

EI INTERCAMBIADOR $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ COMO RESPONSABLE DEL ATONTAMIENTO MIOCARDICO

SUSANA M MOSCA*, HORACIO E CINGOLANI*

Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata

Resumen Nuestro objetivo fue examinar la participación de los intercambiadores Na^+/H^+ (NHE) y $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) sobre las alteraciones sistólicas y diastólicas propias del atontamiento miocárdico. Se utilizó el modelo de corazón aislado isovolúmico de rata el cual fue sometido a 20 min de isquemia global (Is) y 30 min de reperfusión (R). Este protocolo se repitió en presencia de $1\mu\text{M}$ de HOE 642, bloqueante específico del NHE-1 y de KB-R7943, bloqueante del modo inverso del NCX (entrando Ca^{2+} y sacando Na^+ de la célula) administrados antes de la Is, y/o en la R. En los controles isquémicos la contractilidad, evaluada a través de la $+dP/dt_{\text{max}}$ se recuperó aproximadamente un 60%. La recuperación postisquémica fue total cuando el bloqueo de NHE fue efectuado antes de la Is o al comienzo de la R y mejoró significativamente cuando en Is y R se bloqueó el NCX ($95 \pm 7\%$). La contractura isquémica disminuyó con ambos tratamientos cuando fueron realizados previos a la Is. El aumento de la PDF observado en la R (44 ± 4 mmHg) fue atenuado por el bloqueo del NHE efectuado antes de la Is y sólo en la R (24 ± 6 y 12 ± 2 mmHg) y por el bloqueo del NCX realizado durante Is y R (12 ± 6 mmHg). Estos resultados indican que la activación del modo inverso del NCX secundaria a una activación del NHE (que incrementa el Na^+ intracelular) durante la isquemia y reperfusión es el mecanismo culpable de la sobrecarga de Ca^{2+} involucrado en la disminución de la contractilidad que caracteriza al miocardio atontado.

Palabras clave: bloqueo del Na^+/H^+ , bloqueo del $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, atontamiento miocárdico, isquemia

Abstract *The $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger as a culprit of myocardial stunning.* Our objective was to assess the participation of Na^+/H^+ exchanger (NHE) and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX) on systolic and diastolic alterations of myocardial stunning. Isolated perfused rat hearts were submitted to 20 min of global ischemia (Is) followed by 30 min of reperfusion (R). This protocol was repeated after treatment before ischemia and/or early in R. with HOE 642 $1\mu\text{M}$, a specific blocker of NHE-1 and KB-R7943 $1\mu\text{M}$ the novel inhibitor of the reverse mode of NCX. In control ischemic hearts the contractility assessed through $+dP/dt_{\text{max}}$ recovered approximately 60%. When the NHE blockade was performed before Is or early in R the postischemic recovery reached 100%. The blockade of the reverse mode of NCX only improved significantly the recovery when administered before Is and early in R ($95 \pm 7\%$). The ischemic contracture decreased when the treatment with both blockers was performed before Is. During R the increase of end diastolic pressure (EDP) observed in control ischemic hearts (at 30 min of R, EDP value was 44 ± 4 mmHg) diminished significantly by NHE (24 ± 6 and 12 ± 2 mmHg when the blocker was administered before or after Is) and NCX blockade performed before and after Is (12 ± 6 mmHg). These results indicate that the activation of the reverse mode of NCX secondary to the NHE activation during ischemia and reperfusion is the mechanism responsible for the Ca^{2+} overload involved in the diminution of contractility that characterizes myocardial stunning.

Key words: Na^+/H^+ blockade, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ blockade, myocardial stunning, ischemia

La restauración del flujo coronario después de períodos cortos de isquemia provoca en el miocardio una depresión transitoria de la contractilidad, entidad observada por primera vez por Heyndrickx y col¹ en 1975 y llamada "atontamiento miocárdico" por Braunwald y col² en 1982. Este fenómeno observado en situaciones clíni-

cas y distintos modelos experimentales, está caracterizado por alteraciones postisquémicas que revierten en horas a días.

Las dos hipótesis que han sido postuladas para explicar el atontamiento miocárdico son: la formación de radicales libres derivados del oxígeno y la alteración de la homeostasis de calcio³⁻⁵. En relación a esta última investigación previas han mostrado que la concentración intracelular de calcio aumenta durante la isquemia y más aún en los primeros minutos de la reperfusión⁶, iniciándose así la activación de proteasas, que inducen la degradación parcial de proteínas⁷.

Nuestro objetivo fue examinar la participación de los intercambiadores Na^+/H^+ (NHE) y $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) sobre

* Miembros de la Carrera del Investigador del (CONICET) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

Dirección Postal: Dr. Horacio E Cingolani, Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 120, 1900 La Plata, Argentina

Fax: (54-221) 425-5861

e-mail: cicme@atlas.med.unlp.edu.ar

las alteraciones producidas durante la isquemia y la reperfusión. Nuestros datos sugieren que la hiperactividad del NHE que ocurre principalmente al inicio de la reperfusión aumenta el Na^+ intracelular e induce a través del NCX trabajando en modo inverso la sobrecarga de Ca^{2+} que conduce al atontamiento.

Material y métodos

Las ratas (n=28) fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (60 mg/kg i.p.). Se abrió rápidamente el tórax, se aisló la aorta y se colocó una cánula en dicha arteria. A través de esta vía se introdujo solución de Ringer heparinizada para limpiar la sangre de todo el árbol coronario. Se cortaron las conexiones cardíacas liberando al corazón de grasa y tejido conectivo, sacándolo del animal. Estas maniobras se realizaron en un tiempo no mayor de 50 seg, para evitar deterioro del preparado. Una vez removido el corazón se lo colocó por intermedio de la cánula en un sistema de perfusión según la técnica de Langendorff. La composición del Ringer fue: ClNa 118 mM, Cl_2Ca 1.35 mM, ClK 5.9 mM, SO_4Mg 1.2 mM, CO_3HNa 20 mM y dextrosa 11.1 mM, el cual fue termostatzado a 37°C y equilibrado con una mezcla de 95% O_2 - 5% CO_2 , para obtener un valor de pH de aproximadamente 7.40. Se produjo bloqueo aurículo-ventricular dañando con una fina aguja el tejido conductivo del septum auricular y se suturaron dos electrodos al ventrículo derecho para estimular al corazón y así mantener la frecuencia cardíaca en un valor de 280 ± 10 lat/min. Se colocó un balón de látex atado a un tubo de polietileno en el ventrículo izquierdo a través de la válvula mitral; el extremo opuesto del tubo fue conectado a un transductor de presión Statham P23XL que nos permitió medir la presión del ventrículo izquierdo. El globo de látex se llenó con solución acuosa hasta lograr una presión diastólica final (PDF) de 8-12 mmHg, y se mantuvo este volumen constante durante todo el experimento. La presión de perfusión coronaria fue monitoreada en el

punto de canulación de la aorta y ajustada a aproximadamente 60-70 mmHg. El flujo coronario, controlado por una bomba peristáltica fue de aproximadamente 10 ml/min en todos los grupos experimentales. La presión ventricular izquierda (PVI) y su primera derivada (dP/dt) fueron registradas en un registrador oscilográfico de inscripción directa (Gould 200).

Protocolos experimentales

Después de un período de estabilización de 10 min, se realizaron los siguientes protocolos (Fig 1).

Control isquémico (n=10): Los corazones aislados fueron sometidos a un período de isquemia global normotémica de 20 min seguidos de 30 min de reperfusión. La isquemia fue inducida por interrupción total del flujo coronario y el corazón fue colocado en una cámara termostatzada a 37°C.

NHE_b (n=12): Para examinar los efectos del bloqueo del NHE se administró HOE 642, bloqueante específico de dicho intercambiador, en la dosis de 1µM [que inhibe un 80% de la actividad del NHE (8)], según dos esquemas: a) durante 10 min previos a la isquemia (P; n=7) y b) durante los 10 primeros minutos de la reperfusión (R, n=5).

NCX_b (n=6): Para evaluar la contribución del modo de acción inverso del intercambiador Na^+/Ca^{2+} (NCX), KB-R7943, bloqueante específico del mismo fue administrada una dosis de 1 mM [dosis efectiva para la inhibición del intercambiador en este modelo experimental, utilizada recientemente por Nakamura y col (9)] según tres esquemas: a) durante los 10 minutos previos a la isquemia (P); b) sólo durante los 10 primeros minutos de la reperfusión (R). c) durante los 10 minutos previos a la isquemia y los 5 min iniciales de la reperfusión (PR).

Parámetros medidos

La contractilidad fue evaluada a través de la presión desarrollada (PD), obtenida restando el valor de PDF a la PVI pico y la máxima velocidad de desarrollo de la PVI (+dP/dt_{max}) y la rigidez diastólica a través de la PDF.

PROTOSCOLOS

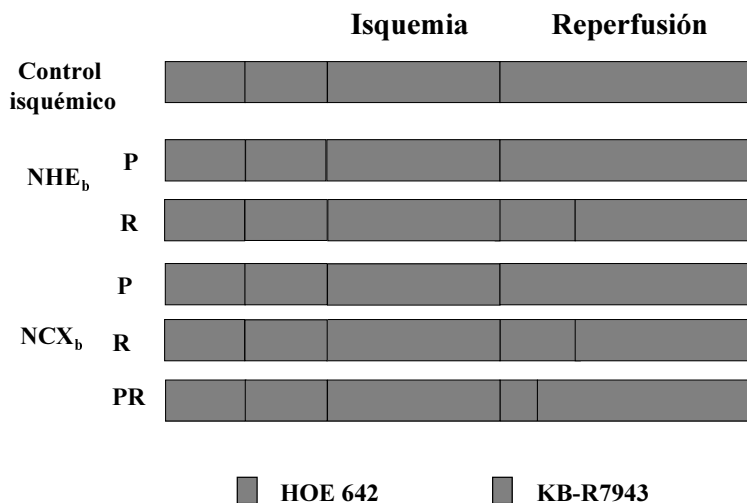


Fig. 1.- Esquema que muestra los distintos protocolos experimentales

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) con el test de Newman-Keul's para comparaciones múltiples entre los distintos grupos experimentales. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando el valor de p fue menor de 0.05.

Resultados

Controles isquémicos (sin tratamiento)

En los corazones sometidos al período de isquemia de 20 min y sin tratamiento alguno se observó una recuperación de la PD y de la +dP/dt_{max} de aproximadamente 60% (Fig 2). Como los cambios de ambos parámetros analizados son similares, usaremos sólo el valor de la +dP/dt_{max} para caracterizar el estado contráctil miocárdico durante la reperfusión. En trabajos previos hemos validado este modelo experimental de atontamiento miocárdico¹⁰.

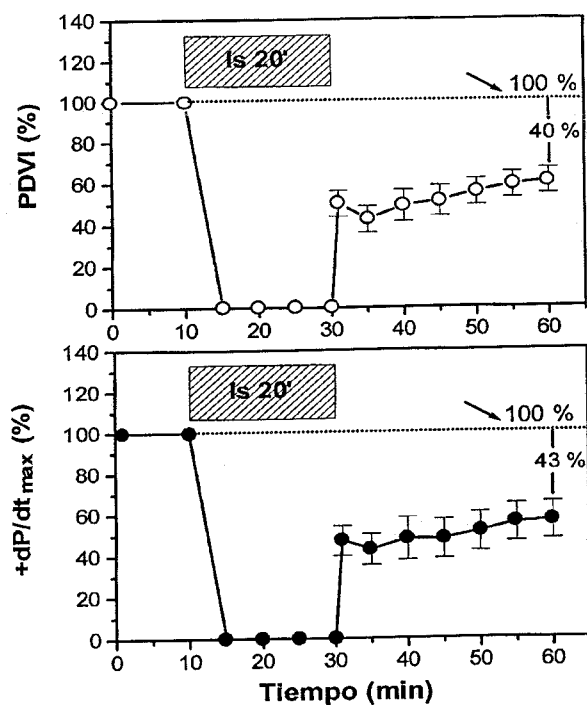


Fig. 2.- En esta figura se muestran los cambios de la presión desarrollada (PD) y la máxima velocidad de desarrollo de la presión (+dP/dt_{max}) en situación preisquémica, durante la isquemia global de 20 min y durante los 30 min de reperfusión. Se observa que durante la reperfusión el corazón se recupera parcialmente estabilizándose la PD y la +dP/dt_{max} en valores de aproximadamente 60% con respecto al control (ambos parámetros disminuyeron aproximadamente un 40%).

En este grupo experimental la PDF aumentó significativamente durante la isquemia (desde un valor preisquémico de 11 ± 1 mmHg a 35 ± 4 mmHg al final del período isquémico), manteniéndose elevada durante la reperfusión y alcanzando hacia el final de la misma un valor de 44 ± 4 mmHg.

Bloqueo del NHE (NHE_v)

El HOE 642, bloqueante específico del NHE-1, administrado en dosis 1 μM no modificó significativamente el inotropismo. Como se observa en la Fig 3 (panel A) esta dosis del bloqueante del NHE al ser administrado antes del período isquémico (Ver Fig 1 por protocolo), produce la recuperación total de la contractilidad luego de 30 min de reperfusión.

La contractura durante la isquemia fue anulada por el bloqueo del NHE-1 siendo la PDF al final de la isquemia de 10 ± 3 mmHg. También se observó una disminución significativa del aumento de la PDF durante la

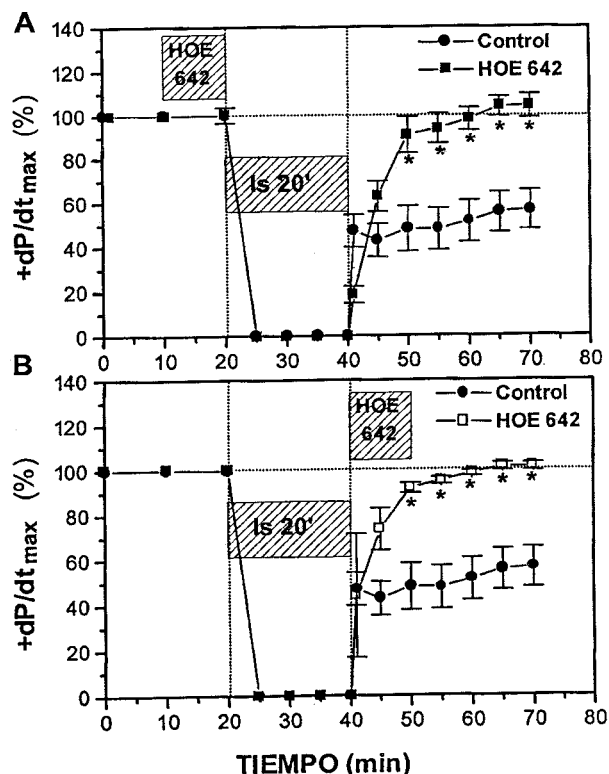


Fig. 3.- Cambios de la máxima velocidad de desarrollo de la presión (+dP/dt_{max}) producidos por la administración del HOE 642 (bloqueante del NHE) previamente a la isquemia (panel A) y sólo en la reperfusión (panel B). Nótese que en ambas situaciones experimentales se logró un aumento de la recuperación contráctil alcanzando la +dP/dt_{max} valores preisquémicos (100%). * p < 0.05.

reperusión. En los corazones de este grupo experimental la PDF a los 30 min de reperusión fue de 24 ± 6 mmHg vs 44 ± 4 mmHg en los controles isquémicos.

Cuando el bloqueante del NHE-1 fue administrado solamente en los primeros 10 minutos de la reperusión, la recuperación de la función contráctil fue total (Fig 3, panel B). Este compuesto también disminuyó significativamente el aumento de la PDF observado durante la reperusión en los corazones sin tratamiento (la PDF a los 30 min de reperusión fue de 12 ± 2 mmHg vs 44 ± 4 mmHg).

Los resultados de los experimentos anteriores nos indican que el bloqueo del NHE mejora la recuperación de las funciones sistólica y diastólica del miocardio, ya sea al administrarse previamente a la isquemia como al inicio de la reperusión.

El hecho de que la intervención farmacológica sea efectiva cuando es administrada luego de la isquemia apoya la idea de que el atontamiento miocárdico podría ser inducido por un mecanismo "gatillado" en la reperusión.

Bloqueo del NCX en su modo inverso (NCX_b)

En 1996¹¹ se describió un compuesto capaz de bloquear la entrada de Ca²⁺ a la célula por NCX trabajando en su modo inverso, es decir intercambiando Na⁺ intracelular por Ca²⁺ extracelular. Este modo de acción se ve favorecido por el aumento del Na⁺ intracelular que ocurre du-

rante la isquemia¹². Publicaciones recientes^{13,14} demuestran en miocitos de rata que la sobrecarga de Ca²⁺ es debida fundamentalmente al funcionamiento del NCX en su modo inverso.

Los efectos del KB-R7943 cuando dicha droga fue administrada antes de la isquemia y en la reperusión temprana se muestran en la Fig 4. Este compuesto mejora la recuperación postisquémica del miocardio en forma significativa. Se observó también que el bloqueo del modo de acción inverso del intercambiador NCX anuló la contractura isquémica (13 ± 5 mmHg vs 35 ± 4 mmHg) y disminuyó significativamente el aumento de la PDF observado en la reperusión (12 ± 6 mmHg vs 44 ± 4 mmHg).

Cuando el KB-R7943 fue administrado únicamente antes de la isquemia la $+dP/dt_{max}$ se recuperó hasta un valor de $72 \pm 16\%$ al final del período de reperusión y cuando fue dado solamente en el comienzo de la reperusión el valor de la $+dP/dt_{max}$ fue de $48 \pm 4\%$. Ambos valores no son diferentes estadísticamente de aquel observado en los controles isquémicos ($57 \pm 9\%$).

La Fig. 5 resume los datos de la PDF obtenidos antes de la isquemia, luego de 20 min de isquemia y luego de 30 min de reperusión en experimentos controles isquémicos (sin tratamiento farmacológico), con bloqueo del NHE antes de la isquemia o en la reperusión y con bloqueo del NCX antes de la isquemia y al inicio de la reperusión. Es evidente que la PDF, a volumen diastólico constante, se incrementa, reflejando un cambio en la rigidez diastólica, durante la isquemia y la reperusión.

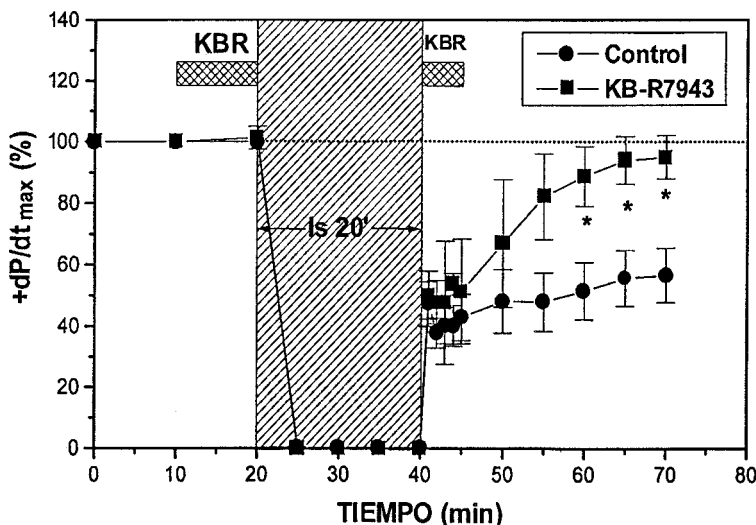


Fig. 4.- Cambios de la máxima velocidad de desarrollo de la presión ($+dP/dt_{max}$) producidos por la administración del KB-R7943 (bloqueante del modo inverso del NCX). Nótese que la recuperación postisquémica de la contractilidad fue significativamente mayor que la observada en los corazones sin tratamiento. * $p < 0.05$.

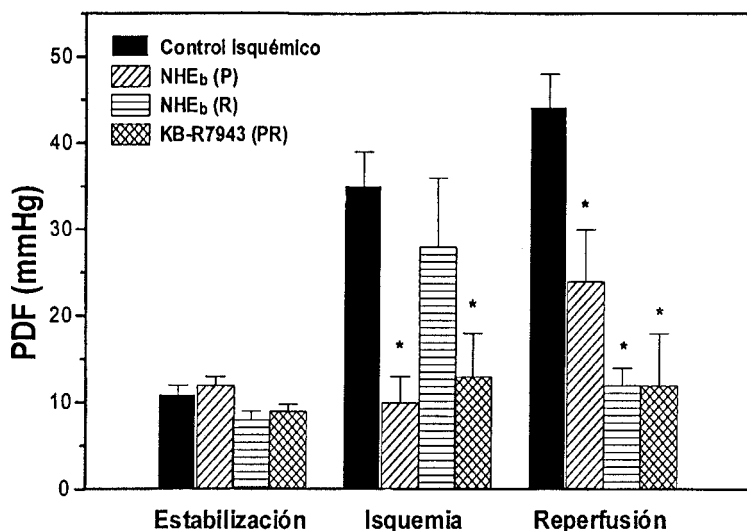


Fig. 5.- Efectos de los distintos tratamientos sobre la presión diastólica final (PDF) durante la estabilización, isquemia y reperusión. Nótese que el bloqueo del NHE (PR) previo a la isquemia (P) así como el bloqueo del NCX anulaban la contractura isquémica. Todos los tratamientos disminuyeron significativamente el aumento de la PDF observado durante la reperusión en los corazones sin tratamiento. * $p < 0.05$.

Este aumento de la rigidez se previene por el bloqueo de los dos compuestos ensayados, el bloqueante del NHE y el bloqueante del NCX.

Discusión

En nuestra preparación de corazón aislado e isovolúmico de rata tanto el bloqueo del NHE como el del NCX atenuaron significativamente las alteraciones sistólicas y diastólicas observadas durante la reperusión después de 20 min de isquemia global. Si bien trabajos previos han demostrado la protección miocárdica postisquémica mediante el uso de bloqueantes del NHE¹⁵⁻¹⁸, no hay acuerdo respecto al momento en que deben ser administrados para lograr la protección. Algunos estudios muestran atenuación del atontamiento miocárdico sólo cuando el bloqueante es administrado previamente a la isquemia^{15,18}. En el presente trabajo demostramos que los efectos beneficiosos del bloqueo del NHE son posibles de obtenerse administrándolos antes de la isquemia o tempranamente en la reperusión. Esto sugiere que en nuestro modelo experimental el atontamiento miocárdico podría ser una injuria por reperusión, con lo cual sería posible un efecto terapéutico aún luego de instalarse la isquemia. Estas conclusiones estarían de acuerdo con un trabajo reciente¹⁹ en el que se muestra disminución del tamaño del infarto en el animal "in vivo" por tratamiento con un nuevo inhibidor del NHE después del comienzo de la oclusión coronaria.

Durante la isquemia la glucólisis anaeróbica provoca acidosis intracelular, la cual activa el NHE. Esta activación si bien tiende a normalizar la concentración intracelular de H⁺, induce un aumento de la concentración intracelular de Na⁺. Simultáneamente al descender los niveles de ATP la bomba Na-K ATPasa es inhibida con lo cual se activa uno de los mecanismos que disminuye el Na⁺ intracelular (Na⁺). La sobrecarga de Na⁺ en la isquemia fue demostrada por distintas técnicas, tales como el uso de electrodos sensibles al Na⁺²⁰, la espectrofotometría de absorción atómica¹² y la resonancia magnética nuclear²¹. El aumento del Na⁺ modifica la actividad del NCX en sus dos modos de acción, ya sea disminuyendo su modo "directo" de funcionamiento (eliminando Ca²⁺ de la célula) o bien aumentando su modo inverso de funcionamiento (promoviendo la entrada de Ca²⁺ a la célula) (Fig. 6). Ambas alteraciones del funcionamiento del NCX llevan a un aumento de la concentración intracelular de Ca²⁺ (Ca²⁺) durante la isquemia. Trabajos previos han mostrado que efectivamente el Ca²⁺ aumenta durante la isquemia y este aumento persiste durante los primeros minutos de la reperusión⁶. Es en este momento donde se observa una mayor actividad del NHE al desaparecer la inhibición que el aumento del H⁺ extracelular efectuaba sobre el mismo y permanecer todavía la acidosis intracelular. A esto se le agrega la producción en los primeros minutos de la reperusión de una gran cantidad de radicales libres derivados del oxígeno (RL), los cuales interfieren con el intercambio Na⁺/

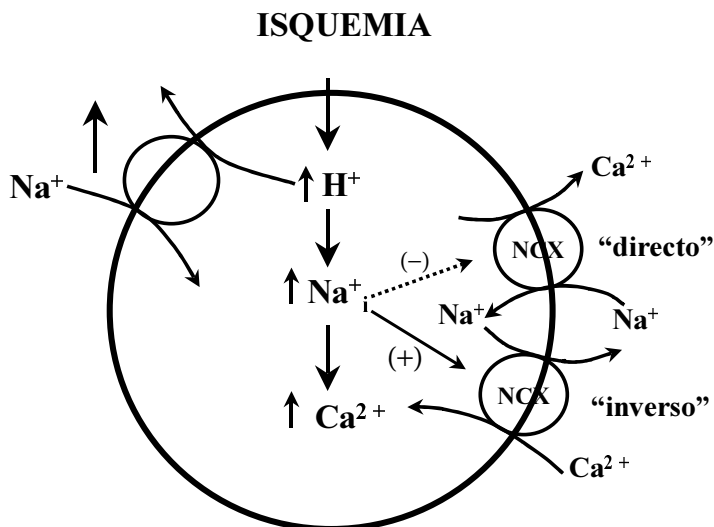


Fig. 6.- En esta figura se ha esquematizado la secuencia de eventos desencadenados por la isquemia que conducen a la sobrecarga de Ca^{2+} . Se muestra que los H^+ producidos por la isquemia activan el NHE, llevando a un aumento de la concentración intracelular de este ion (Na^+_i). Esta sobrecarga de Na^+ conduce a una disminución de la actividad del modo "directo" de funcionamiento del NCX (intercambiando Na^+_o por Ca^{2+}_i) o bien a un aumento del modo "inverso" de funcionamiento del NCX (intercambiando Na^+_i por Ca^{2+}_o). El resultado de estas acciones es un aumento de la concentración intracelular de Ca^{2+} .

Ca^{2+22} . El aumento del Ca^{2+}_i activando a las peroxidasas, contribuye a la generación de RL. Es decir que el aumento de la concentración de Ca^{2+}_i y la producción de RL son dos mecanismos deletéreos no excluyentes (23).

El aumento de la recuperación de la contractilidad que obtuvimos cuando administramos el bloqueante del NCX prueba la participación de dicho intercambiador en la génesis de la disfunción contráctil. Nuestros datos ponen en evidencia la participación del modo de acción inverso del NCX como responsable del aumento del Ca^{2+} .

En estudios recientes (7) se ha mostrado que este aumento del Ca^{2+}_i produce activación de proteasas que clivan proteínas entre ellas a la troponina I (Tnl). Esta alteración llevaría a la disminuida respuesta de los miofilamentos al Ca^{2+} considerada como la causa de la disfunción contráctil que caracteriza al atontamiento miocárdico. Esta hipótesis estaría validada por el hecho de que la proteólisis de las proteínas regulatorias es un proceso reversible así como lo es el atontamiento. Según esta hipótesis en nuestras condiciones experimentales, en presencia de los bloqueantes de NHE y NCX deberíamos encontrar un menor grado de proteólisis de la Tnl.

En el presente trabajo además demostramos que el bloqueo de los dos intercambiadores anula la con-

tractura isquémica. Según trabajos previos la contractura isquémica es el resultado de la sobrecarga de Ca^{2+24} y/o la disminución del ATP²⁵. Por lo tanto, el efecto beneficioso de los tratamientos aquí efectuados será de esperar refleje la conservación del ATP durante la isquemia, y/o la disminución de la concentración intracelular de Ca^{2+} .

Nuestros resultados demuestran que la disminución postisquémica de la contractilidad se evita por el bloqueo de estos dos intercambiadores, el NHE-1 que al aumentar la Na^+_i promueve secundariamente la sobrecarga cálcica a través del NCX y el bloqueo del NCX en su modo inverso que es el mecanismo que provocará la sobrecarga cálcica. Aunque la prevención de la disfunción sistólica y diastólica con el bloqueo del NHE previo a la isquemia no es novedoso, no debemos olvidar que su acción persiste aún durante la reperusión. La protección obtenida al administrar el bloqueante del NHE sólo al inicio de la reperusión es un dato que además de ser de importancia terapéutica, sugiere que podríamos estar en presencia de injuria por reperusión. No obtuvimos la protección al administrar el bloqueante del NCX sólo en la reperusión ni tampoco al administrarlo sólo antes de la isquemia. Aunque es difícil de conciliar estos datos con los obtenidos por el bloqueo del NHE, no de-

bemos olvidar que la rapidez de acción, el tiempo de latencia y la duración del efecto producido hacen necesario que la droga sea administrada antes de la isquemia y en el inicio de la reperfusión para obtener una protección significativa. Esto no invalida la posibilidad de que el influjo de Ca²⁺ ocurra durante la reperfusión.

Bibliografía

- Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner F. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 1975; 56: 978-85.
- Braunwald E, Kloner R. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982; 66: 1146-49.
- Marban E, Kitakaze M, Koretsune Y, Yue DT, Chacko VP, Pike NM. Quantification of [Ca²⁺]_i in perfused hearts: critical evaluation of the 5F-BAPTA and nuclear magnetic resonance method as applied to the study of ischemia and reperfusion. *Circ Res* 1990; 66: 1255-67.
- Gao WD, Liu Y, Marban E. Mechanism of decreased myofilament Ca²⁺ responsiveness and stunned rat ventricular myocardium: relative roles of soluble cytosolic factors versus structural alterations. *Circ Res* 1996; 78: 455-65.
- Bolli R. Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation* 1990; 82: 723-38.
- Carrozza JP Jr, Bentivegna LA, Williams CP, Kuntz RE, Grossman W, Morgan JP. Decreased myofilament responsiveness in myocardial stunning follows transient calcium overload during ischemia and reperfusion. *Circ Res* 1992; 71: 1334-40.
- Gao WD, Atar D, Liu Y, Pérez NG, Murphy AM, Marban E. Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned heart. *Circ Res* 1997; 80: 393-99.
- Shipolini AR, Yokoyama H, Galiñanes M, Edmondson SJ, Hearse DJ, Avkiran M. Na⁺/H⁺ exchanger activity does not contribute to protection by ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *Circulation* 1997; 96:3617-25.
- Nakamura A, Harada K, Sugimoto H, Nakajima F, Nishimura N. Effects of KB-R7943, a novel Na⁺/Ca²⁺ exchange inhibitor, on myocardial ischemia/reperfusion injury. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1998; 111:105-15.
- Mosca SM, Gelpi RJ, Cingolani HE. Adenosine and dipyridamole mimic the effects of ischemic preconditioning. *J Mol. Cell Cardiol* 1994; 26: 1403-9.
- Iwamoto T, Watano T, Shigekawa M. A novel isothiourea derivative selectively inhibits the reverse mode of Na⁺/Ca²⁺ exchange in cells expressing NCX1. *J Biol Chem* 1996; 271: 22391-97.
- Tani M, Neely JR. Role of intracellular Na⁺ in Ca²⁺ overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts: possible involvement of H⁺-Na⁺ and Na⁺-Ca²⁺ exchange. *Circ Res* 1989; 65: 1045-56.
- Satoh H, Ginsburg KS, Qing K, Terada H, Hayashi H, Bers DM. KB-R7943 block of Ca²⁺ influx via Na⁺/Ca²⁺ exchange does not alter twitches or glycoside inotropy but prevents Ca²⁺ overload in rat ventricular myocytes. *Circulation* 2000; 101: 1441-46.
- Ladilov Y, Haffner S, Balsler-Schäfer C, Maxeiner H, Piper HM. Cardioprotective effects of KB-R7943: a novel inhibitor of the reverse mode of Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Am J Physiol* 1999; 276 (Heart Circ Physiol 45): H1868-76.
- Bugge E, Munch-Ellingsen J, Ytrehus K. Reduced infarct size in the rabbit heart in vivo by ethylisopropyl-amiloride. A role for Na⁺/H⁺ exchange. *Basic Res Cardiol* 1996; 91: 203-9.
- Hendrickx M, Mubagwa K, Verdonck 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.
- Scholz W, Albus U, Counillon H, Gögelein H, Lang HJ, Linz W, Weichert A, Schölkens BA. Protective effects of HOE 642, a selective sodium-hydrogen exchange subtype 1 inhibitor, on cardiac ischaemia and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1995; 29: 260-68.
- Klein H, Bohle R, Pich S et al. Time-dependent protection by Na⁺-H⁺ exchange inhibition in a regionally ischemic, reperfused porcine heart preparation with low residual blood flow. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 795-801.
- Gumina RJ, Mizumura T, Beier N, Schelling P, Schultz JJ, Gross GJ. A new sodium/hydrogen exchange inhibitor, EMD 85131, limits infarct size in dogs when administered before and after coronary occlusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286:175-83.
- Vanheel B, deHemptinne A, Leusen I. Acidification and intracellular sodium activity during simulated myocardial ischemia. *Am J Physiol* 1990; 259: C169-79.
- Pike MM, Kitakaze M, Marban E. ²³Na-NMR measurements of intracellular sodium in intact perfused ferret hearts during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 1990; 259 (Heart Circ Physiol 28): H 1767-73.
- Reeves JP, Bailey CA, Hale CC. Redox modification of sodium-calcium exchange activity in cardiac sarcolemmal vesicles. *J Biol Chem* 1986; 261: 4948-55.
- Corretti M, Koretsune Y, Kusuoka H, Chacko VP, Zweier JL, Marban E. Glycolytic inhibition and calcium overload as consequences of exogenously-generated free radicals in rabbit hearts. *J Clin Invest* 1991; 88: 1014-25.
- Barry WH, Brooks WW, Messer JV. Heart muscle viability following hypoxia: protective effect of acidosis. *Science* 1973; 180: 1297-8.
- Ventura-Clapier R, Veksler V. Myocardial contracture. Metabolites affect rigor tension development and stiffness. *Circ Res* 1994; 74: 920-29.

- - - -

L'homme est de glace aux vérités; il est de feu pour les mensonges

El hombre es de hielo para las verdades pero es de fuego para las mentiras

Jean de La Fontaine (1621-1695)

Fables, 1678