

Procedimientos, técnicas y comunicaciones en cardiología, otorrinolaringología y hemoterapia

ATP y metabolismo cardiaco.

Acerca del tratamiento metabólico del infarto agudo del miocardio

Dr. Mario R. Testelli M,* Subtte. M.C. Alfonso Garfias-Arvizu**

Escuela Médico Militar. Ciudad de México

RESUMEN. Investigaciones sobre el ATP han revelado principios fundamentales de biología molecular cuyos descubridores fueron galardonados con el premio Nobel de química en 1997. En este artículo se revisan avances recientes sobre síntesis e hidrólisis del ATP y su relación con el metabolismo cardiaco. La síntesis de ATP se debe a la enzima $F_0 F_1$ sintetasa (o H^+ -ATP sintetasa) acoplada con la fuerza electromotriz de un gradiente de protones (ΔH^+) generado por fotosíntesis o por fosforilación oxidativa. Al pasar por F_0 , la corriente de H^+ produce rotación interna de la subunidad β y catálisis rotativa de las tres subunidades β de F_1 . La rotación de la subunidad γ ha sido demostrada directamente. La hidrólisis de ATP está acoplada con la función de bombas iónicas (ATPasas) dependientes del aporte continuo de sangre oxigenada al cerebro y corazón. Al disminuir el aporte de O_2 , se producen zonas heterogéneas de metabolismo anaeróbico con acumulación de radicales libres y formación de productos tóxicos. A últimas fechas, hay un renovado interés para el tratamiento metabólico del infarto agudo del miocardio.

Palabras clave: mitocondria, metabolismo, oxígeno, ATP, enzimas, miocardio.

Energía libre y ATP. La fuente principal de energía libre (ΔG) utilizable en el metabolismo celular, está contenida en los enlaces de alta energía del ATP (adenosín trifosfato). El ATP fue aislado en 1929 de preparaciones de músculo y sintetizado químicamente en 1948 por el premio Nobel A. Todd.¹ El ATP (*Figura 1*) es un nucleótido formado por una base (adenina), una pentosa (d-ribosa) y tres grupos de fosfato (PO_4). Los enlaces de alta energía del ATP se indican por el símbolo $\sim$ de uso internacional (fle-

SUMMARY. Research on ATP has disclosed fundamental principles of molecular biology whose authors were rewarded with the 1997 Nobel Prize in Chemistry. This article reviews recent advances on synthesis and hydrolysis of ATP with references to cardiac metabolism. The synthesis of ATP is due to the enzyme $F_0 F_1$ synthase (or H^+ -ATP synthase) coupled to the proton-motive force (ΔH^+) generated by photosynthesis or by oxidative phosphorylation. The proton movement down its electrochemical gradient mediates an internal rotation of the γ subunit and rotational catalysis of the three β subunits of F_1 . Direct demonstration of the γ subunit rotation has been achieved. The hydrolysis of ATP is coupled to the function of ionic pumps (ATPasas) dependent on the continual supply of oxygenated blood, to the brain and the heart. When O_2 supply is decreased, heterogeneous zones of anaerobic metabolism are formed with accumulation of free radicals and toxic by-products. Of late, there has been a renewed interest in the metabolic treatment of acute myocardial infarction.

Key words: metabolism, mitochondria, oxygen, APT, myocardium, enzymes.

chas en la *Figura 1*). El grupo fosfato (PO_4) que más fácilmente se desprende y más interviene en intercambios de energía química, es el último fosfato (*Figura 1*, línea punteada). Al desprenderse este PO_4 , se forma ADP (adenosín difosfato) + P_i (fosfato inorgánico) con la liberación simultánea de unas 7.3 Kilocalorías de energía libre por mol de ATP hidrolizado ($\Delta G = -7.3$ Kcal/mol), en una reacción la cual cataliza procesos termodinámicamente favorables.^{1,2}

ATP, biomolécula universal y primigenia. Un descubrimiento difícilmente igualable ocurrió a comienzos de los años 40, cuando F. Lipmann (premio Nobel de medicina en 1953) demostró que la molécula de ATP se presenta en todos los organismos vivos, desde bacterias y hongos hasta plantas y animales, incluido el ser humano.^{3,4} A más de considerarlo como la molécula bioenergética universal, el ATP

* Profesor de Fisiología Humana, Escuela Médico Militar y Escuela Militar de Graduados de Sanidad.

** Estudiante de Doctorado en Biomedicina (Fisiología). Escuela Militar de Graduados de Sanidad.

Correspondencia:

Escuela Médico Militar. Laboratorio de Fisiología

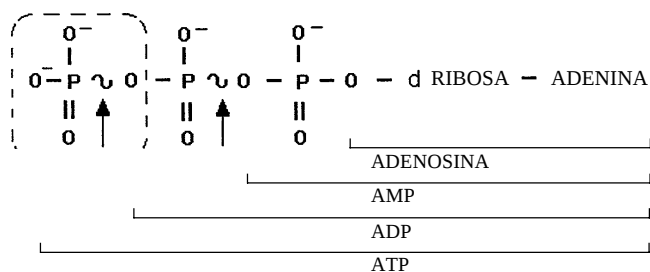


Figura 1. Estructura del ATP (adenosín trifosfato). El ATP es un nucleótido formado por adenosina (adenina y d-ribosa) y tres grupos de fosfato (PO_4^-) con cuatro cargas negativas ($-$) concentradas alrededor de los fosfatos (ATP^{4-}). El símbolo $\sim$ es de uso universal para indicar enlaces de alta energía (flechas $\uparrow$). El último fosfato (línea punteada) se desprende fácilmente, formándose ADP con liberación simultánea de energía libre utilizable para el metabolismo celular (modificada de ref. 1).

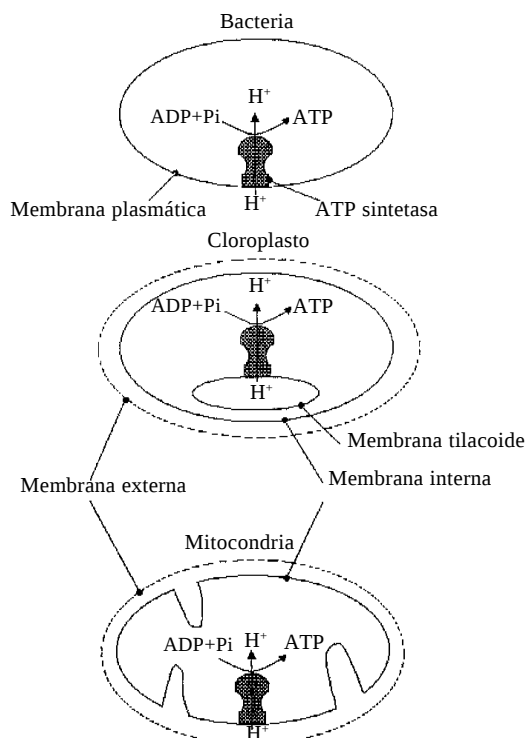


Figura 2. El ATP se presenta en todo organismo o ser vivo desde bacterias, plantas (cloroplastos) y animales (mitochondrias) con homología de estructura y función de la enzima catalizadora de la síntesis de ATP o ATP sintetasa. La enzima se llama también H^+ -ATP sintetasa porque la síntesis de ATP está acoplada con una corriente entrante de protones (H^+). (modificado de ref. 4).

debe considerarse también como la molécula biológica primigenia por haber aparecido en las primeras formas de vida.³ Todo ello se confirma por la homología existente entre las secuencias de aminoácidos constitutivos de la enzima catalizadora de la síntesis del ATP. Esta homología de estructura implica homología de función en bacterias, cloroplastos y mitochondrias (Figura 2).

Fotosíntesis y fosforilación oxidativa: un mismo gradiente de protones (H^+). Durante la década de los 40 y 50, quedó establecido que gran parte del ATP se forma por foto-

síntesis (fosforilación fotosintética) en los cloroplastos, y por fosforilación oxidativa (respiración celular) en las mitochondrias. En ambos casos se trata de agregar un fosfato (fosforilación) al ADP para formar ATP. El mecanismo de síntesis es el mismo (o uno muy similar). Llamado «quimiosmosis»,⁵ que como veremos se basa sobre la fuerza electromotriz de un gradiente de protones (DH^+). La única variante es la fuente de energía que activa («excita») el mecanismo: la energía electromagnética de la luz solar en un caso, la energía química de combustibles orgánicos en el otro.

Síntesis de ATP

ATP sintetasa (o H^+ -ATP sintetasa). El complejo enzimático que cataliza la síntesis de ATP se aisló en 1960 y se conoció inicialmente como « F_0F_1 ATPasa» porque el fragmento F_1 , separado de las membranas biológicas cataliza la hidrólisis del ATP (de ahí el sufijo asa de F_1 , ATPasa). Sin embargo, la función natural de la enzima F_0F_1 , completa es la síntesis de ATP, por lo que hoy día se conoce como «ATP sintetasa». Otros prefieren llamarla H^+ -ATP sintetasa, por-

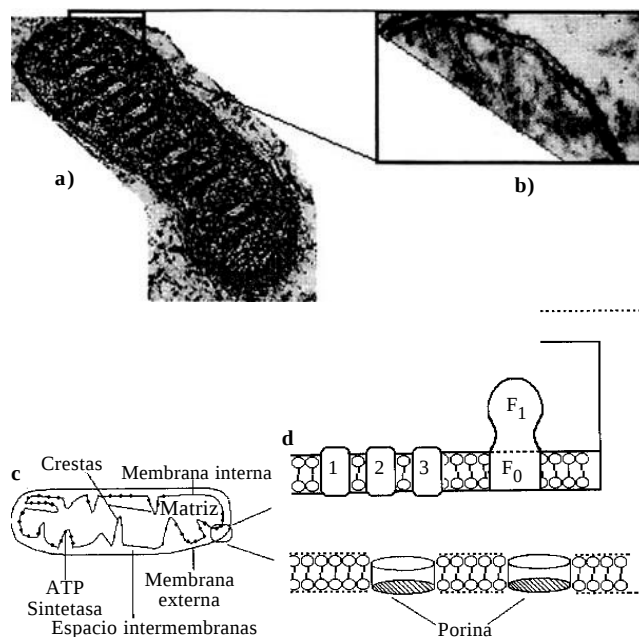


Figura 3. Estructura de la mitocondria. Las células eucariotas (con núcleo) contienen varios centenares de mitocondrias. Cada mitocondria es del tamaño de una bacteria *E. coli* (1-2 μm de largo por 0.5 μm de ancho). En a se muestra una microfotografía de una mitocondria muscular, ampliada en b y esquematizada en c y d. La mitocondria consta de dos membranas, un espacio intermembranoso y la matriz interior. La membrana externa consta de una doble capa de fosfolípidos donde predomina la porina que forma «poros» libremente permeable a moléculas pequeñas. La membrana interna también consta de una doble capa de fosfolípidos donde predomina la cardiolipina que forma una verdadera barrera al paso de sustancias. La membrana interna presenta invaginaciones (crestas) las cuales contienen varios centenares de partículas (bolitas en c) formadas por dos fragmentos F_0 y F_1 . F_0 está incluido en la membrana interna y F_1 protruye, hacia la matriz interior de la mitocondria (Figura 3 d). F_0 y F_1 , constituyen la ATP sintetasa (Figura 2), la cual se relaciona a los complejos enzimáticos 1, 2 y 3 de la cadena respiratoria (véase la Figura 4). (Microfotografía electrónica cortesía de Armando R. Antuna Bizarro, Depto. de Anatomía, EMM).

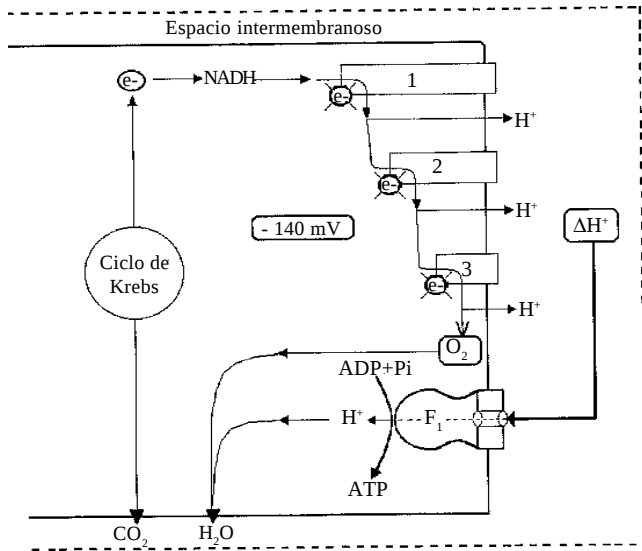


Figura 4. Esquema del ciclo de Krebs y de la fosforilación oxidativa. Con la oxidación del piruvato por el ciclo de Krebs se producen electrones (e^-) de alta energía que a través de la NADH (nicotinamida adenina dinucleótido) se transmiten a la cadena respiratoria representada por tres citocromos (1, 2 y 3). Con la transferencia de e^- a través de la cadena, hay expulsión simultánea de protones (H^+) al espacio intermembranoso y consiguiente formación del gradiente electroquímico de H^+ (ΔH^+) a través de la membrana interna. Este ΔH^+ es la fuerza electromotriz que impulsa la síntesis de ATP al producir una corriente de H^+ a favor de su gradiente («cuesta abajo») la cual atraviesa la ATP sintetasa (indicada por F_1). El aceptor final de e^- es el O_2 . Al final de todo el proceso, el CO_2 se elimina por difusión en tanto que H^+ se combina con O_2 para formar H_2O . A falta de O_2 , como en la isquemia miocárdica, hay un exceso de H^+ y de e^- con producción de acidosis y de radicales libres capaces de generar productos tóxicos (modificado de ref. 3).

que la síntesis de ATP está acoplada con una corriente de protones (H^+) a favor de su gradiente (dH^+), como se verá más adelante. En biología, esta enzima se encuentra en bacterias, cloroplastos y mitocondrias (Figura 2).

Mitocondrias: la central energética. Las células eucariotas (*eu* + *carion* = núcleo) contienen entre sus orgánitos varios centenares de mitocondrias y proporcionalmente más las de tejidos con mayor actividad metabólica (nervios, músculos, hígado). Cada mitocondria es del tamaño de una bacteria *E. Coli* (1-2 μm de largo por 0.5 de ancho), con una vida media de 10 días.⁴ Comparar la mitocondria con una bacteria no es pura coincidencia (véase luego).

Vista al microscopio electrónico, la mitocondria (Figura 3 a y b) consiste en dos membranas, espacio intermembranoso y la matriz interior. Las dos membranas difieren en estructura y función: La *externa* está formada por una doble capa de fosfolípidos en donde predomina una proteína (porina) que forma numerosos canales o «poros» acuosos libremente permeables a moléculas pequeñas, incluyendo protones (H^+). La membrana *interna* (Figuras 3 c y d) al contrario es muy selectiva. Está formada también por una doble capa de fosfolípidos en donde predomina la cardiolipina (76%). Esta proteína representa una verdadera barrera al paso de sustancias en especial de los protones (H^+), lo que permite la formación de un gradiente de H^+ en el espacio intermembranoso. La membrana interna presenta invaginaciones conocidas como *crestas* (Figura 3 c), las cuales aumentan grandemente el área de la membrana; su número es mayor en tejidos con mayor actividad, así en el corazón las crestas son tres veces más numerosas que en el hígado. En la membrana interna están incluidos grandes complejos enzimáticos para la fosforilación oxidativa, el transporte de metaboli-

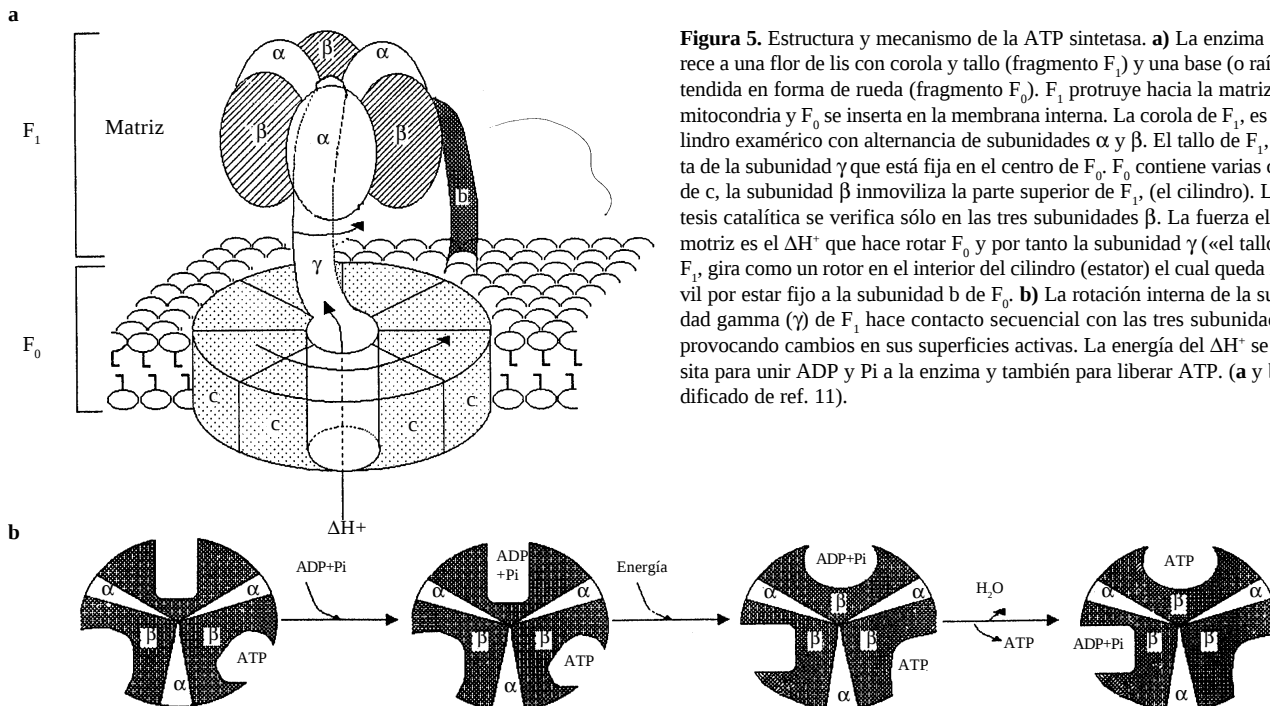


Figura 5. Estructura y mecanismo de la ATP sintetasa. **a)** La enzima se parece a una flor de lis con corola y tallo (fragmento F_1) y una base (o raíz) extendida en forma de rueda (fragmento F_0). F_1 protruye hacia la matriz de la mitocondria y F_0 se inserta en la membrana interna. La corola de F_1 es un cilindro examérico con alternancia de subunidades α y β . El tallo de F_1 consta de la subunidad γ que está fija en el centro de F_0 . F_0 contiene varias copias de c , la subunidad β inmoviliza la parte superior de F_1 (el cilindro). La síntesis catalítica se verifica sólo en las tres subunidades β . La fuerza electromotriz es el ΔH^+ que hace rotar F_0 y por tanto la subunidad γ («el tallo») de F_1 , gira como un rotor en el interior del cilindro (estator) el cual queda inmóvil por estar fijo a la subunidad b de F_0 . **b)** La rotación interna de la subunidad gamma (γ) de F_1 hace contacto secuencial con las tres subunidades β , provocando cambios en sus superficies activas. La energía del ΔH^+ se necesita para unir ADP y Pi a la enzima y también para liberar ATP. (a y b modificado de ref. 11).

tos adentro y afuera de la matriz, así como para la síntesis de ATP (ATP sintetasa). Esta enzima está representada por varios centenares de partículas (bolitas en la *Figura 3 c*) formadas por dos fragmentos, F_0 y F_1 , (*Figura 3 d*). F_0 está inmerso en la membrana interna en tanto que F_1 protruye hacia la matriz interior de la mitocondria (*Figuras 4 y 5*).

La mitocondria, una bacteria en simbiosis. Hay razones para comparar mitocondrias y bacterias. A diferencia de otros organitos intracelulares, cada mitocondria contiene varias tiras de DNA parecido al de las bacterias, pero diferente del DNA nuclear.⁶ Cada tira de DNA mitocondrial contiene 37 genes que codifican complejos proteínicos de la cadena respiratoria y de la ATP sintetasa, contenidos en la membrana interna de la mitocondria (*Figura 3 c y d*). Esto hace suponer que originalmente la mitocondria (al igual que el cloroplasto) era una bacteria autotrófica que fue englobada mediante endocitosis por una forma celular primitiva provista de núcleo con la cual se adaptó a vivir en simbiosis en un universo enriquecido de O_2 , hace 1.5×10^9 años.^{3,4} Sin embargo, otros autores piensan que mitocondria y núcleo se originaron a un mismo tiempo y no de manera separada y sucesiva.⁶

Enfermedades mitocondriales y envejecimiento. A diferencia del DNA nuclear, el DNA mitocondrial se hereda sólo de la madre a través de la mitocondrias situadas en el citoplasma del óvulo (herencia «materna» o «citoplasmática»). Las mitocondrias paternas están contenidas en la cola de los espermatozoides y luego desaparecen.⁷ En años recientes se ha demostrado que defectos o mutaciones del DNA mitocondrial pueden causar enfermedades «mitocondriales» caracterizadas por alteraciones de varias proteínas que intervienen en la producción de ATP en tejidos de mayor actividad metabólica (nervios y músculos). También se supone que la disminución progresiva de ATP y la acumulación consiguiente de radicales libres (oxidantes) en diversos tejidos puede contribuir al envejecimiento y enfermedades degenerativas del organismo anciano.⁷

En definitiva, la función de las mitocondrias depende de la integridad de su membrana interna, sin la cual la producción de energía libre se limitaría a dos moléculas de ATP que resultan de la glucólisis anaeróbica (ciclo de Embden-Meyerhoff) en lugar de las 36 o más que se obtienen por el metabolismo aeróbico de la glucosa. La combustión completa de 1 mol (180 g) de glucosa produce 686 Kcal/mol; la oxidación del mismo mol produce 36 moléculas de ATP correspondientes a unas 263 Kcal/mol con un rendimiento del 38%, muy superior al de motores creados por el hombre.^{1,3,4}

Metabolismo mitocondrial. La glucólisis empieza en el citoplasma con la formación de dos moléculas de piruvato por cada una de glucosa. El piruvato atraviesa las dos membranas de la mitocondria y se interna en la matriz. En la matriz y la membrana interna sigue la oxidación del pi-

ruvato y ácidos grasos a través del ciclo de Krebs con la extracción de electrones (e^-) de alta energía, culminando el todo con la síntesis de ATP mediante la fosforilación oxidativa.^{8,9} Se trata de un proceso complicado en el que interviene una serie de proteínas transportadoras de electrones (cadena respiratoria o de los citocromos) con la producción simultánea de un gradiente electroquímico de protones (H^+) a través de la membrana interna en el espacio intermembranoso.^{8,9}

Esquemáticamente todo el proceso puede dividirse en tres fases (*Figura 4*):

1. Oxidación de piruvatos y ácidos grasos a CO_2 y extracción de electrones de alta energía (ciclo de Krebs) con reducción acoplada de NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleótido) a NADH y de FAD (flavin adenina dinucleótido) a $FADH_2$.
2. Transferencia de electrones de NADH y $FADH_2$ al O_2 a través de proteínas transportadoras de e^- con expulsión simultánea («bombeo») de H^+ al espacio intermembranoso y consiguiente formación del gradiente electroquímico de H^+ a través de la membrana interna.
3. Utilización de la energía acumulada o potencial del gradiente de H^+ para impulsar la síntesis concomitante de ATP según la teoría quimiosmótica predominante.

No se insiste lo suficiente en que al final del proceso oxidativo, el CO_2 se elimina por difusión en tanto que el H^+ se combina con O_2 para formar H_2O (*Figura 4*). De acumularse H^+ y e^- por falta de O_2 , resultarían efectos nocivos por la formación de acidosis y de radicales libres (véase luego).

Teoría quimiosmótica. El mecanismo por el cual se forma ATP por fosforilación del ADP fue propuesto como «hipótesis» por P. Mitchell en 1961.¹⁰ El autor observó que el gradiente electroquímico de protones (H^+) producido por fotosíntesis o por fosforilación oxidativa (*Figura 4*) era la fuerza motriz u «osmótica» («osmós» = impulso) primaria o inmediata para producir la síntesis de ATP. Para indicar esta corriente de protones (H^+) a favor de su gradiente (ΔH^+), Mitchell inventó el neologismo «proticidad» por analogía a «electricidad», corriente de electrones.¹⁰ El gradiente electroquímico de H^+ tiene dos componentes (*Figura 4*): el gradiente químico o de concentración del propio ion (ΔH^+ , equivalente a 60 mV) dirigido hacia adentro, y el gradiente eléctrico de la matriz ($EM = -140$ mV en el interior). Por tanto, a través de las mitocondrias hay un potencial o fuerza eléctrica total de unos 200 mV que atrae los protones hacia el interior, *fuerza proto-motriz*, la cual impulsa la ATP sintetasa, por ello también conocida como H-ATP sintetasa.

Gradiente de protones (H^+) sin compuesto macroérgico. Por sus investigaciones, Mitchell recibió el premio Nobel de Medicina en 1978, pero inicialmente nadie aceptaba que la utilización (o «disipación») de un gradiente de H^+ cuesta abajo hacia la matriz de la mitocondria sirviera como única fuerza para la síntesis de ATP.¹⁰ Más bien los

expertos objetaban que debía existir un compuesto «macroérgico» intermediario que acoplara el transporte de e^- con la fosforilación. Tal compuesto nunca se encontró; por el contrario, con el tiempo se acumulaban más pruebas a favor de la hipótesis de Mitchell, al punto que su hipótesis pasó al rango de «teoría» por mérito sobre todo de tres investigadores que fueron galardonados con el premio Nobel. En 1997 el Nobel de Química fue otorgado por una mitad a Paul D. Boyer (UCLA, EUA) y a John E. Walker (Cambridge, Inglaterra) por «determinar el mecanismo enzimático de la síntesis del ATP», y la otra mitad a Jens C. Skou (Aarhus, Dinamarca) por «descubrir el mecanismo de transporte de la enzima ATPasa de Na^+/K^+ ».¹¹

ATP Sintetasa una enzima espléndida. La enzima que cataliza la síntesis de ATP fue aislada en 1960 de preparaciones de mitocondrias,¹² pero se encuentra también en bacterias y cloroplastos (Figura 2), un recordatorio de la homología anatómo-funcional que existe en biología a nivel molecular.^{3,4} Su estructura y funcionamiento son tan singulares que se tardó más de 30 años en aclararlos.¹³⁻¹⁵ Según Boyer, comparada con las demás enzimas, la ATP sintetasa es una enzima «espléndida», «una de las más bonitas».¹⁵ Estructuralmente lo es porque se parece a una flor de lis (Figura 5 a) con corola y tallo (F_1) y una base (o raíz) extendida en forma de rueda (F_0). Los dos componentes F_0 y F_1 , se encuentran a cierta distancia y son fácilmente separables. F_1 protruye hacia la matriz y F_0 se inserta en la membrana interna. Para fines de correlación anatómo-funcional, F_1 es un cilindro examérico con alternancia de subunidades a y b a guisa de pétalos (Figura 5 a); el tallo (F_1) consta de una subunidad γ que está fija en el centro de F_0 . F_0 comprende las subunidades a, b, y c; la c contiene varias copias, y la b se adhiere fijamente a F_1 , inmovilizando su parte superior (el cilindro).

Desde el punto de vista funcional, Boyer demostró que la síntesis catalítica del ATP se verifica sólo sobre las tres subunidades β .¹⁵ Por su parte, Walker determinó la secuencia de aminoácidos que componen F_1 ,^{13,14} aclarando la estructura tridimensional de la enzima, lo que permitió entender su funcionamiento. Como se mencionó, los dos autores compartieron una mitad del premio Nobel de química en 1997.¹¹

Lo singular de la ATP sintetasa. Singular es la estructura de esta enzima y más lo es su funcionamiento. Como recuerda Mitchell en su conferencia de aceptación del premio Nobel,¹⁰ para los expertos la hipótesis quimiosmótica era inaceptable. Se aceptaba que el gradiente electroquímico de protones (H^+) en el espacio intermembranoso estaba acoplado al transporte de e^- a través de la cadena respiratoria (Figura 4). No se aceptaba que la disipación de este gradiente por un flujo de H^+ («proticidad») a favor de su gradiente («cuesta abajo») fuera la fuente energética directa para acoplar oxidación con fosforilación del ADP. En contra de los expertos y siguiendo la hipótesis de Mitchell, Boyer¹⁵ demostró que la energía del gradiente de H^+ se necesi-

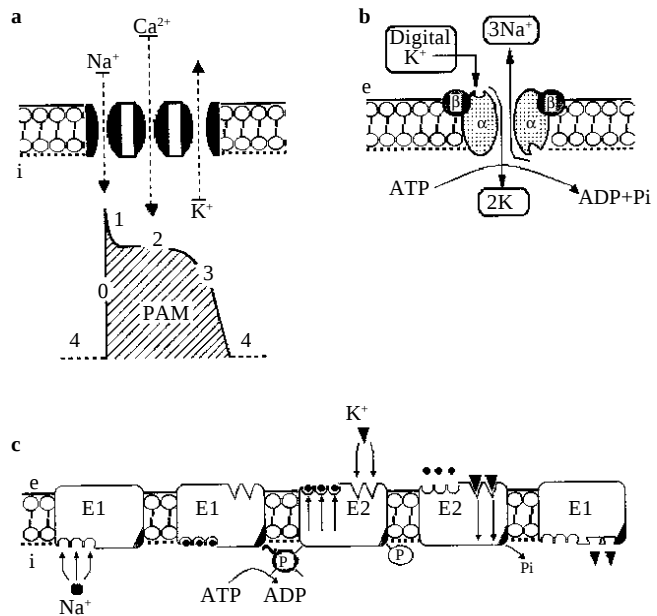


Figura 6. Canales iónicos y bomba de Na^+/K^+ en la membrana celular del miocardio.

a) Principales canales y corrientes iónicas durante el potencial de acción (PAM) del miocardio. La fase 4 (antes y después del PAM) es cuando opera la bomba o ATPasa de Na^+/K^+ .

b) Estructura de la bomba o ATPasa de Na^+/K^+ . La actividad catalítica es exclusiva de la subunidad α . La hidrólisis de ATP produce salida de $3Na^+$ y entrada de $2K^+$. La digital inhiere la bomba al competir por el sitio extracelular de unión de K^+ con la enzima.

c) Acoplamiento entre hidrólisis de la enzima y transporte de Na^+ (afuera) y K^+ (adentro). La expulsión de Na^+ sucede por fosforilación y cambios conformacionales de la enzima; la introducción de K^+ sucede por desfosforilación y cambios alternos de la enzima. (a y b, modificado de ref 18; c, modificado de ref. 4)

taba para unir ADP y Pi a la sintetasa y también para liberar ATP. Lo singular de la ATP sintetasa es que para catalizar la síntesis de ATP no necesita de ningún compuesto intermediario, a diferencia de gran parte de las enzimas.

Catálisis rotativa. Con base a la estructura y propiedades bioquímicas del complejo $F_0 F_1$ ATP sintetasa, Boyer¹⁵ propuso el mecanismo conocido comúnmente como «catálisis rotativa». El mecanismo se funda en los postulados (Figura 5 a):

1. La energía proviene del gradiente electroquímico de protones (H^+) acoplado con el transporte de e^- por la cadena respiratoria.

2. F_0 es un canal de protones (H^+) que del exterior pasan al interior de la mitocondria a favor de su gradiente (dH^+).

3. La corriente de protones al pasar por la rueda representada por las subunidades c de F_0 , la hace girar (Figura 5 a).

4. La subunidad gamma («el tallo») de F_1 , por estar unida a la rueda giratoria (F_0), rota también como si fuera el árbol de transmisión de un rotor.

5. El rotor gira en el interior del cilindro (estator) el cual se queda inmóvil por estar fijo a la subunidad b de F_0 ; la subunidad b a su vez está anclada a la membrana interna.

6. La rotación interna de la subunidad gamma de F_1 hace contacto secuencial con las tres subunidades β , modifican-

do sus estructuras tridimensionales con cambios secundarios en sus superficies activas (*Figura 5 b*). En consecuencia hay cambios de actividad de los sitios catalíticos, por lo que la unión de ADP y Pi en un sitio promueve la liberación directa del ATP de otro sitio adyacente de manera «cooperativa»¹⁵ entre las subunidades beta, por cada revolución de F_0 y la subunidad gamma.

Hasta el momento, el único movimiento rotatorio conocido es el de los filamentos de los protozoarios flagelados. Quedaba por demostrar la presencia de tal rotor en la $F_0 F_1$, ATP sintetasa, cuyo tamaño debía de ser de lo más pequeño en biología.¹⁶

El nano-rotor de la biología. La catálisis rotativa¹⁵ resultaba un mecanismo atrayente,¹⁶ pero faltaba demostrar la rotación directa del eje o árbol de transmisión, es decir, el movimiento rotatorio de la subunidad gamma de F_1 y su contacto secuencial con los tres sitios catalíticos de las subunidades beta de F_1 , de suerte que la catálisis fuera «cooperativa».¹⁵ Como lo demostraron Noji y cols.¹⁷ el tamaño de la enzima es del orden de nanómetros ($\text{nm} = 10^{-9} \text{ m}$): el rotor central tiene un radio aproximado de 1 nm, y está formado por la subunidad gamma la cual gira en la cavidad central del stator (F_1) con un radio de 5 nm; rotor y estator están separados por 8 nm de F_0 . Para observar directamente la rotación, los autores fijaron un corto filamento de actina a la subunidad gamma y al suministrar ATP vieron centenares de revoluciones en sentido antihorario del filamento a una velocidad de hasta 4 Hz.¹⁷ Con esto se demuestra que la ATP sintetasa (o H^+ -ATP sintetasa) es el motor rotatorio más pequeño de la biología: un nano-rotor.

Hidrólisis de ATP

Bombas y canales. La actividad eléctrica de estructuras excitables (músculos y nervios) es un fenómeno de membrana. El fenómeno es eléctrico y depende de la presencia de bombas y canales que atraviesan el espesor de la membrana celular (sarcolema) y que permiten el paso de corrientes iónicas de un lado a otro de la membrana. Bombas y canales son ambos complejos macromoleculares de proteínas. Los canales son los otrora «poros» invisibles o túneles acuosos de la membrana;¹⁸ su existencia admitida por Hodgkin y Huxley (premios Nobel en 1963), fue confirmada por Neher y Sakmann (premios Nobel en 1991). Lo que antes se explicaba por cambios de permeabilidad de la membrana, hoy se entiende por cambios de activación de canales, que operan con mecanismos de compuerta dependientes de voltaje. Todo movimiento de iones por los canales es de tipo pasivo, determinado por su gradiente de concentración (ΔC) o sea «a favor de su gradiente», sin necesidad de aporte de energía libre.¹⁸ Pasiva por tanto es la entrada de Na^+ durante el ascenso (fase 0) del potencial de acción de la membrana (PAM), pasiva es la entrada de Ca^{2+} durante la meseta (fase 2) y pasiva también es la salida de K^+ durante el descenso (fase 3) del mismo PAM (*Figura 6 a*).

Que todo el potencial de «acción» llamémosle «sistólico» resulte pasivo suena paradójico si no contraintuitivo, ya que lo verdaderamente activo es lo «diastólico». Es decir todo movimiento de iones antes y después del PAM (fase 4) requiere de la energía libre proporcionada por hidrólisis del ATP. En efecto, el concepto de bomba de sodio (o sodio-potasio), surgió como un «invento necesario»¹⁹ para explicar la conservación (antes del PAM) y la recuperación (después del PAM) de la polarización diastólica o potencial de reposo de la membrana (PRM) de las fibras excitables.¹⁹ Descubrir este algo hipotético fue el mérito de Skou, uno de los premios Nobel de Química en 1997.¹¹

Descubrimiento de Skou. En 1957, trabajando con preparaciones de membrana de nervio de cangrejo, Skou descubrió una enzima que mediante la hidrólisis de ATP (ATPasa) restituía las concentraciones iónicas de Na^+ y K^+ a través de la membrana con recuperación completa de la «polarización diastólica» de la membrana (PRM, fase 4) y por tanto de la excitabilidad normal.²⁰ Con ello descubrió Skou al mismo tiempo el transporte «activo» y la primera «bomba» molecular (*Figura 6 b*). En estudios sucesivos, Skou y otros demostraron:²¹

1. El transporte de Na^+ y de K^+ en contra de sus gradientes de concentración está acoplado a la hidrólisis de ATP; sin esta no puede haber transporte de los iones.
2. La hidrólisis de ATP (y el transporte de Na^+ y K^+) ocurre sólo si Na^+ y ATP se encuentran concentrados en el interior y K^+ en el exterior de la membrana.
3. La estimulación máxima de la enzima se verifica a los gradientes de concentración normales de Na^+ y K^+
4. Otrora considerada como neutra, hoy se sabe que la bomba es electrogénica, porque por cada molécula de ATP hidrolizada, la bomba expulsa 3 Na^+ e introduce 2 K^+ , ocasionando electronegatividad en el interior de la membrana (*Figura 6 b*).
5. Otra función importante de la enzima es mantener el volumen celular por un efecto osmótico; al inhibir la enzima se produce edema intracelular.
6. En las células animales, una tercera parte de la energía del ATP se consume para el funcionamiento de la bomba Na^+/K^+ ; en el corazón las dos terceras partes restantes del ATP se consumen para su función mecánica (ATPasa de la miosina y bombas de calcio).
7. Los compuestos digitálicos como la ouabaína, inhiben la bomba al competir con el sitio extracelular de unión de K^+ con la enzima (*Figura 6 b*). Este efecto explica la acción farmacológica de la digital, causando una mayor concentración de calcio intracelular ($[\text{Ca}^{2+}]_i$), lo que estimula tanto el inotropismo (contractilidad) como el lisotropismo (velocidad de relajación) del corazón.¹⁸

Estructura de la ATPasa de Na^+/K^+ . La enzima (*Figura 6 b*) es un tetrámero formado por dos copias de la subunidad α y dos de la subunidad β . La subunidad α es la de mayor tama-

ño; contiene unos 1,000 aminoácidos que atraviesan el espesor de la membrana con 10 hélices α . La subunidad β no tiene actividad de bomba. La actividad catalítica es exclusiva de la subunidad α , en sitios de unión en su cara interna (para Na^+) y en la externa (para K^+ y digital). No se sabe si para el transporte iónico se necesitan o ambas subunidades α o una sola.²¹

Acoplamiento entre hidrólisis de ATP y transporte iónico. Entre la hidrólisis de la enzima y el transporte de Na^+ y K^+ hay una secuencia ordenada de pasos sin los cuales el transporte no se verifica. Como se indica en la figura 6 c, la expulsión de Na^+ sucede por fosforilación de la enzima (E1) y formación de un compuesto macroérgico de la enzima ($\text{E2} \sim \text{P}$) con cambios de conformación de la misma y transporte de Na^+ hacia el exterior. La introducción de K^+ sucede por desfosforilación y cambios alternos de la enzima ($\text{E2} \rightarrow \text{E1}$), liberación de Pi y transporte de K^+ hacia el interior de la membrana.

ATPasas de tipo P. Después del descubrimiento de la ATPasa de Na^+/K^+ , se describieron otras bombas iónicas (ATPasas) con estructura y función similares. Las más conocidas son dos: la ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico de los músculos esquelético y cardiaco, y la ATPasa de H^+/K^+ que produce el ácido clorhídrico en el estómago y cuya inhibición se usa en el tratamiento de la úlcera gástrica. Enzimas similares se han encontrado en organismos inferiores. Para todas estas enzimas el nombre común es de ATPasas de tipo P, porque funcionan a base de fosforilación.²² Además, todas ellas son tetrámeros formadas por dos copias de la subunidad α y dos de la subunidad β (Figura 6 b), sin importar el ion o iones que bombean. En muchas de estas enzimas se conserva la secuencia de aminoácidos en la subunidad catalítica α y un arreglo similar de hélices α a través de la membrana. Todo ello sugiere que estas bombas tuvieron un origen común, aunque ahora transporten iones diferentes.²²

Ejemplo ilustrativo es la bomba o ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico (RS) de las fibras a cardiacas que desempeña un papel crucial en la homeostasia de la concentración de Ca^{2+} intracelular $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y por lo tanto en la función contráctil del corazón (Figura 7).

Liberación de calcio por el calcio. Con esta frase que suena a juego de palabras, se resume la opinión moderna sobre $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y el reciclaje de calcio por el RS (Figura 7). El Ca^{2+} extracelular entra durante la meseta (fase 2) del PAM (Figura 6 a) atravesando canales en la membrana celular (sarcolema). Estos canales, antes llamados «lentos», operan por compuertas las cuales se activan (abren) por la despolarización inicial causada por la entrada de Na^+ (Figura 6 a). La cantidad de Ca^{2+} que entra es insuficiente para iniciar la contracción, pero sirve para liberar una cantidad mucho mayor de Ca^{2+} por canales contenidos en el receptor de rianodina del RS el cual está en contacto con los túbulos en T del sarcolema.

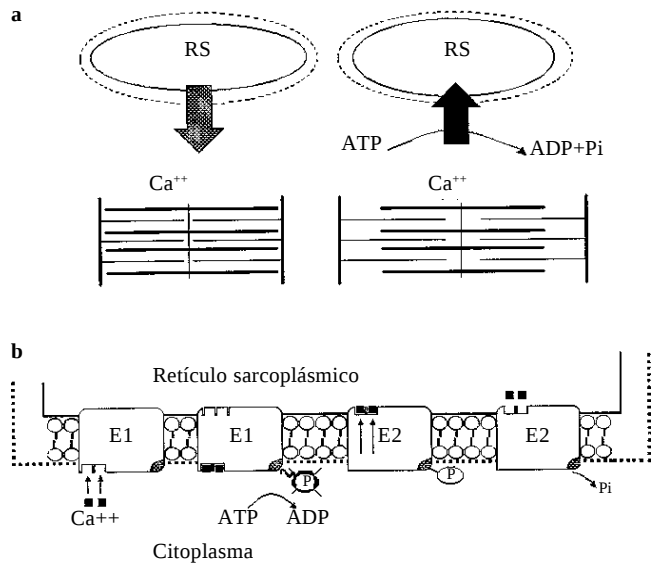


Figura 7. Bomba o ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico (RS) del miocardio. El Ca^{2+} extracelular entra a la fibra miocárdica durante la meseta (fase 2) del PAM (Figura 6 a). **a)** El Ca^{2+} que entra, sirve para liberar una gran cantidad de Ca^{2+} por canales contenidos en el RS (flecha punteada hacia abajo) y producir la contracción en la sarcómera. Su relajación se produce por reacumulación activa («secuestro») de Ca^{2+} (flecha negra hacia arriba) en el RS por acción de la bomba de Ca^{2+} modulada por el fosfolamban. La bomba y el fosfolamban representan el 80-90% de los componentes de la membrana del RS. **b)** El mecanismo de bomba de Ca^{2+} es similar al de la bomba de Na^+/K^+ (Figura 6), pero es más sencillo porque se transporta sólo un ion. (b modificada de ref 5).

A este mecanismo que Fabiato llamó «liberación de calcio por el calcio»,²⁴ se debe el aumento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y el inicio de la contracción. La entrada de calcio por el sarcolema, la liberación de calcio por el RS, y el inicio de la contracción (sístole) son fenómenos independientes el ATP (Figura 7 a, flecha punteada hacia abajo) y por tanto «pasivos» por definición. No así la relajación muscular (diástole) que depende de la reacumulación de Ca^{2+} en el RS por acción de la bomba de Ca^{2+} del RS (Figura 7 a, flecha negra hacia arriba).

Bomba o ATPasa de Ca^{2+} . Como toda ATPasa de tipo P, la bomba de Ca^{2+} (SERCA, en inglés) está formada por dos copias de la subunidad α (de acción catalítica) y dos copias de la subunidad β . Junto con el fosfolamban («receptor de fosfato»), la bomba representa el 80-90% de los componentes de la membrana del RS.⁴ El fosfolamban guarda una relación 1:1 con la ATPasa. Al fosforilarse, el fosfolamban cambia de configuración y con ello activa la bomba de Ca^{2+} , la cual protruye en el citoplasma, de donde regresa al RS dos iones de Ca^{2+} por cada molécula de ATP hidrolizada (Figura 7 b). El Ca^{2+} del RS se deposita en la calsecuestrina, y la actividad de la bomba está modulada por calmodulina.²⁴ El mecanismo de bombeo de Ca^{2+} (Figura 7 c) es similar al de la bomba de Na^+/K^+ (Figura 6 c), pero es más sencillo porque transporta sólo un ion.

En resumen con la liberación pasiva de Ca^{2+} por el RS se produce la contracción (sístole) y con el regreso activo de Ca^{2+} por la bomba del RS se produce la relajación (diástole).

Recordemos también que en el corazón una tercera parte de la energía del ATP se consume para el funcionamiento de la bomba o ATPasa de Na^+/K^+ y las dos terceras partes restantes del ATP se consumen para su función mecánica (ATPasa de la miosina y bombas de calcio).

Para la homeostasia de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, debe salir por el sarcolema la misma cantidad de Ca^{2+} que había entrado durante la meseta del PAM (Figura 6 a). Hay un mecanismo de bomba en el sarcolema que lo expulsa, pero el mecanismo principal es de intercambio con el sodio: entran 3 Na^+ por cada Ca^{2+} que sale, luego el Na^+ se expulsa por su bomba. Una disfunción de la bomba de Na^+/K^+ comporta una acumulación intracelular de Na^+ y Ca^{2+} (y una salida de K^+). Al parecer las mitocondrias intervienen en la regulación de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ sólo en caso de sobrecarga intracelular de Ca^{2+} .²⁴

Metabolismo cardiaco e infarto del miocardio

Corazón, un órgano aeróbico. Por su metabolismo, el corazón (miocardio) es comparable más con el cerebro que con el músculo esquelético. Al igual que el cerebro, el corazón depende del aporte continuo de sangre oxigenada, posible por la relación 1:1 entre fibras y capilares miocárdicos. A diferencia del músculo esquelético, en el corazón no se produce deuda de oxígeno (O_2) gracias a su mecanismo de autorregulación, conocido también como ley económica.

Ley económica del corazón. Se habla de ley económica porque se relaciona oferta con demanda (de O_2 , en nuestro caso). La ley es una aplicación del principio de Fick,²³ según el cual:

$$\text{MVO}_2 = \text{Qcor} \times \Delta\text{O}_2$$

(demanda) (oferta)

Qcor = gasto (o flujo) coronario.

ΔO_2 = diferencia arteriovenosa de O_2 del miocardio.

Puesto que la extracción de O_2 por el miocardio es casi completa, resulta que

$$\text{MVO}_2 \approx \text{Qcor}$$

de donde se concluye que normalmente hay un equilibrio entre los dos factores y que es la demanda de O_2 por el miocardio (MVO_2) el factor que determina la distribución del gasto coronario (Qcor). Esta distribución es independiente de la presión media de la aorta entre límites de 60 a 130 mm Hg.²⁴ La distribución de Qcor está regulada en gran medida por la liberación vasodilatadores metabólicos y en especial de óxido nítrico (NO) endógeno, como demostraron Furchgott, Ignarro y Murad, los tres galardonados con el premio Nobel de Medicina en 1998.²⁵

Para su metabolismo oxidativo, el miocardio utiliza ácidos grasos libres (AGL) en ayunas, glucosa después de ali-

mentos, y lactato y AGL durante el ejercicio.²⁴ El metabolismo se vuelve anaeróbico cuando la demanda supera la oferta de O_2 al disminuir el aporte de sangre oxigenada a una parte del corazón, como sucede en el infarto del miocardio.²⁴

Infarto y gradiente eléctrico. Es opinión aceptada que en el infarto agudo del miocardio existe un gradiente eléctrico de *despolarización diastólica*,²⁶ caracterizado por grados diferentes de disminución del potencial de reposo de la membrana (PRM). La disminución del PRM (despolarización diastólica) es mayor en el centro del infarto. En el infarto se distinguen tres zonas: 1) necrosis (inexcitable por completo); 2) lesión (con excitabilidad anormal) y 3) isquemia (con repolarización anormal). Las tres zonas se manifiestan en el electrocardiograma por onda Q patológica o complejo QS (necrosis), desnivel del segmento ST (lesión) y onda T negativa de ramas simétricas (isquemia).

Despolarización diastólica y bomba o ATPasa de Na^+/K^+ . El gradiente de despolarización diastólico se atribuye a disfunción de la bomba o ATPasa de Na^+/K^+ con salida de K^+ intracelular y entrada de Na^+ y Ca^{2+} a causa del metabolismo anaeróbico y consecuente formación de radicales libres derivados del oxígeno molecular (O_2). En pequeñas cantidades estos radicales como el anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno pequeñas cantidades, estos radicales como el anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el muy peligroso radical oxidrilo ($\text{OH}^\cdot$), se forman de manera continua durante el metabolismo normal de todo organismo aeróbico por reacciones de óxido-reducción con transferencia de e-. Entre el 1 y 3% del O_2 que inspiramos se usa para formar el ion superóxido, lo que significa la producción de 2 kg o más de superóxido al año.²⁷ Normalmente también estos radicales se eliminan mediante una serie de enzimas, tales como superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa y catalasa, que existen tanto en las mitocondrias como en el citoplasma.^{24,27} Otro radical libre es el óxido nítrico (NO), que se forma en el endotelio vascular, y produce vasodilatación.²⁸

En el infarto del miocardio, a falta de O_2 que es el receptor final de los e- (Figura 4), hay un exceso de H^+ y de e- con producción de acidosis y de radicales libres capaces de generar más productos tóxicos en una reacción en cadena.^{24,27,28} Por lo anterior, un tratamiento racional del infarto tendría que enfocarse a mejorar el metabolismo cardiaco al administrar el sustrato energético esencial (glucosa), la hormona (insulina) para la captación y utilización de la glucosa, y el catión (K^+) faltante y «polarizar» el miocardio lesionado, recuperando así el tejido potencialmente viable.

Tratamiento metabólico del infarto. En 1962, se propuso un tratamiento a base de glucosa, insulina y potasio.²⁶ En pacientes con infarto agudo este tratamiento mejoró la evolución de los signos de infarto en el ECG, redujo las extrasístoles y trastornos de la conducción con una mejor supervivencia de los pacientes a corto plazo. Experimentalmente el mismo tratamiento demostró mejorar la relación

P/O (moléculas de ATP por átomos de O₂ consumido) al estimular el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa.²⁹

En un meta-análisis reciente³⁰ se concluye que el mismo tratamiento «...tiene bases fisiológicas» y en dosis adecuadas «...protege al miocardio isquémico por 10 h o más»... reduce la mortalidad en un 49 por 1,000 pacientes», pudiendo mejorar los resultados de la trombólisis³⁰ con o sin angioplastia coronaria primaria.³¹ En un editorial sobre el tema,³² se reconoce que «...el tratamiento es sencillo, seguro y sinérgico» y que «...ya llegó el momento para un estudio prospectivo multicéntrico»,³² en analogía a la conclusión de otros autores.³³ En una edición pueden ofrecer el aporte metabólico necesario en caso de isquemia miocárdica, sobre todo en pacientes con infarto anterior extenso y choque cardiogénico».³⁴

La ECLA (Estudios Cardiológicos de Latinoamérica) acaba de publicar el primer gran estudio prospectivo multicéntrico llevado a cabo en 29 hospitales de Latinoamérica sobre el tratamiento del infarto agudo del miocardio con infusión de GIK, observándose una reducción de la mortalidad en un 62% de los pacientes.³⁵ En un editorial, los resultados de este estudio se catalogan de «notables» y se espera que esto sirva de estímulo para el tratamiento metabólico del infarto agudo del miocardio.³⁶ Además del infarto³⁷ y de la angina de pecho,³⁸ el tratamiento con GIK está indicado en pacientes con choque cardiogénico,^{39,40} y puede reducir la isquemia del miocardio durante la cirugía de revascularización coronaria.⁴¹

En conclusión, acerca del tratamiento metabólico del infarto y en general de la isquemia del miocardio, no obstante sus bases fisiológicas, falta por establecer el (los) mecanismo(s) exacto(s) de acción del tratamiento, las indicaciones precisas, así como las modalidades de administración y por último conducir un «megaensayo» como propone la ECLA y Circulación también.

Referencias

- Lehninger AL. Bioenergetics, 2da ed, 1973; Massachusetts, W.A. Benjamin Inc, cap 1-3.
- Atkins PW. The second law. New York: WH. Freeman, 1994; cap. 1-2.
- Alberts B, Bray D, Lewis J et al. Molecular biology of the cell. 3ra. ed. New York: Garland, 1994; Cap. 2, 11, 14.
- Lodish H, Baltimore D, Berk A, et al. Molecular cell biology, 3ra ed, New York: WH. Freeman, 1996; Cap. 15, 18.
- Hinkle PC, McCarty RE. How cells make ATP. Sci Am 1978; 238(3): 104-123.
- Gray MW, Burger G, Lange BF. Mitochondrial evolution Science 1999; 283: 1476-82.
- Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. Science 1999; 283: 1482-88.
- Senior AE. ATP synthesis by oxidative phosphorylation. Physiol Rev 1988; 68: 177-231.
- Saraste M. Oxidative phosphorylation at the fin de siecle. Science 1999; 283: 1488-93.
- Mitchell P. Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. Science 1979; 206: 1148-1159.
- Website: WWW.Kva.se. The 1997 Nobel Prize in Chemistry.
- Racker E, Estoeckenius W. Reconstitution of purple membrane vesicles catalyzing lightdriven proton uptake and adenosine triphosphate formation. J Biol Chem 1974; 249: 662-663.
- Walker JE, Saraste M, Gay NJ. The uncoupler: nucleotide sequences, regulation and structure of ATP-synthase. Biochem Biophys 1984; 768: 164-200.
- Abrahams JP, Leslie AB, Lutter R, Walker JE. Structure at 2.8 Å resolution of F₁ATPase from bovine heart mitochondria. Nature 1994; 370, 621-628.
- Boyer PD. The ATP synthase- A splendid molecular machine. Annu Rev Biochem 1997; 66: 717-749.
- Block SM. Real engines of creation. Nature 1997; 386: 217-219.
- Noji H, Yasuda R, Yoshida M, Kinosita Jr K. Direct observation of the rotation of F₁ATPase. Nature 1997; 386: 289-302.
- Testelli MR, Garfias-Arvizu A. Canales y corrientes iónicas del corazón. Rev Sanid Milit Mex 1997; 51 (3): 141-149.
- Weidmann S. Resting and action potentials of the heart. En: The electrophysiology of the heart (ed. Hecht HH). Ann NY Acad Sci 1957; 65: 663-678.
- Post RI. A reminiscence about sodium, potassium-ATPase. Ann NY Acad Sci 1975; 242: 6-11.
- Skou JC, Esmann M. The Na, K-ATPase J. Bioenerg Biomembr 1992; 24: 249-261.
- Lutsenko S, Kaplan JH. Organization of P-type ATPases: significance of structural diversity. Biochemistry 1995; 34: 15607-15613.
- Testelli MR. Bases mecánicas de la función cardíaca. En: Músculos esquelético y cardíaco, Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, México, 1987: 469-536, cap. 12.
- Opie LH. The heart. Physiology and metabolism., 2da ed. 1991: NY Raven Press, cap. 3 y 5.
- The 1998 Nobel Prizes in Science. Sci Am 1999: 16-19.
- Sodi-Pallares D, Testelli MR, Fishleder B et al. Effects of an intravenous infusion of potassium-glucose-insulin solution on the electrocardiographic signs of myocardial infarction. Am J Cardiol 1962; 9: 166-181.
- Halliwell B. Free radicals and antioxidants. Lancet 1994; 344: 721-724.
- Moncada S, Palmer MJ, Higgs EA. Nitric Oxide. Physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol. Rev 1991; 43: 109-139.
- Calva E, Mujica A, Bisteni A, Sodi-Pallares D. Oxidative phosphorylation in cardiac infarct. Effect of glucose-KCI-insulin solution. Am J Physiol 1965; 209: 375-380.
- Fath-Ordoubadi F, Beatt KJ. Glucose-insulin-potassium therapy treatment of acute myocardial infarction: an overview of randomized placebo-controlled trials. Circulation 1997; 96: 1152-56.
- Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto miocardico (GISSI): effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. Lancet 1986; 1: 397-410.
- Apstein CS., Taegtmeyer H. Glucose-insulin-potassium in acute myocardial infarction: The time has come for a large prospective trial. Circulation 1997; 96: 1074-1077.
- Oliver MF, Opie LH. Effect of glucose and fatty acids on myocardial ischaemia and arrhythmias. Lancet 1994; 343: 155-58.
- Braunwald E. Heart disease a textbook of cardiovascular medicine. 5ª ed, Filadelfia, Saunders Co, 1997: 1232.
- Diaz R, Paolasso EA, Piegas LS et al. Metabolic modulation of acute myocardial infarction. The ECLA glucose-insulin-potassium pilot trial. Circulation 1998; 98: 2227-34.
- Asptein CS. Glucose-Insulin-Potassium for acute myocardial infarction. Remarkable results from a new prospective randomized trial. Circulation 1998; 98: 2223-26.
- Eneleng P, Koivisto VA. Glucose-insulin-potassium therapy for treatment for acute myocardial infarction. Circulation 1998; 97: 2278-80.
- Martínez EF, Tellez JS, Martínez TL et al. The effects of glucose as myocardial substrate utilization in acute myocardial infarction or angor pectoris. Am J Cardiol 1987; 60: 947-951.
- Taegtmeyer H, Goodwin GW, Doenst T et al. Substrate metabolism as a determinant for postischemic functional recovery of the heart. Am J Cardiol 1997; 80: 3A-10A.
- Lazar HL. Enhanced preservation of acutely ischemic myocardium and improved clinical outcomes using glucose-insulin-potassium (GIK) solutions. Am J Cardiol 1997; 80: 90A 93A.
- Dainese L, Polvani GL, Fumero A et al. Advantages of the glucose-insulin-potassium (GIK) therapy for the reduction of acute myocardial ischemia in surgical myocardial revascularization G. Ital Cardiol 1999; 29: 575-579.