadena de electrones, a la depleción de ATP y al aumento de fosfato inorgánico, representando una de las principales causas de la injuria por reperfusión, ya que durante la isquemia la acidez intracelular previene su apertura. El grado y las consecuencias de estas alteraciones metabólicas dependen de la severidad de la isquemia⁶⁻⁸.

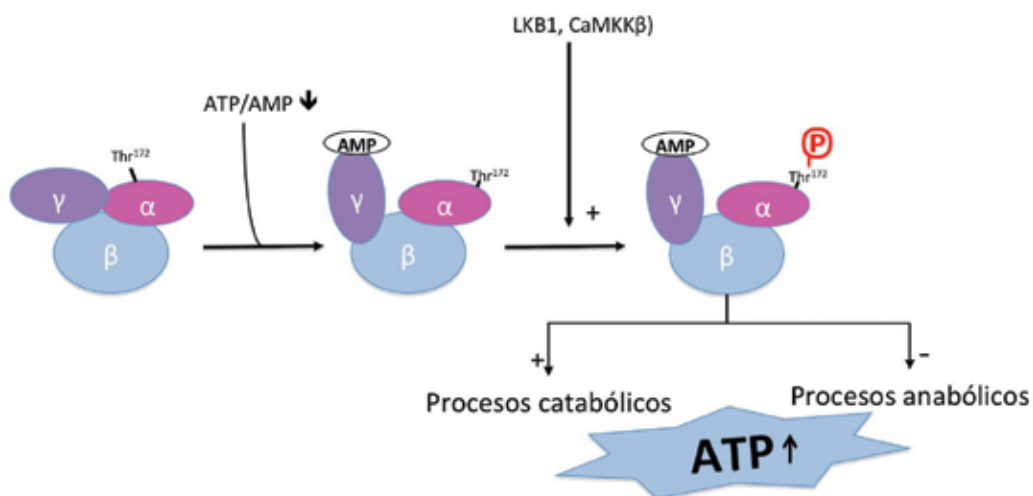


FIGURA 3.

Vías de activación de la quinasa activada por AMP (AMPK)

En situaciones de estrés metabólico, la quinasa activada por AMP (AMPK) es activada. Frente a la disminución de la relación ATP/AMP, el AMP interactúa con la subunidad γ de la enzima, aumentando la sensibilidad de la subunidad α a la fosforilación catalizada por la quinasa LKB1, que es constitutivamente activa. La AMPK es también activada en respuesta al aumento de calcio intracelular, vía la proteína Ca²⁺-calmodulina quinasa quinasa β (CaMKKβ).

Es importante remarcar que en la clínica se han hallado elevadas concentraciones plasmáticas de ácidos grasos dentro de los primeros treinta minutos de la aparición de los síntomas asociados con el desarrollo de infarto agudo de miocardio, que se deberían a un incremento en la descarga de catecolaminas frente a la situación de estrés y a la activación β -adrenérgica de la lipólisis en el tejido adiposo, junto con un aumento plasmático de los glucocorticoides⁹⁻¹³. Este aumento de ácidos grasos que lleva a un uso preferencial de los mismos y que persiste en la reperfusión, aún en presencia de altas concentraciones de glucosa, representa una desventaja para el miocardio, ya que, si bien la cantidad de ATP producida es mayor a partir de 1 mol de palmitato que a partir de 1 mol de glucosa, la relación ATP producido por mol de oxígeno consumido es 2,8 cuando se oxida palmitato y 3,2 cuando se oxida glucosa, por lo que los ácidos grasos requieren aproximadamente 10-15% más oxígeno, comparado con la glucosa, para producir equivalentes cantidades de ATP¹⁴. Esta diferencia disminuye la eficiencia en términos del consumo de oxígeno, y si bien no representa una amenaza para la funcionalidad del miocardio aeróbico normal, adquiere relevancia tanto en las situaciones de isquemia, donde el aporte de oxígeno está restringido, como en los primeros minutos de la reperfusión cuando aún no se han restaurado los niveles normales de ATP. Por otra parte, debido a que la utilización de ácidos grasos inhibe la oxidación del piruvato en mayor medida que la glucólisis, incrementa el desacople entre ambos procesos y por ende la producción de H^+ en el miocito, exacerbando la sobrecarga de calcio y contribuyendo a la disfunción contráctil y a la injuria por isquemia y por reperfusión. Al respecto, existen evidencias experimentales que muestran efectos protectores tanto cuando se mejora el acoplamiento entre la glucólisis y la oxidación de glucosa estimulando la PDH, como también cuando se inhibe el intercambiador Na^+-H^+ ¹⁵⁻¹⁸.

Por otra parte, ha sido hallado que los ácidos grasos son inductores de la apertura del PTP¹⁹, acción que sería responsable de la edematización mitocondrial producida por estos sustratos y descrita ampliamente desde hace varios años en la bibliografía²⁰. Finalmente, la restricción del metabolismo oxidativo por la disminución del aporte de oxígeno durante la isquemia, lleva a una acumulación de ácidos grasos y de sus metabolitos intermedios anfipáticos (acilcarnitina y acil-CoA), que pueden resultar tóxicos para la célula y también aumentar la incidencia de arritmias debido a sus efectos detergentes en la membrana celular²¹⁻²³.

Papel de la quinasa activada por AMP (AMPK)

Es importante tener en cuenta que en situaciones de estrés metabólico, como la isquemia, se activa una enzima clave en la regulación de la homeostasis energética, la AMPK, activación que persiste durante la reperfusión. Esta enzima es una serina/treonina quinasa que contiene una subunidad catalítica (α) y 2 subunidades regulatorias (β y γ). Se ha comprobado que la AMPK es activada por la fosforilación del aminoácido treonina 172 de la subunidad α ²⁴. En situa-

ciones de isquemia, donde la razón ATP/AMP disminuye, el incremento del AMP, que interactúa con la subunidad γ , aumenta la sensibilidad de la subunidad α a la fosforilación catalizada por la quinasa supresora de tumores, LKB1, que es constitutivamente activa²⁵⁻²⁶. También puede ser activada por las quinasas dependientes de calcio-calmodulina-quinasa (CaMKK α y CaMKK β), en respuesta a aumentos del calcio intracelular²⁷ (Figura 3).

La AMPK estimula los procesos catabólicos productores de ATP (glucólisis, oxidación de ácidos grasos) e inhibe aquellas vías metabólicas que llevan a su consumo (síntesis de proteínas). Al respecto, la translocación de transportadores de glucosa (GLUT-1 y GLUT-4) de una manera insulino-independiente y la actividad de la enzima 6-fosfofructo-2-quinasa (PFK-2) son procesos activados por la AMPK²⁸⁻³². La PFK-2 cataliza la fosforilación de la fructosa-6-fosfato para formar fructosa-2,6-bisfosfato, potente activador alostérico de la enzima clave de la glucólisis PFK-1. Por otro lado fosforila e inhibe la enzima acetil-CoA carboxilasa, que cataliza la síntesis del inhibidor fisiológico de la utilización de los ácidos grasos de cadena larga, malonil-CoA (Figura 4). De esta forma, la activación de la AMPK en situaciones de isquemia, estimula tanto la glucólisis, como la oxidación de ácidos grasos. Desde el punto de vista energético, estas acciones metabólicas serían beneficiosas durante la isquemia, pero, por lo descrito anteriormente, durante la reperfusión la estimulación de la oxidación de los ácidos grasos que ocurre a expensas de una disminución de la oxidación de la glucosa, y por ende de una disminución de la producción de ATP por mol de oxígeno consumido y de un incremento del desacople entre la glucólisis y la oxidación de la glucosa, resultaría nociva³³⁻³⁴.

Intervenciones metabólicas: blanco terapéutico para el tratamiento de la cardiopatía isquémica.

Si bien en las últimas dos décadas se han realizado grandes avances tanto en la investigación de los mecanismos moleculares responsables de la injuria por isquemia-reperfusión como en los mecanismos endógenos protectores y en el desarrollo de intervenciones experimentales que limitan el grado de la evolución del infarto de miocardio, como el pre- y el post-condicionamiento isquémico, los ensayos clínicos no se corresponden con los alentadores resultados de laboratorio. Especialmente, a pesar de los avances en la tecnología de intervención coronaria percutánea -esencial para limitar el tamaño del infarto y preservar la funcionalidad del miocardio- y en el desarrollo de agentes antiplaquetarios y antitrombóticos, no existe una terapia coadyuvante efectiva para prevenir la injuria por reperfusión.

En este contexto, surge la necesidad de explorar nuevos enfoques terapéuticos. Uno de los enfoques, que ha surgido en los últimos años, es la optimización del metabolismo energético cardíaco en la enfermedad isquémica del corazón, realzando la oxidación de la glucosa e inhibiendo la oxidación de los ácidos grasos³⁵.

Al respecto, la trimetazidina, que inhibe la oxidación de los ácidos grasos y como consecuencia de este efecto sobre el

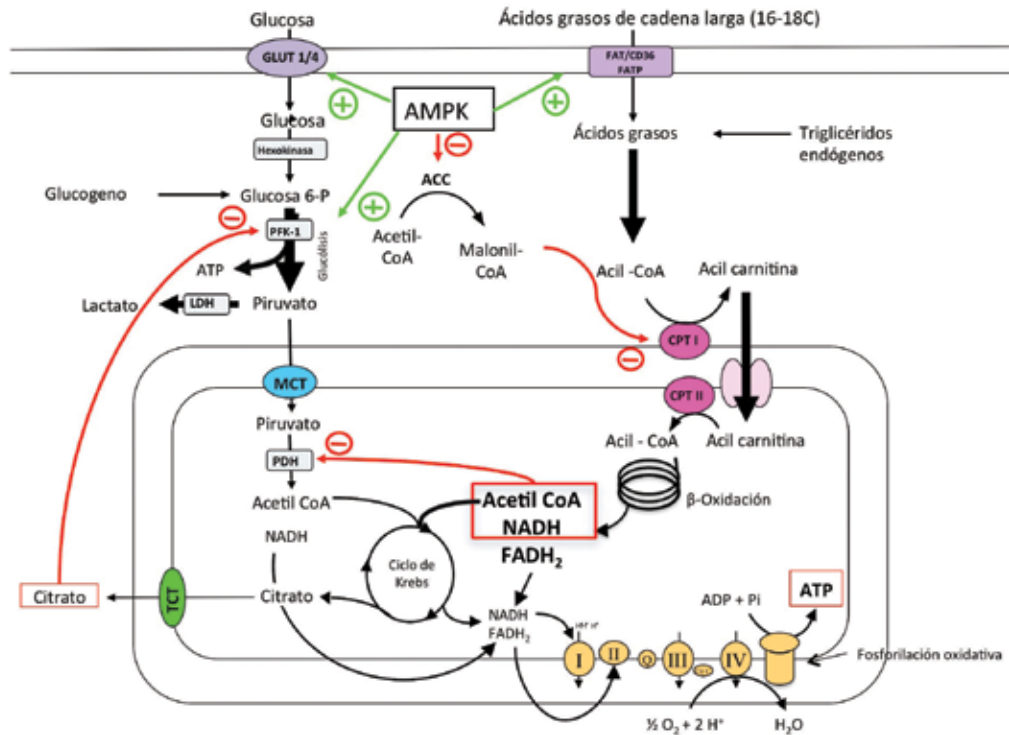


FIGURA 4.

Acciones de la quinasa activada por AMP (AMPK). La AMPK responde activando las rutas catabólicas implicadas en la generación de ATP y inhibe vías metabólicas que implican su consumo. Esta enzima estimula la captación de glucosa mediante la traslocación de transportadores de glucosa (GLUT-1 y GLUT-4) hacia la membrana celular, activa la glucólisis aumentando la formación de fructosa 2,6-bisfosfato -activador alostérico de la enzima clave de la vía glucolítica 6-fosfofructosa-1-quinasa (PFK-1)-, al incrementar la actividad de la enzima 6-fosfofructo-2-quinasa (PFK-2). Por otra parte, activa la captación como también la oxidación de ácidos grasos al inhibir a la enzima acetil-CoA carboxilasa (ACC), produciendo la disminución de los niveles de malonil-CoA, inhibidor potente de la carnitina-palmitoil-transferasa 1 (CPT-1). De esta forma, la activación de la AMPK aumenta tanto la glucólisis, como la oxidación de ácidos grasos.

metabolismo celular disminuye la acidosis intracelular y la sobrecarga de sodio y calcio, ha sido evaluada clínicamente y aprobada para el tratamiento de la angina. Esta droga ha mostrado ser efectiva al mejorar la tolerancia al ejercicio físico y reducir los episodios de angina. Empleada en combinación con los agentes tradicionales (β -bloqueantes, antagonistas del calcio, nitratos) ejerce efectos aditivos al reducir los síntomas de la angina inducida por el ejercicio físico³⁶⁻³⁸. Por otra parte, la ranolazina, inhibidor parcial de la β -oxidación, que recíprocamente estimula la PDH y la oxidación de la glucosa es utilizada en la clínica como terapia complementaria para el tratamiento sintomático de pacientes con angina de pecho estable³⁸.

Por último, la administración de glucosa-insulina-potasio, si bien activa quininas de salvamento de la lesión por reperfusión (RISK: "reperfusion injury salvage kinases"), también disminuye la lipólisis periférica y consecuentemente los niveles circulantes de ácidos grasos y estimula la oxidación de la glucosa. Esta intervención al ser realizada dentro de los 90 min de iniciados los síntomas del infarto agudo de miocardio, siendo administrada en la ambulancia, y durante las 12 hs siguientes, ha arrojado resultados satisfactorios

en la práctica clínica al disminuir la mortalidad en el hospital³⁹⁻⁴⁰. Sin embargo, los numerosos ensayos donde la administración no se realizó tan tempranamente no arrojaron resultados satisfactorios⁴¹.

Estos hallazgos enfatizan la importancia de ahondar en la investigación de la influencia del metabolismo energético en la injuria por isquemia-reperfusión cardíaca y explorar intervenciones metabólicas en las primeras horas críticas de iniciados los síntomas -antes de que la zona isquémica progrese hacia tejido infartado-, con la finalidad de enlentecer la progresión de la injuria isquémica, aumentando la ventana de tiempo en que el tejido isquémico permanece viable e incrementando la cantidad de miocardio que pueda ser recuperado por la revascularización.

BIBLIOGRAFÍA

- Garland PB, Randle PJ, Newsholme EA. Citrate as an intermediary in the inhibition of phosphofructokinase in rat heart muscle by fatty acids, ketone bodies, pyruvate, diabetes, and starvation. *Nature* **1963**; 200: 169-70.
- Randle PJ, Newsholme EA, Garland PB. Regulation of glucose uptake by muscle. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, of alloxan-diabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J* **1964**; 93: 652-65.

3. Hue L, Taegtmeyer H. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **2009**; 297: E578–E91.
4. Dennis SC, Gevers W, Opie LH. Protons in ischemia: where do they come from; where do they go to? *J Mol Cell Cardiol* **1991**; 23: 1077–86.
5. Hausenloy DY, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest* **2013**; 123 (1): 92–100.
6. Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore: a mystery solved? *Front Physiol* **2013**; 4: 1–4.
7. Hausenloy DY, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest* **2013**; 123 (1): 92–100.
8. Halestrap AP, Richardson AP. The mitochondrial permeability transition: A current perspective on its identity and role in ischaemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* **2015**; 78: 129–41.
9. Kurien VA, Oliver MF. Free fatty acids during acute myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis* **1971**; 13 (4): 361–73.
10. Christensen JL, Videbaek J. Plasma catecholamines and carbohydrate metabolism in patients with acute myocardial infarction. *J Clin Invest* **1974**; 54: 278–86.
11. Mueller HS, Ayres SM. Propranolol decreases sympathetic nervous activity reflected by plasma catecholamines during evolution of myocardial infarction in man. *J Clin Invest* **1980**; 65: 338–46.
12. Lopaschuk GD, Collins-Nakai R, Olley PM, et al. Plasma fatty acid levels in infants and adults after myocardial ischemia. *Am Heart J* **1994**; 128: 61–7.
13. Opie LH. Metabolic management of acute myocardial infarction comes to the fore and extends beyond control of hyperglycemia. *Circulation* **2008**; 117: 2172–7.
14. Liedtke AJ. Alterations of carbohydrate and lipid metabolism in the acutely ischemic heart. *Prog Cardiovasc Dis* **1981**; 23(5): 321–36.
15. Murphy E, Perlman P, London RE, et al. Amiloride delays the ischemia-induced rise in cytosolic calcium. *Circ Res* **1991**; 68:1250–8.
16. Liu B, Clanachan AS, Schulz R, et al. Cardiac efficiency is improved after ischemia by altering both the source and fate of protons. *Circ Res* **1996**; 79: 940–8.
17. Zucchi R, Ghelardoni S, Evangelista S. Biochemical Basis of Ischemic Heart Injury and of Cardioprotective Interventions. *Curr Med Chem* **2007**; 14 (15): 1619–37.
18. Prendes MG, Torresín E, Gonzalez M, et al. Ischemic-reperfused rat heart protection by dimethylamiloride is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition. *Clin Exp Physiol Pharmacol* **2008**; 35: 201–6.
19. Bernardi P, Penzo D, Wojtczak L. Mitochondrial energy dissipation by fatty acids. Mechanisms and implications for cell death. *Vitam Horm* **2002**; 65: 97–126.
20. Lehninger AL. Reversal of various types of mitochondrial swelling by adenosine triphosphate. *J Biol Chem* **1959**; 234: 2465–71.
21. Corr PB, Gross RW, Sobel BE. Amphipathic metabolites and membrane dysfunction in ischemic myocardium. *Circ Res* **1984**; 55: 135–54.
22. DaTorre SD, Creer MH, Pogwizd SM, et al. Amphipathic lipid metabolites and their relation to arrhythmogenesis in the ischemic heart. *J Mol Cell Cardiol* **1991**; 23 (1): 11–22.
23. Sparagna GC, Hickson-Bick DL, Buja LM, et al. A metabolic role for mitochondria in palmitate-induced cardiac myocyte apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **2000**; 279: H2124–H32.
24. Hawley SA, Davison M, Woods A, et al. Characterization of the AMP-activated protein kinase from rat liver, and identification of threonine-172 as the major site at which it phosphorylates and activates AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* **1996**; 271: 27879–87.
25. Hawley SA, Boudeau J, Reid JL, et al. Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD α/β and MO25 α/β are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J Biol* **2003**; 2 (4): 28.
26. Woods A, Johnstone SR, Dickerson K, et al. LKB1 is the upstream kinase in the AMP-activated protein kinase cascade. *Curr Biol* **2003**; 13: 2004–8.
27. Hawley SA, Selbert MA, Goldstein EG, et al. 5'-AMP activates the AMP-activated protein kinase cascade, and Ca²⁺/calmodulin the calmodulin-dependent protein kinase I cascade, via three independent mechanisms. *J Biol Chem* **1995**; 270: 27186–91.
28. Russell RR 3rd, Bergeron R, Shulman GI, et al. Translocation of myocardial GLUT-4 and increased glucose uptake through activation of AMPK by AICAR. *Am J Physiol* **1999**; 277: H643–9.
29. Russell RR 3rd, Li J, Coven DL, et al. AMP-activated protein kinase mediates ischemic glucose uptake and prevents postischemic cardiac dysfunction, apoptosis, and injury. *J Clin Invest* **2004**; 114: 495–503.
30. Kurth-Kraczek EJ, Hirshman MF, Goodyear LJ, et al. 5'AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. *Diabetes* **1999**; 48: 1667–71.
31. Barnes K, Ingram JC, Porras OH, et al. Activation of GLUT-1 by metabolic and osmotic stress: potential involvement of AMP-activated protein kinase (AMPK). *J Cell Sci* **2002**; 115: 2433–42.
32. Marsin AS, Bertrand L, Rider MH, et al. Phosphorylation and activation of heart PFK-2 by AMPK has a role in the stimulation of glycolysis during ischaemia. *Curr Biol* **2000**; 10: 1247–55.
33. Kudo N, Gillespie JG, Kung L, et al. Characterization of 5'AMP activated protein kinase activity in the heart and its role in inhibiting acetyl-CoA carboxylase during reperfusion following ischemia. *Biochim Biophys Acta* **1996**; 1301: 67–75.
34. Liu Q, Docherty JC, Rendell JC, et al. High levels of fatty acids delay the recovery of intracellular pH and cardiac efficiency in post-ischemic hearts by inhibiting glucose oxidation. *J Am Coll Cardiol* **2002**; 39: 718–25.
35. Ussher JR1, Lopaschuk GD. Targeting malonyl CoA inhibition of mitochondrial fatty acid uptake as an approach to treat cardiac ischemia/reperfusion. *Basic Res Cardiol*. **2009**; 104: 203–10.
36. Stanley WC, Marzilli M. Metabolic therapy in the treatment of ischaemic heart disease: The pharmacology of trimetazidine. *Fundam Clin Pharmacol* **2000**; 17: 133–45.
37. Chandler MP, Chavez PN, McElfresh TA, et al. Partial inhibition of fatty acid oxidation increases regional contractile power and efficiency during demand-induced ischemia. *Cardiovasc Res* **2003**; 59: 143–51.
38. Jaswal JS, Keung W, Wang W, et al. Targeting fatty acid and carbohydrate oxidation - A novel therapeutic intervention in the ischemic and failing heart. *Biochim Biophys Acta* **2011**; 1813: 1333–50.
39. Selker HP, Beshansky JR, Sheehan PR, 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.
40. Grossman AN, Opie LH, Beshansky JR, et al. Glucose-insulin-potassium revived current status in acute coronary syndromes and the energy-depleted heart. *Circulation* **2013**; 127: 1040–8.
41. Mamas MA, Ludwig Neyses L, Fath-Ordoubadi F. A meta-analysis of glucose-insulin-potassium therapy for treatment of acute myocardial infarction. *Exp Clin Cardiol* **2010**; 15 (2): e20–e4.