

Received: 2015.05.04
Accepted: 2016.10.15
Published: 2017.01.10

DOI: 10.5604/17322693.1228267

Wpływ endogennych mechanizmów kardioprotekcyjnych na uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne

Effects of endogenous cardioprotective mechanisms on ischemia-reperfusion injury

Marcin Kunecki¹, Wojciech Płazak¹, Piotr Podolec¹, Krzysztof S. Gołba²

¹Oddział Chorób Serca i Naczyń, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

²Oddział Elektrokardiologii i Niewydolności Serca, Górnośląskie Centrum Medyczne w Katowicach

Streszczenie

Choroba wieńcowa jest główną przyczyną zgonów w krajach rozwiniętych. Wczesne przywrócenie perfuzji mięśnia sercowego jest najistotniejszym sposobem ograniczenia rozległości zawału. Skuteczne leczenie reperfuzyjne przez ograniczenie martwicy mięśnia sercowego zmniejsza śmiertelność w ostrej fazie zawału.

Niestety, w okresie reperfuzji dochodzi do uszkodzenia miokardium związanego z tworzeniem wolnych rodników oraz nasileniem miejscowych procesów zapalnych, doprowadzając do martwicy kardiomiocytów, nadal żywych pod koniec niedokrwienia i poszerzając strefę zawału. Zjawisko zwane uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym (IRI – ischemia-reperfusion injury) jest odpowiedzialne nawet za 50% ostatecznego obszaru zawału.

Kardioprotekcyjny skutek przynoszą krótkotrwałe epizody niedotlenienia serca stosowane przed niedokrwieniem oraz na początku okresu reperfuzji, nazywane odpowiednio: hartowanie niedokrwieniem (IPC – preconditioning) i hartowanie reperfuzją – (POC – postconditioning). Zjawiska te poprawiają czynność serca przez mobilizację molekularnych i komórkowych mechanizmów ograniczających uszkodzenie reperfuzyjne.

Wśród mediatorów biorących udział w fizjologicznych zjawiskach ochrony przed skutkami niedokrwienia mięśnia sercowego ważną rolę odgrywa układ opioidowy. Stymulacja receptorów opioidowych uruchamia podobne do POC mechanizmy wpływające ochronnie na niedokrwiony mięsień sercowy, natomiast zastosowanie nieselektywnego antagonisty receptorów opioidowych – naloksonu, niweluje to działanie. Nie ustalono jednoznacznie, który z podgrupy receptorów opioidowych jest odpowiedzialny za ochronę mięśniówki ludzkiego serca.

Morfina może zmniejszać obciążenie wstępne lewej komory serca przez zwiększenie pojemności łożyska żylnego. Liczne dane wskazują jednak na bezpośredni ochronny wpływ szlaku opioidowego na mięsień sercowy w warunkach niedokrwienia. Opioidy działają za pośrednictwem receptorów błonowych: μ , δ , κ . Na powierzchni ludzkich kardiomiocytów przeważa typ μ i δ .

Poznanie mechanizmów kardioprotekcyjnego skutku stymulacji receptorów opioidowych może umożliwić opracowanie nowych strategii i wskazań leczniczych w przebiegu ostrego zespołu wieńcowego.

Słowa kluczowe: uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne • preconditioning • postconditioning • opioidy • tlenek azotu

Summary

Ischemic heart disease have been remarked as a leading cause of morbidity and mortality in adults. Early restoration of cardiac perfusion is necessary to restore perfusion of ischemic heart muscle. Effective revascularization reduce mortality by limiting myocardial necrosis at the acute phase of the cardiac infarction. However, reperfusion may induce a cascade of pathophysiological reactions causing the increase of the infarct area of the myocardium This phenomenon known as ischemia-reperfusion injury is responsible for up to 50% of the final infarct size. Sequences of brief episodes of nonlethal ischemia and reperfusion applied before (preconditioning – IPC) or after (postconditioning – POC) the coronary occlusion are well documented to reduce the ischemia-reperfusion injury. These phenomena improve cardiac function by mobilizing the molecular and cellular mechanisms limiting reperfusion injury. The mechanisms underlying IPC or POC are still not clarified, but strong experimental evidence suggests that opioids may be the part of the endogenous cardioprotective response to I/R injury. Stimulation of opioid receptors activates related to POC mechanisms affecting protection to the ischemic myocardium, while the use of non-selective opioid receptor antagonist - naloxone reduces this effect. There is no consensus that the subtype of opioid receptor is responsible for the protection of the human heart muscle.

Morphine may reduce cardiac preload by peripheral vasodilatation. Numerous studies show a direct cardioprotective effect of the opioid pathway in ischemic conditions. Opioids act via membrane receptors: μ , δ , κ . The predominant subtype in the human cardiac cells are μ - and δ - opioid receptors. It has been hypothesized that opioid receptor activation exerts cardioprotection in human heart muscle pathway what may give insight into the explanation of the protective mechanisms in the acute myocardial infarction.

Keywords: ischemia-reperfusion injury • preconditioning • postconditioning • opioids • nitric oxide

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1228267>

Word count: 3814
Tables: 1
Figures: 1
References: 83

Adres autora: dr n. med. Marcin Kunecki, Oddział Chorób Serca i Naczyń, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, ul. Prądnicka 80, 31-202 Kraków; e-mail: mkunecki@op.pl

Wykaz skrótów: **5-HD** – kwas 5-hydroksydekanowy, **ATP** – adenozylo trójfosforan, **CABG** – pomostowanie tętnic wieńcowych (coronary artery by-pass grafting), **cGMP** – cykliczny guanozynomonofosforan, **CK-MB** – izoenzym MB kinazy kreatynowej, **CO** – rzut serca (cardiac output), **CORM-3** – trikarbonylochlororuten, **COX-2** – cyklooksygenaza-2, **CVP** – ośrodkowe ciśnienie żyłne, **DADLE- δ** – D-Ala² D-Leu⁵-enkefalina, **DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy, **DPDPE** – D-Pen^{2,5}, **p-CI-Phe⁴** – enkefalina, **EF** – frakcja wyrzutowa (ejection fraction), **ERK** – kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym (extra cellular signal-regulated kinases), **GPCR** – receptor sprzężony z białkiem G (G protein-coupled receptor), **GSK-3 β** – kinaza 3 β syntazy glikogenu (glycogen synthase kinase 3 β), **H₂O₂** – nadtlenek wodoru, **HIF-1 α** – czynnik indukowany hipoksją 1 α (hypoxia inducible factor-1 α), **HK** – heksokinaza, **HO-1** – oksygenaza hemu-1, **HSP** – białko stresu cieplnego (heat shock protein), **ICAM-1** – międzykomórkowa molekula adhezyjna 1 (intercellular adhesion molecule 1), **IL-1** – interleukina 1, **IPC** – hartowanie przez niedotlenienie (ischemic preconditioning), **IRI** – uszkodzenie niedokrwiennie-reperfuzyjne (ischemia-reperfusion injury), **IS/AAR** – metoda barwienia mięśnia sercowego z 2,3,5-trifenyloctetrazolium, **JAK** – kinaza Janus, **JNK/SAPK** – rodzina kinaz aktywowanych mioginem (c-Jun N-terminal kinases/stress-activated protein kinase), **LNMMMA** – N-metylo-L-arginina, **LVSWI** – wskaźnik funkcji wyrzutowej lewej komory, **mKATP** – mitochondrialne kanały potasowe zależne od ATP, **mKCa** – kanały potasowe zależne od jonów wapniowych, **mPTP** – nieselektywne kanały wewnętrznej błony mitochondriom (mitochondrial permeability transition pore), **NAD** – dinukleotyd nikotynaminoadeninowy, **NADPH** – fosforan dinukleotydu nikotynamino adeninowego, **NF- κ B** – czynnik transkrypcyjny kappa B (nuclear factor kappa B),

NO – tlenek azotu, **NOS** – syntaza tlenu azotu, **O²⁻** – anionorodnik ponadtlenny, **OH[·]** – rodnik wodorotlenowy, **ONOO⁻** – nadtlenoazotyn, **PAF** – czynnik aktywujący płytki krwi (platelet activating factor), **PAR-2** – receptor aktywowany proteazami 2 (protease activated receptor-2), **PGE2** – prostaglandyna E2, **PI3K** – kinaza fosfatydiloinozytolu, **PKC** – kinaza białkowa C (protein kinase C), **PKG** – kinaza białkowa G (protein kinase G), **POC** – hartowanie reoksygenacją (postconditioning), **RISK** – szlak kinaz przeżycia (reperfusioninjury salvage kinases), **ROS** – (reactive oxygen species) reaktywne formy tlenu, **SNAP** – S-nitrozo-N-acetylopenicylamina, **SOD** – dysmutaza ponadtlenna, **SPECT** – tomografia emisyjna pojedynczych fotonów (single photon emission computed tomography), **STAT** – czynnik transkrypcyjny, transduktor sygnału i aktywator transkrypcji (signal transducers and activator of transcription), **SvO₂** – saturacja żylna, **TGFβ** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor), **TNFR-2** – receptor 2 dla TNF-α, **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor).

USZKODZENIE NIEDOKRWIENNO-REPERFUZYJNE

Do niedokrwienia mięśnia sercowego dochodzi w warunkach bezwzględnej zmniejszenia perfuzji np. w wyniku choroby wieńcowej lub względnego - w związku ze zwiększonym zapotrzebowaniem mięśniówki serca na tlen. Odwracalne zmiany ultrastruktury kardiomiocytów są obserwowane po wystąpieniu niedokrwienia. Po wczesnym przywróceniu perfuzji, upośledzona czynność mięśnia sercowego powraca do prawidłowej czynności, a stan nosi nazwę ogłuszenia serca. Niedokrwienie trwające 20-30 min przy braku krążenia obocznego, czy nawet częściowej reperfuzji nieodwracalnie uszkadza kardiomiocyty, a jego następstwem jest martwica mięśniówki serca. Rozmiar martwicy, stopień przebudowy lewej komory oraz dysfunkcja skurczowa są czynnikami wpływającymi na ostateczne rokowanie pacjenta. Wczesna reperfuzja i rewaskularyzacja są najważniejszym celem terapeutycznym pozwalającym na ograniczenie skutków zawału oraz na zmniejszenie śmiertelności w ostrej fazie zawału [62]. Jednak przywrócenie przepływu w naczyniach wieńcowych okazuje się „mieczem obosiecznym”, w chwili reperfuzji i reoksygenacji paradoksalnie dochodzi do dalszego uszkodzenia mięśnia serca. Napływ utlenowanej krwi do niedokrwionego mięśnia sercowego uruchamia wiele niekorzystnych zjawisk patofizjologicznych powodujących dalsze uszkodzenie kardiomiocytów i poszerzenie strefy martwicy [79]. Zjawisko to zwane uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym (IRI – ischemia-reperfusion injury) opisano po raz pierwszy w 1960 r. [26]. Skala niedokrwienno-reperfuzyjnego uszkodzenia mięśniówki serca zależy od czasu trwania zmniejszonej perfuzji wieńcowej, a uszkodzenie reperfuzyjne jest tym większe, im większe było uszkodzenie niedokrwienne.

Za uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne jest odpowiedzialny proces zapalny związany z aktywacją neutrofilii, nasiloną generacją wolnych rodników, nadmierne wytwarzanie tlenu azotu i jego toksycznych pochodnych, zaburzenia mikrokrążenia, prowadzące do dalszego uszkodzenia mięśnia serca.

Na podstawie badań na modelach zwierzęcych szacuje się, że uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne może odpowiadać nawet za 50% ostatecznej strefy zawału [36]. Odnalezienie sposobów ograniczenia skutków uszkodze-

nia niedokrwienno-reperfuzyjnego możliwych do zastosowania w praktyce klinicznej staje się głównym celem strategii poprawiającej rokowanie pacjenta po zawałe serca.

HARTOWANIE NIEDOKRWIENIEM I REPERFUZJĄ

Koncepcja redukcji rozległości uszkodzenia uprzednio niedokrwionego mięśnia sercowego przez modyfikację tempa napływu krwi opisano na modelach zwierzęcych w latach sześćdziesiątych ub.w. Stosowane naprzemiennie krótkotrwałe epizody niedotlenienia i reoksygenacji przed okresem głównego niedotlenienia (preconditioning, IPC), w czasie niedotlenienia (perconditioning) lub na początku reoksygenacji (postconditioning, POC), uruchamiają endogenne mechanizmy ochrony mięśnia sercowego przed uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym.

W przełomowym badaniu Murry i wsp. udowodniono skuteczność zastosowanego krótkotrwałego epizodu niedotlenienia serca przed okresem 40-minutowego niedotlenienia, obserwując istotną redukcję obszaru zawału [40]. Kardioprotekcyjny efekt hartowania przed niedotlenieniem potwierdzono w licznych badaniach na modelach zwierzęcych zarówno w warunkach *in vitro* i *in vivo*, jak również w badaniach z wykorzystaniem ludzkiej tkanki mięśnia sercowego [53]. W przypadku IPC wyróżnia się dwie fazy ochrony mięśniówki serca: faza wczesna rozpoczynająca się razem z bodźcem hartującym, a czas jej trwania wynosi ok. 1-2 godzin. Faza ta wynika z uruchomienia endogennych szlaków wczesnej protekcji kardiomiocytów. Natomiast faza późna rozpoczyna się po 24 godzinach od bodźca hartującego i trwa ok. 3 doby. Związana jest z ekspresją białek zaangażowanych w działanie ochronne (dysmutaza ponadtlenna, indukowana syntaza tlenu azotu, cyklooksygenaza 2). Wczesna faza IPC ogranicza rozmiar martwicy, ale nie wpływa na stan ogłuszenia czy poprawę kurczliwości, natomiast późna faza zarówno ogranicza apoptozę komórek, jak i usprawnia funkcję skurczową lewej komory [5,7].

Pierwsze doniesienia o kardioprotekcyjnym działaniu powtarzanych krótkotrwałych epizodów niedokrwienia w chwili reperfuzji, na modelu zwierzęcym opublikowano w 1992 r. [67]. Początkowo stosowany w badaniach

protokół z pięciominutowymi okresami niedokrwienia i reperfuzji, nie przynosiły korzystnych wyników. Natomiast udowodniono na modelu zwierzęcym skuteczność modyfikowanej reperfuzji przez cyklicznie stosowane epizody 30-sekundowego niedokrwienia i reperfuzji, po przedłużonej okluzji tętnicy wieńcowej. Obserwowano redukcję rozmiaru martwicy w porównaniu z grupą kontrolną o 44% oraz zmniejszenie częstości arytmii reperfuzyjnych [41].

PODSTAWY FIZJOLOGICZNE HARTOWANIA NIEDOTLENIENIEM I HARTOWANIA REOKSYGENACJĄ

Zarówno w wyniku hartowania przez niedotlenienie jak i hartowania reoksygenacją stwierdzono podobny wpływ na metabolizm komórek mięśnia sercowego. Zjawiska pośrednio wpływają na zmniejszenie stresu oksydacyjnego, hamowanie aktywacji neutrofilów, opóźnienie normalizacji pH i do ograniczenia peroksydacji lipidów. Istotą skuteczności IPC lub POC wydaje się kwasica. Spadek pH jest spowodowany przez akumulację kwasu mlekowego tworzącego się w wyniku przemian beztlenowych. W badaniu na modelu zwierzęcym uzyskano zbliżony wynik do POC po zastosowaniu krótkotrwałych infuzji o odczynie pH – 6,9. Działanie ochronne było znoszone przez wprowadzenie roztworu zasadowego (pH – 7,7). Wysłunęto hipotezę, że kwasica może hamować otwarcie kanałów mPTP przez aktywację szlaku RISK, składającego się z następujących elementów:

- Receptor GPCR,
- szlak RISK (PI3K, Akt, Erk1/2, Mek ½),
- eNOS i NO,
- PKG,
- PKCε,
- mKATP,
- mPTP [4,8].

POC uruchamia także alternatywny szlak SAFE (survivor activating factor enhancement), powodując wzrost uwalniania czynnika martwicy nowotworów – TNF-α, we wczesnym etapie reperfuzji. TNF-α oddziałując z receptorem TNFR-2, za pośrednictwem kinazy Janus (JAK) aktywuje czynnik transkrypcyjny STAT, wpływając na ekspresję autakoidów zaangażowanych w późny efekt kardioprotekcyjny [45].

FAZA PÓŹNA EFEKTU KARDIOPROTEKCYJNEGO IPC. SYNTeza BIAŁEK ENZYMATYCZNYCH

Jak już wspomniano, działanie kardioprotekcyjne po IPC ma charakter dwufazowy. Faza późna pojawia się po 12-24 h i trwa do 72 h po zadziałaniu bodźca. Za wczesną fazę odpowiada transdukcja sygnału od powierzchni komórki do mitochondriów, późna faza jest związana z przekazaniem sygnału do jądra komórkowego.

Pod wpływem szlaku RISK, za pośrednictwem kinazy JAK, aktywacji ulegają czynniki transkrypcyjne STAT 1/3, NF-κB, aktywator protein-1 (AP-1), HIF-1α (hypo-

xi-inducible factor-1α), odpowiadające za transkrypcję „genów późnej protekcji” i uruchomienie syntezy protein, takich jak iNOS, mitochondrialna dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), białka stresu cieplnego (HSP – heatshock protein), reduktaza aldozy, oksygenaza hemu-1 (HO-1) i COX-2 [22]. iNOS aktywowana w odpowiedzi na fazę późną IPC, przez wpływ na mKATP, hamuje otwarcie mPTP. SOD ogranicza stres oksydacyjny przez przekształcenie anionorodnika ponadtlenkowego do H₂O₂ i tlenu molekularnego. Reduktaza aldozy metabolizuje cytotoksyczne pochodne peroksydacji lipidów, a oksygenaza hemu-1 jest antyoksydantem. COX-2 generuje prostaglandyny z kwasu arachidonowego w tym PGE2 i 6-keto-PGF1α, biorące udział w ograniczeniu rozległości martwicy, podczas gdy zastosowanie inhibitorów COX-2 znosi to działanie [25]. POC prawdopodobnie uruchamia podobne późne mechanizmy. Ponadto, łączne zastosowanie IPC i POC zwiększa poziom COX-2 i jego produktu PGE-2 [47].

HARTOWANIE NIEDOTLENIENIEM I REOKSYGENACJĄ A USZKODZENIE NIEDOKRWIENNO-REPERFUZYJNE

Większość badań poddających analizie skuteczność IPC opiera się na ocenie stopnia uszkodzenia miokardium, zaburzenia wewnątrzkomórkowych szlaków metabolicznych, poziomu markerów martwicy mięśnia sercowego, takich jak troponina I i T, kinaza kreatynowa, czy czynności mitochondriów jako wskaźnika żywotności miokardium. Doświadczenia z wykorzystaniem fragmentów ludzkiej mięśniówki prawego przedsionka serca pobranych podczas zabiegu CABG pozwalają na bezpośrednią ocenę skutków niedotlenienia miokardium w postaci upośledzenia czynności skurczowej i rozkurczowej. W modelu niedotlenienia mięśnia sercowego *in vitro* stwierdziliśmy, że IPC wpływa ochronnie na mięśniówkę serca przez poprawę parametrów zarówno czynności skurczowej jak i rozkurczowej [29]. Poprawę parametrów funkcji skurczowej mięśnia serca obserwowano również w analizach klinicznych. Nody i wsp. stwierdzili lepsze parametry kurczliwości globalnej i odcinkowej lewej komory serca u pacjentów, u których przed rozwinięciem zawału serca występowały objawy stenokardii, w porównaniu z grupą chorych, u których zawał serca był pierwszym objawem choroby wieńcowej [42]. Jednak IPC ma ograniczone zastosowanie kliniczne w ostrych zespołach wieńcowych. Istnieje możliwość zastosowania IPC podczas procedur kardiochirurgicznych, a zwłaszcza podczas zabiegów CABG lub przeszczepu serca. Korzystne skutki w postaci większej oporności na uszkodzenie I/R podczas zabiegu pomostowania naczyń wieńcowych (CABG) opisali już w 1993 r. Yellon i wsp. Działanie ochronne uzyskano stosując dwukrotnie 2-minutowe epizody niedokrwienia i reperfuzji przed głównym okresem niedokrwienia. Natomiast w bioptatach mięśnia sercowego poddanego IPC stwierdzano wyższe stężenie ATP jako markera procesów kardioprotekcyjnych [78].

Podobny skutek ochronny przynosi zastosowanie krótkotrwałych okluzji tętnicy pozasercowej, zmniejszając

wrażliwość na uszkodzenie I/R. Zjawisko nosi nazwę hartowania na odległość (remote preconditioning). Mechanizmy działania nie są poznane, prawdopodobnie są uruchamiane podobne szlaki przekazywania wewnątrzkomórkowego, podobnie jak w IPC. Według pierwszej z hipotez, za efekt ochronny odpowiada uwalnianie endogennych substancji z zakończeń nerwowych (adenozyna, opioidy, bradykinina), według drugiej hipotezy – humoralnej, aktywne substancje są uwalniane do krwiobiegu. Trzecia – teoria supresji stanu zapalnego głosi, iż niedokrwiony narząd generuje substancje ograniczające stan zapalny chroniąc serce. Niewykluczone jednak, że efekt ochronny wynika z wszystkich trzech mechanizmów.

Podobnie jak w przypadku IPC, POC korzystnie wpływa zarówno na funkcję skurczową jak i rozkurczową w modelu uszkodzenia I/R z wykorzystaniem ludzkiej tkanki w warunkach *in vitro* [29]. Efekt POC może być osiągnięty w procedurach inwazyjnych przez powtarzane cykle wypełnienia i deflacji balonu podczas pierwotnej angioplastyki wieńcowej.

W 2005 r. podjęto pierwszą próbę zastosowania klinicznego modyfikowanej reperfuzji u pacjentów poddanych przezskórnej angioplastyce naczyń wieńcowych. Obserwowano efekt kardioprotekcyjny w postaci redukcji maksymalnych wartości markerów martwicy miokardium (36% redukcja maksymalnej aktywności CK-MB), czasu regresji uniesienia odcinka ST w elektrokardiogramie [58] oraz istotną poprawę czynności skurczowej w rocznej obserwacji podczas oceny funkcji mięśnia sercowego z użyciem metod obrazowania SPECT [63,66]. Korzystny wpływ POC potwierdzono w badaniach klinicznych u pacjentów z zawałem serca STEMI poddanych pierwotnej angioplastyce wieńcowej. W grupie pacjentów, u których zastosowano protokół POC (czterokrotna 1-minutowa inflacja i deflacja balonu) obserwowano istotnie rzadsze występowanie złośliwych arytmii do 48 godzin po procedurze [2]. Efekt POC dotyczy także redukcji uszkodzenia niedokrwionego innych organów (np. nerki czy mózg), a mechanizm ochronny najpewniej jest zbliżony do tego obserwowanego w miokardium [12,24].

PORÓWNANIE EFEKTU OCHRONNEGO IPC I POC

Uzyskane wyniki potwierdzają tezę o istnieniu skutecznego IPC i POC, co umożliwia porównanie siły działania obydwu strategii ochronnych. Analizując czynność beleczek mięśniowych ludzkiego serca *in vitro* stwierdziliśmy, że IPC w większym stopniu poprawia czynność skurczową niż POC bez różnicy we wpływie na czynność rozkurczową [18,57]. Dane literaturowe wskazują na zbliżoną siłę działania ochronnego IPC i POC. Yellon i wsp. w badaniu na modelu serca mysiego stwierdził podobny stopień redukcji strefy martwicy pod wpływem obu mechanizmów ochronnych [7]. Natomiast Zhao i wsp. w badaniu na modelu serca szczurzego po 30-minutowym niedotlenieniu, zaobserwował większą

redukcję strefy martwicy pod wpływem IPC w porównaniu z POC. Natomiast po 60-minutowym zamknięciu tętnicy przedniej zstępującej u psów nie stwierdził różnicy w skuteczności IPC i POC ocenianej pod względem redukcji rozległości martwicy, uwalniania CK, obrzęku tkanki sercowej [60]. W badaniu Matsamury i wsp. grupa pacjentów z nawracającymi dolegliwościami stenokardialnymi poprzedzającymi ostre niedokrwienie serca w wywiadzie stanowiła model IPC. W porównaniu z modelem POC (3 cykle 30-sekundowe okluzji naczyń wieńcowych z następczą reinfuzją) nie zaobserwowano różnic w stężeniu CK i CK-MB między tymi grupami. Wyniki w grupie POC i IPC były istotnie lepsze w porównaniu z pacjentami bez objawów poprzedzających i bez POC [36]. Natomiast jednoczesne zastosowanie IPC i POC nie przynosiło efektu addycyjnego [54]. Różne rezultaty poszczególnych badań mogą wynikać z różnic w modelach doświadczalnych oraz różnego czasu trwania niedokrwienia.

Mimo obiecujących wyników tych badań, rozczarowały próby zastosowania IPC lub POC podczas zabiegów CABG. W wielu randomizowanych, niedawno opublikowanych badaniach klinicznych, nie potwierdzono korzystnego efektu tych strategii. Wyniki prac osłabiły początkowy entuzjazm dla tej metody kardioprotekcji [18,21].

UDZIAŁ UKŁADU OPIOIDOWEGO

Opioidy odgrywają istotną rolę w czynności kardiomiocytów zarówno w warunkach prawidłowych jak i niedokrwienia. Morfina jest lekiem znajdującym powszechne zastosowanie w ostrym zespole wieńcowym w celu zwalczania bólu opornego na działanie nitratów. Ponadto przez zwiększenie pojemności łożyska żylnego zmniejsza obciążenie wstępne lewej komory. Opioidy są stosowane również w okresie okołoperacyjnym CABG. Wiele wyników badań wskazuje, że wywierają również bezpośredni wpływ ochronny na kardiomiocyty w warunkach niedokrwienia, a skutki stymulacji receptorów opioidowych przypominają działanie IPC lub POC [23]. Może to wynikać ze wspólnych mechanizmów wewnątrzkomórkowych.

PODSTAWY FIZJOLOGICZNE WPŁYWU STYMULACJI RECEPTORÓW OPIOIDOWYCH

Endogenne opioidy: endorfiny, dynorfiny, enkefaliny oddziałują odpowiednio z receptorami μ , κ , δ . Istnieją różnice gatunkowe w dystrybucji receptorów opioidowych w mięśniówce serca: np. u szczurów jedynie receptory δ i κ są obecne w dorosłych miocytach komór. Natomiast obecność receptorów μ potwierdzono metodą RT-PCR w komórkach jelita cienkiego i grubego, nadnerczy, nerek, płuc, śledziony, jąder, jajników czy macicy [71]. W tkance ludzkiej w badaniach z wykorzystaniem RT-PCR stwierdzono obecność w mięśniu przedsionków i komór wszystkich trzech typów receptorów opioidowych z najmniejszą gęstością receptorów κ . Nie można jednak wykluczyć neuronalnego pochodzenia recepto-

rów κ [33]. W innym badaniu z wykorzystaniem ludzkiej tkanki mięśnia serca, stwierdzono obecność mRNA jedynie receptorów κ i δ w niewielkiej ilości: 6,363 kopii/ μg – receptor κ , 3,810 kopii/ μg – receptor δ , przy nieobecności mRNA białek receptora μ . Dla porównania ekspresja mRNA receptorów κ i δ w tkance mózgowej wynosi odpowiednio 1×10^5 to 1×10^7 kopii/ μg .

Receptory opioidowe należą do grupy receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR). Do grupy tej zalicza się receptory adenozyliny i bradykininy, a białko G jest istotnym elementem wspólnym szlaków tych autakoidów.

Aktywacja układu receptorowego uruchamia kaskadę szlaku kinaz przeżycia – RISK, która jest wspólnym elementem również dla reakcji fizjologicznych zachodzących pod wpływem IPC lub POC [24,34].

Do mechanizmów zaangażowanych w efekt kardioprotekcyjny układu opioidowego zalicza się również szlak fosfatydyloinozitolowy. Istotą jego mechanizmu jest hamowanie syntazy glikogenu GSK3 β za pośrednictwem kinazy białkowej B, co ostatecznie hamuje apoptozę przez ograniczenie uwalniania cytochromu C z mitochondrium [81]. Aktywacja GPCR przez swoisty ligand stymuluje fosfolipazę C, rozkładającą fosfolipidy błonowe do diacyloglicerolu i trifosforanu inozytolu. Powstały diacyloglicerol aktywuje w cytoplazmie kinazę białkową C (PKC), która przenika do mitochondriów we wczesnym etapie reperfuzji. Izoforma PKC δ jest związana z patologicznymi procesami np. nasilenie generacji ROS, czynników proapoptotycznych, dysfunkcji mitochondriów. Izoforma PKC ϵ przez hamowanie otwierania mPTP wpływa kardioprotekcyjnie. Zastosowanie selektywnego inhibitora PKC ϵ niweluje korzystne działanie ligandów GPCR, natomiast zahamowanie PKC δ jest korzystne [36].

Pod wpływem aktywacji szlaku opioidowego, analogicznie jak w przypadku IPC i POC, uruchomione zostają również mechanizmy późnej protekcji, związane z syntezą białek iNOS, SOD, COX-2 [45].

RECEPTORY OPIOIDOWE

Przedmiotem licznych dyskusji pozostaje rozstrzygnięcie, który typ receptorów opioidowych jest w przeważającym stopniu odpowiedzialny za działanie ochronne. Odpowiedź na pytanie jest utrudniona ponieważ w warunkach *in vivo* selektywność opioidów jest cechą zmienną i zależną od stężenia [18,28].

W tabeli 1 przedstawiono wyniki badań dotyczących wpływu modulatorów receptorów opioidowych z wykorzystaniem różnych modeli badawczych.

EFEKT ZALEŻNY OD RECEPTORÓW Δ

Liczne badania wskazują stymulację receptorów δ jako główną w uzyskaniu skutku kardioprotekcyjnego. Na modelach zwierzęcych zastosowanie egzogenego ago-

nisty receptorów δ działało ochronnie zarówno przy podaniu przed okresem niedotlenienia jak również po tym okresie [51]. Wielu badaczy dowodzi, że uzyskany wynik po zastosowaniu agonisty receptorów δ jest podobny do efektu IPC [68]. Ochronne działanie morfiny – nieselektywnego agonisty receptorów opioidowych ulegał ograniczeniu po zastosowaniu antagonisty receptorów δ – naltrindolu [40]. Podobnie w badaniu Schultza i wsp. zastosowanie antagonistów receptorów μ i κ nie wpływało na wynik finalny, natomiast blokada receptorów δ znosiła działanie IPC, co sugerowało dominujący wpływ protekcyjny receptorów δ [55]. W badaniu Bella i wsp. z wykorzystaniem ludzkiej mięśniówki serca stwierdzono korzystny wpływ agonisty receptorów δ po podaniu przed okresem niedotlenienia, czym wynik przypominał hartowanie przez niedotlenienie [3]. Chen i wsp. udowadniają w badaniu w wykorzystaniem szczurzego modelu, że za działanie kardioprotekcyjne są odpowiedzialne receptory κ , a nie δ [6]. Autorzy innego badania sugerują, że za skutek ograniczenia rozległości zawału mięśnia sercowego oraz wpływ antyarytmiczny również odpowiada stymulacja receptorów κ a nie δ [49].

EFEKT ZALEŻNY OD RECEPTORÓW κ

Rola receptorów κ w mięśniu sercowym jest jeszcze nie do końca zbadana. Niektóre doświadczenia dowodzą, że egzogenna aktywacja receptorów κ ogranicza strefę zawału mięśnia serca [46,74]. W innym badaniu zastosowanie agonisty receptorów κ – U50,488, redukowało rozległość zawału w mechanizmie zależnym od PI3K oraz mitochondrialnych kanałów potasowych (mKATP). Jednak działanie ochronne obserwowano jedynie przed reperfuzją, podanie agonisty po reperfuzji nie przynosiło korzyści. Ponadto, stymulacja receptorów κ może przynieść efekt antyarytmiczny, czego nie stwierdzono po zastosowaniu agonisty receptora δ [44]. Podobnie jak w badaniach z agonistami receptorów δ , również zdania badaczy dotyczące działania agonistów receptorów κ są podzielone. Istnieją prace udowadniające wpływ proarytmiczny po zastosowaniu κ -agonisty [49]. Nie ulega wątpliwości, że dalsze badania są niezbędne by wyjaśnić oddziaływanie stymulacji receptorów κ .

EFEKT ZALEŻNY OD RECEPTORÓW μ

Jak wspomniano wyżej, trwają dyskusje dotyczące obecności receptorów μ w tkance mięśnia serca. Ważnym dowodem za ich udziałem jest to, że remifentanyl, silny agonista receptorów μ , wpływa na mięsień serca zbliżony do IPC [79]. Ponadto, Gross i wsp. wykazali u szczurów wpływ ochronny syntetycznej enkefalin: Eribis 94 o silnym powinowactwie do receptorów δ , a słabszym do μ . Działanie ochronne jednak uległo zniesieniu po zastosowaniu antagonisty receptorów μ , a nie receptorów κ czy δ [15]. Powstała hipoteza, że za to mogą być odpowiedzialne receptory μ ośrodkowego układu nerwowego, podtrzymywana przez to, że działanie ochronne było niwelowane po zastosowaniu chlorowodorku naloksonu przenikającego przez barierę krew-mozg. Natomiast

Tabela 1. Przegląd wybranych doświadczeń dotyczących oceny efektu kardioprotekcyjnego opioidów na podstawie badań z wykorzystaniem następujących modeli doświadczalnych: model zwierzęcy *in vitro* i *in vivo*, tkanka ludzka w badaniach *in vitro*, badania kliniczne

Receptor	Czynnik	Model badawczy	Pierwotny punkt końcowy	Wynik	Autorzy
OR	Morfina	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Strefa zawału	↑	[64]
	Morfina	Szczur, izolowana tkanka serca	Strefa zawału	↑	[48]
	Morfina, i.t.	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Strefa zawału	↑	[73]
	Morfina, <i>intracerebralis</i>	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Strefa zawału	↑	[83]
	Morfina	Ludzkie belecзки mięśniowe po niedotlenieniu	Kurczliwość	↑	[29]
	Nalokson, POC	Angioplastyka balonowa	Ból wieńcowy, normalizacja ST	↑	[64]
	Morfina	CABG	EF, stan zapalny	↑	[39]
	Metadon, opioidy, opiaty	Badanie autopsyjne	Zaawansowanie choroby wieńcowej	↑	[35]
	Morfina	Królik, tkanka serca <i>in situ</i>	Strefa zawału, II-10	↑	[33]
	δ - OR	TAN-67	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Strefa zawału	↑
DADLE		Szczur, izolowana tkanka serca	Strefa zawału, arytmogeneza	↑	[70]
DADLE		Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Strefa zawału, śmiertelność	↑	[65]
DADLE		Ludzkie belecзки mięśniowe przed niedotlenieniem	Kurczliwość	↑	[3]
DADLE		Ludzkie belecзки mięśniowe po niedotlenieniu	Kurczliwość	↓	[29]
DPDPE		Szczur, izolowana tkanka serca	Apoptoza	↔	[56]
κ-OR	Spiradolina	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Arytmogeneza	↑	[78]
	U50,488H	Szczur, izolowana tkanka serca	Strefa zawału, arytmogeneza	↑	[70]
	Morfina	Szczur, izolowana tkanka serca	Strefa zawału	↑	[6]
μ-OR	U50,488H	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Arytmogeneza	↓	[72]
	U50,488H	Mysz, izolowana tkanka serca	Kurczliwość	↑	[50]
	DAMGO	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Strefa zawału	↑	[55]
	DAGO	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Arytmogeneza	↓	[72]
	Fentanyl	Mysz, izolowana tkanka serca	Strefa zawału	↑	[28]
μ-OR, ośrodkowe	Remifentanyl	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Strefa zawału	↑	[82]
	Remifentanyl, sufentanyl	Ludzkie belecзки mięśniowe	Kurczliwość	↑	[31]
	Remifentanyl	Ludzkie belecзки mięśniowe	Kurczliwość	↔	[10]
	Remifentanyl, fentanyl	Ludzkie belecзки mięśniowe	Kurczliwość	↔	[19]
	Fentanyl	CABG	cTnI	↔	[1]
	Remifentanyl	CABG	CO, SvO2, LVSvI, CVP	↓	[51]
	Remifentanyl	CABG	cTnI, wskaźnik sercowy	↑	[76]
μ-OR, ośrodkowe	Eribis 94	Szczur, tkanka serca <i>in situ</i>	Kurczliwość	↑	[15]

↑ - efekt pozytywny, ↓ - efekt negatywny, ↔ - wpływ neutralny

zastosowanie metionianu naloksonu, nieprzenikającego przez barierę krew-mózg, nie blokowało działania protekcyjnego [72]. Ochronny wpływ stymulacji ośrodkowych receptorów μ może się odbywać za pośrednictwem nerwowych szlaków autonomicznych np. przez aktywację szlaku parasympatycznego i/lub supresję szlaków sympatycznych [72].

INTERAKCJE Z INNYMI SUBSTANCJAMI

Utrudnieniem przy formułowaniu ostatecznych wniosków jest to, że selektywność opioidów zastosowanych w tych badaniach względem receptorów jest cechą zmienną i zależną od stężenia leku. Ponadto, agonistów receptorów opioidowych mogą również oddziaływać na kardiomyocyty drogą pozareceptorową, np. przez modulację kanałów jonowych, przy czym efekt ten nie jest blokowany przez nalokson [13,33]. Przyczyną rozbieżnych wyników może być również interakcja między receptorami opioidowymi a innymi receptorami lub szlakami przekazywania wewnątrzkomórkowego. Oprócz opioidów opisano wpływ wielu substancji endogennych i egzogennych, zbliżony do działania opioidów. Właściwość taką opisano dla bradykininy [69], inhibitorów fosfodiesterazy [7], agonistów receptorów muskarynowych [77], anestetyków wziewnych [75], cyklosporyny A [58], erytropoetyny [38], siarkowodoru [30] czy donorów tlenu azotu [18,61]. Istnieją dowody, że nawet uwalniająca tlenek węgla cząsteczka trikarbonylochlorotenu (CORM-3) wpływa kardioprotekcyjnie w mechanizmie zbliżonym do IPC i POC [59]. Działanie tych substancji może wynikać z oddziaływania z rodziną receptorów związanych z białkiem G uruchamiając szlak wewnątrzkomórkowy, jak w przypadku opioidów za pośrednictwem kinazy białkowej C (PKC) [9]. Odkryto, że receptory sprzężone z białkami G, zatem także receptory opioidowe, mają właściwość dimeryzacji (tworzenia heterodimerów), co skutkuje nowymi właściwościami dotyczącymi wiązania ligandów, modyfikacją przekazywania sygnału. Dimeryzacja wpływa na zmianę właściwości farmakologicznych receptorów. Wszystkie receptory opioidowe mogą tworzyć ze sobą heterodimery. Stosując przeciwciała selektywne dla μ - δ heterodimerów wykazano, że przewlekłe zażywanie morfiny stymuluje tworzenie się μ - δ heteromerów w ośrodkach odpowiedzialnych za percepcję bólu w mózgu [17], co nie wyklucza, że podobne zjawiska zachodzą również w innych narządach np. w mięśniu sercowym. Ponadto, receptory opioidowe również mogą formować dimery z innymi receptorami GPCR np. z receptorami adrenergicznymi czy receptorami dla adenozyliny czy somatostatyny [25]. Na przykład, w doświadczeniu z wykorzystaniem tkanki szczura, obserwowano, że korzystne działanie t-fentanyle ulegało zahamowaniu po zastosowaniu nie tylko naloksonu, ale również antagonistów receptorów dla adenozyliny-A1 [37]. W innym doświadczeniu obserwowano, że zastosowanie agonisty receptorów κ odwracało wpływ noradrenaliny na kurczliwość, lecz jedynie w warunkach niedotlenienia [56,70].

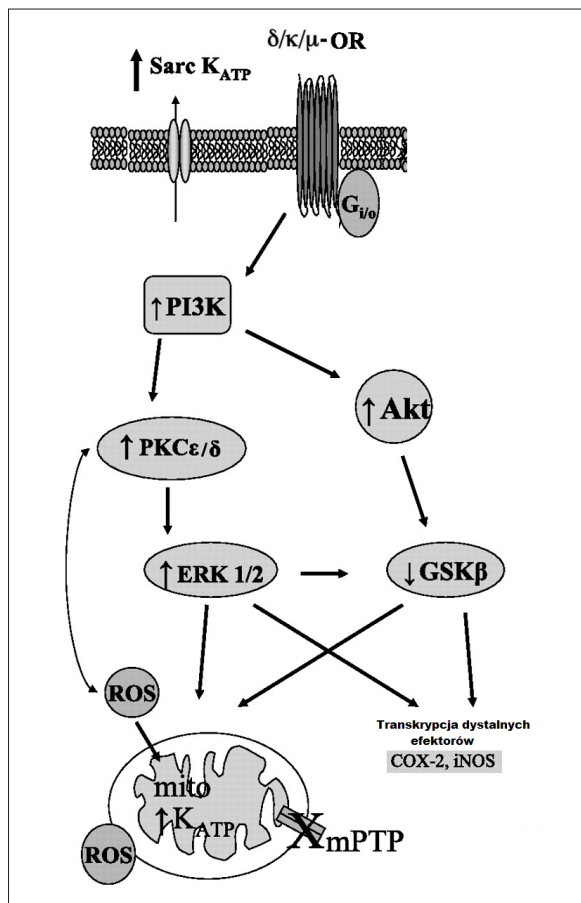
Ważne zjawisko tworzą interakcje między opioidami a cytokinami pochodzącymi z układu nerwowego lub immunologicznego. Stwierdzono wpływ interleukiny 2 (IL-2) na stężenie wewnątrzkomórkowego wapnia oraz na kurczliwość mięśniówki serca przez związek ze stymulacją receptorów κ , a kardioprotekcyjne działanie IL-2 jest blokowane przez blokery κ , podczas gdy blokada δ nie przynosi takiego efektu [20]. Podsumowując, skutek stymulacji receptorów opioidowych i związany z tym kardioprotekcyjny efekt wynika z mechanizmów bardziej złożonych niż oddziaływanie na jeden typ receptorów. Dalsza analiza związku z szlakami wewnątrzkomórkowymi związanymi z IPC lub POC może doprowadzić do interesujących wniosków.

EFEKT KARDIOPROTEKCYJNY OPIOIDÓW U LUDZI

Większość badań dotyczących działania ochronnego opioidów przeprowadzono z wykorzystaniem modelu zwierzęcego. Rośnie również liczba doświadczeń z wykorzystaniem tkanki ludzkiej.

DOŚWIADCZENIA

W badaniach z wykorzystaniem tkanki ludzkiej pobranej podczas zabiegów CABG obserwowano ochronne działanie agonisty receptorów δ – DADLE, przy zastosowaniu przed okresem głównego niedotlenienia, tak jak w przypadku IPC [51]. Zastosowanie DADLE w chwili reoksygenacji, analogicznie do POC, istotnie pogarsza czynność skurczową i rozkurczową mięśniówki serca. W doświadczeniach wykonanych w naszej Pracowni stwierdzono, że morfina poprawia czynność skurczową i rozkurczową wcześniej niedotlenionego ludzkiego mięśnia sercowego w wysokich stężeniach (10-4M). Natomiast podanie morfiny w stężeniu 10-4M po zastosowaniu IPC lub POC nie wywoływało nasilenia efektu kardioprotekcyjnego w porównaniu do IPC lub POC. Wynik wskazuje na brak efektu hiperaddycyjnego prawdopodobnie w wyniku wysycenia możliwości mechanizmów ochronnych wywołanych IPC lub POC. Zastosowanie nieselektywnego agonisty receptorów opioidowych – naloksonu w protokołach IPC lub POC niweluje korzystny wpływ IPC i POC na funkcję mięśnia sercowego. Wynik wskazuje na udział endogennego układu opioidowego w mechanizmie IPC i POC. DADLE podane w chwili reoksygenacji, niweluje korzystne działanie IPC i POC, co potwierdza uszkadzający wpływ tego związku po zastosowaniu w czasie reoksygenacji [29]. Podobnie, zastosowanie remifentanylu (o przewodzie oddziaływania na receptory μ) lub sufentanylu (silny wpływ na receptory δ) chroniło czynność skurczową beleczki mięśniowej po okresie niedotlenienia [31]. Takiego efektu nie stwierdzono dla fentanyle [10,19]. Długotrwałe przyjmowanie opioidów może wpływać na redukcję incydentów niedokrwienych serca oraz ograniczać rozległość strefy zawału. Do takich wniosków doszli autorzy analizy post mortem u osób przewlekłe stosujących opioidy stwierdzając ograniczenie występowania lub zaawansowania choroby niedokrwiennej serca u tych osób [35].



Ryc. 1. Schemat kardiooprotekcyjnego oddziaływania opioidów. Stymulacja receptorów opioidowych pociąga za sobą aktywację szlaku RISK, którego elementami są PI3K, Akt, PKC, ERK, GSK3-β, z udziałem reaktywnych form tlenu (ROS), błonowych (SarcKATP) i mitochondrialnych kanałów potasowych ATP-zależnych (mito-KATP) prowadząc ostatecznie do hamowania otwarcia mitochondrialnych nieselektywnych kanałów wewnętrznej błony mitochondrium (mPTP). Późnym skutkiem stymulacji receptorów opioidowych, podobnie jak w fazie późnej hartowania przez niedotlenienie, jest indukcja transkrypcji indukowalnej syntazy tlenu azotu (iNOS), cyklooksygenazy 2 (COX-2)

DOŚWIADCZENIA *IN VIVO*

W warunkach *in vivo* istnieje możliwość zastosowania protokołu POC przez sekwencję naprzemiennej inflacji i deflacji balonu. U pacjentów poddanych takiemu protokołowi stwierdzono krótszy czas normalizacji odcinka ST, natomiast tego nie obserwowano po uprzednim zastosowaniu naloksonu [64]. Natomiast w badaniu PROFIT, włączenie fentanylu u pacjentów poddanych angioplastyce balonowej nie wpływało na poziom markerów martwicy mięśnia sercowego [1].

U pacjentów poddanych CABG, u których stosowano 40 mg morfiny zaobserwowano poprawę funkcji skurczowej w okołoperacyjnej echokardiografii. Według autorów badania, wysokie dawki morfiny powodują silniejszą aktywację receptorów δ lub μ3 [44]. W innym badaniu,

remifentanyl, lek selektywnie oddziałujący z receptorami μ, redukował wynik troponiny I i CK-MB w okresie okołoperacyjnym [76]. Po zastosowaniu remifentanylu stwierdzono również skrócenie czasu do ekstubacji [73]. Powyższe badania wskazują, że krótkoterminowe zastosowanie remifentanylu w wysokich dawkach podczas zabiegów CABG mogą w większym stopniu przynieść efekt kardioprotekcyjny niż fentanyl. Może mieć to związek z krótszym czasem półtrwania leku i silniejszą stymulacją receptorów opioidowych. Jednak obserwowano również pogorszenie parametrów hemodynamicznych (wskaźnik funkcji wyrzutowej lewej komory – LVSWI, rzut serca – CO, saturacja żylna – SvO2, ośrodkowe ciśnienie żylnie – CVP) [83]. W przypadku innych opioidów np. tramadolu, nie obserwowano korzystnego wpływu podczas CABG [69,80]. Podsumowując, wyniki badań zarówno *in vitro* jak i *in vivo* z wykorzystaniem tkanki ludzkiej potwierdzają działanie ochronne opioidów.

MOŻLIWOŚCI I OGRANICZENIA ZASTOSOWANIA KLINICZNEGO EFEKTU KARDIOPROTEKCYJNEGO OPIOIDÓW

W naszym badaniu kardioprotekcyjne działanie uzyskano po zastosowaniu wysokich stężeń morfiny (10⁻⁴M) [29]. Podobnie, w badaniu na szczurach stwierdzono działanie ochronne również po zastosowaniu morfiny podaną dożylnie w dużych dawkach: 300 μg/kg m.c. [82], a u królików efektywna dawka wynosiła 3 mg/kg m.c. [50]. Co interesujące, łączne podanie morfiny *i.v.* z helem drogą wziewną u królików, pozwala obniżyć efektywną progową dawkę morfiny do 100 μg/kg m.c. Gazy szlachetne, przez aktywację elementów szlaku kinaz RISK, prowadzą do zamknięcia mPTP w okresie reperfuzji, a efekt ten jest blokowany przez nalokson [43]. Dowodzi to występowania wspólnego i zarazem synergicznego mechanizmu działania morfiny i gazów szlachetnych. Podobny wynik osiągnięto po zastosowaniu anestetyków wziewnych, takich jak izofluran czy sewofluran [43]. Dalsze badania na temat kardioprotekcyjnego wpływu leków wziewnych mogą dostarczyć interesujących wniosków.

Zastosowanie morfiny w wysokich stężeniach u pacjentów z zawałem mięśnia sercowego powoduje wzrost ryzyka powikłań, takich jak depresja ośrodka oddechowego. Przedmiotem wielu badań były próby zastosowania opioidów oddziałujących z receptorami obwodowymi. Udowodniono, że receptory ośrodkowe również biorą udział w procesach kardioprotekcyjnych. Po podaniu morfiny do komór mózgu obserwowano redukcję rozmiaru martwicy w modelu zawału serca u szczurów. Ponadto stwierdzono zbliżone działanie kardioprotekcyjne po podaniu dooponowym morfiny w dawkach 0,01-1 μg/kg m.c. do osiągniętego po zastosowaniu morfiny dożylnie w dużych dawkach – 300 μg/kg m.c. Zjawisko ma związek najpewniej z oddziaływaniem na receptory ośrodkowe, jak również z dłuższym okresem półtrwania w płynie mózgowo-rdzeniowym, z powolnym przenikaniem opioidów przez barierę krew-mózg. Nadzieję budzą badania dotyczące zastosowania

opiodów w infuzji podpajęczynówkowej. Podanie leku tą drogą umożliwia zastosowanie mniejszej dawki przy osiągnięciu podobnego wyniku, co ogranicza istotnie ryzyko powikłań [32].

PODSUMOWANIE

Ograniczenie skutków uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego pozostaje ważnym, lecz niezrealizowanym celem terapeutycznym. Hartowanie

niedotlenieniem i hartowanie reoksygenacją wydają się obiecującą strategią zapobiegającą uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnemu oraz służącemu poprawie parametrów klinicznych. Liczne badania nad endogennymi mechanizmami kardioprotekcyjnymi, jak i skutkiem działania opiodów, budzą nadzieje na możliwość ich zastosowania w praktyce klinicznej w przypadku przezskórnych interwencji wieńcowych, pomostowania naczyń wieńcowych, transplantacji czy rewaskularyzacji naczyń obwodowych.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abdel-Wahab M., Khattab A.A., Liska B.: Diazepam versus fentanyl for premedication during percutaneous coronary intervention: results from the Myocardial Protection by Fentanyl during Coronary Intervention (PROFIT) Trial. *J. Interv. Cardiol.*, 2008; 21: 232-238
- [2] Araszkievicz A., Grygier M., Pyda M., Rajewska J., Lesiak M., Grajek S.: Postconditioning attenuates early ventricular arrhythmias in patients with high-risk ST-segment elevation myocardial infarction. *J. Cardiol.*, 2015; 65: 459-465
- [3] Bell S., Sack M., Patel A., Opie L., Yellon D.M.: Delta opioid receptor stimulation mimics ischemic preconditioning in human heart muscle. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000; 36: 2296-2302
- [4] Beresewicz A.: Endogenne mechanizmy kardioprotekcyjne - co to takiego i jak to działa? *Kardiologia Polska*, 2011; 69 (supl. III): 59-66
- [5] Bolli R., Li Q.H., Tang X.L., Guo Y., Xuan Y.T., Rokosh G., Dawn B.: The late phase of preconditioning and its natural clinical application - gene therapy. *Heart Fail. Rev.*, 2007; 12: 189-199
- [6] Chen Z., Li T., Zhang B.: Morphine post-conditioning protects against reperfusion injury in the isolated rat hearts. *J. Surg. Res.*, 2008; 145: 287-294
- [7] Das A., Xi L., Kukreja R.C.: Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 12944-12955
- [8] Deja M.A., Gołba K.S., Malinowski M., Widenka K., Biernat J., Szurlej D., Woś S.: Diazoxide provides maximal K_{ATP} channels independent protection if present throughout hypoxia. *Ann. Thorac. Surg.*, 2006; 81:1408-1416
- [9] Downey J.M., Davis A.M., Cohen M.V.: Signaling pathways in ischemic preconditioning. *Heart Fail. Rev.*, 2007; 12: 181-188
- [10] Duman A., Saide Sahin A., Esra Atalik K., Öztin Ögün C., Basri Ulusoy H., Durgut K., Ökesli S.: The in vitro effects of remifentanyl and fentanyl on isolated human right atria and saphenous veins. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.*, 2003; 17: 465-469
- [11] Ela C., Barg J., Vogel Z., Hasin Y., Eilam Y.: Distinct components of morphine effects on cardiac myocytes are mediated by the κ and δ opioid receptors. *J. Moll. Cell. Cardiol.*, 1997; 29: 711-720
- [12] Eldaif S.M., Deneve J.A., Wang N.P., Jiang R., Mosunjac M., Mutrie C.J., Guyton R.A., Zhao Z.Q., Vinten-Johansen J.: Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury by postconditioning involves adenosine receptor and protein kinase C activation. *Transpl. Int.*, 2010; 23: 217-226
- [13] Frassdorf J., Weber N.C., Obal D., Toma O., Müllenheim J., Kojda G., Preckel B., Schlack W.: Morphine induces late cardioprotection in rat hearts in vivo: the involvement of opioid receptors and nuclear transcription factor κ B. *Anesth. Analg.*, 2005; 101: 934-941
- [14] Gross E.R., Hsu A.K., Gross G.J.: Opioid induced cardioprotection occurs via glycogen synthase kinase β inhibition during reperfusion in intact rat hearts. *Circ. Res.*, 2004; 94: 960-966
- [15] Gross G.J., Hsu A., Nithipatikom K., Bobrova I., Bissessar E.: Eribis peptide 94 reduces infarct size in rat hearts via activation of centrally located μ opioid receptors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2012; 59: 194-197
- [16] Gullapalli S., Ramarao P.: Role of L-type Ca^{2+} channels in peritussis toxin induced antagonism of U50,488H analgesia and hypothermia. *Brain. Res.*, 2002; 946: 191-197
- [17] Gupta A., Mulder J., Gomes I., Rozenfeld R., Bushlin I., Ong E., Lim M., Mailet E., Junek M., Cahill C.M., Harkany T., Devi L.A.: Increased abundance of opioid receptor heteromers after chronic morphine administration. *Sci. Signal.*, 2010; 3: ra54
- [18] Hahn J.Y., Yu C.W., Park H.S., Song Y.B., Kim E.K., Lee H.J., Bae J.W., Chung W.Y., Choi S.H., Choi J.H., Bae J.H., An K.J., Park J.S., Oh J.H., Kim S.W., Hwang J.Y., Ryu J.K., Lim D.S., Gwon H.C.: Long-term effects of ischemic postconditioning on clinical outcomes: 1-year follow-up of the POST randomized trial. *Am. Heart J.*, 2015; 169: 639-646
- [19] Hanouz J.L., Yvon A., Guesne G., Eustratiades C., Babatasi G., Rouet R., Ducouret P., Khayat A., Bricard H., Gérard J.L.: The in vitro effects of remifentanyl, sufentanyl, fentanyl, and alfentanil on isolated human right atria. *Anesth. Analg.*, 2001; 93: 543-549
- [20] Hausenloy D.J., Lecour S., Yellon D.M.: Reperfusion injury salvage kinase and survivor activating factor enhancement pro-survival signaling pathways in ischemic postconditioning: two sides of the same coin. *Antioxid. Redox Signal.*, 2011; 14: 893-907
- [21] Hausenloy D.J., Candilio L., Evans R., Ariti C., Jenkins D.P., Kolvekar S., Knight R., Kunst G., Laing C., Nicholas J., Pepper J., Robertson S., Xenou M., Clayton T., Yellon D.M.; ERICCA Trial Investigators: Remote ischemic preconditioning and outcomes of cardiac surgery. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 373: 1408-1417
- [22] Hausenloy D.J., Yellon D.M.: The second window of preconditioning (SWOP). Where are we now? *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 2010; 24: 235-254
- [23] Headrick J.P., See Hoe L.E., Du Toit E.F., Peart J.N.: Opioid receptors and cardioprotection - 'opioidergic conditioning' of the heart. *Br. J. Pharm.*, 2015; 172: 2026-2050
- [24] Huhn R., Heinen A., Weber N., Schlack W., Preckel B., Hollmann M.: Ischaemic and morphine-induced post-conditioning: impact of mK_{Ca} channels. *Br. J. Anaesth.*, 2010; 105: 589-595
- [25] Jancso G., Cserepes B., Gasz B., Benko L., Borsiczky B., Ferenc A., Kürthy M., Rác B., Lantos J., Gál J., Arató E., Sínay L., Wéber G., Róth E.: Expression and protective role of heme oxygenase-1 in delayed myocardial preconditioning. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2007; 1095: 251-261
- [26] Jennings R.B., Sommers H.M., Smyth G.A., Flack H.A., Linn H.:

Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of coronary artery in the dog. *Arch. Pathol.*, 1960; 70: 68-78

[27] Jiang X., Shi E., Nakajima Y., Sato S., Ohno K., Yue H.: Cyclooxygenase-1 mediates the final stage of morphine-induced delayed cardioprotection in concert with cyclooxygenase-2. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2005; 45: 1707-1715

[28] Kato R., Ross S., Foex P.: Fentanyl protects the heart against ischemic injury via opioid receptors, adenosine A₁ receptors and K_{ATP} channel linked mechanisms in rats. *Br. J. Anaesth.*, 2000; 84: 204-214

[29] Kunecki M., Roleder T., Biernat J., Płazak W., Podolec P., Deja M.A., Gołba K.S.: Ochronne działanie układu opioidowego na czynność niedotlenionego ludzkiego mięśnia sercowego w warunkach in vitro. *Folia Med. Cracov*, 2015; 55, suppl. 1: 48-49

[30] Lefer D.J.: A new gaseous signaling molecule emerges: cardioprotective role of hydrogen sulfide. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 17907-17908

[31] Lemoine S., Zhu L., Massetti M., Gerard J.L., Hanouz J.L.: Continuous administration of remifentanyl and sufentanil induces cardioprotection in human myocardium, in vitro. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 2011; 55: 758-764

[32] Lim S.Y., Davidson S.M., Hausenloy D.J., Yellon D.M.: Preconditioning and postconditioning: the essential role of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc. Res.*, 2007; 75: 530-535

[33] Lu X.H., Ran K., Xiao Y.Y., Yang D.L., Chang Y.T., Duan K.M., Ou Y.W.: Protective effects of morphine preconditioning in delayed phase on myocardial ischemia-reperfusion injury in rabbits. *Genet. Mol. Res.*, 2015; 14: 8947-8954

[34] Lucchinetti E., da Silva R., Pasch T., Schaub M.C., Zaugg M.: Anaesthetic preconditioning but not postconditioning prevents early activation of the deleterious cardiac remodeling programme: evidence of opposing genomic responses in cardioprotection by pre- and postconditioning. *Br. J. Anaesth.*, 2005; 95: 140-152

[35] Marmor M., Penn A., Widmer K., Levin R.I., Maslansky R.: Coronary artery disease and opioid use. *Am. J. Cardiol.*, 2004; 93: 1295-1297

[36] Matsumura K., Jeremy R.W., Schaper J., Becker L.C.: Progression of myocardial necrosis during reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation*, 1998; 97: 795-804

[37] Meybohm P., Bein B., Brosteanu O., Cremer J., Gruenewald M., Stoppe C., Coburn M., Schaelte G., Böning A., Niemann B., Roesner J., Kletzin F., Strouhal U., Reyher C., Laufenberg-Feldmann R., et al.: RIPHeart Study Collaborators: A multicenter trial of remote ischemic preconditioning for heart surgery. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 373: 1397-1407

[38] Mudalagiri N.R., Mocanu M.M., Di Salvo C., Kolvekar S., Hayward M., Yap J., Keogh B., Yellon D.M.: Erythropoietin protects the human myocardium against hypoxia/reoxygenation injury via phosphatidylinositol-3 kinase and ERK1/2 activation. *Br. J. Pharmacol.*, 2008; 153: 50-56

[39] Murphy G.S., Szokol J.W., Marymont J.H., Avram M.J., Vender J.S.: Opioids and cardioprotection: the impact of morphine and fentanyl on recovery of ventricular function after cardiopulmonary bypass. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.*, 2006; 20: 493-502

[40] Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A.: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986; 74: 1124-1136

[41] Na H.S., Kim Y.I., Yoon Y.W., Han H.C., Nahm S.H., Hong S.K.: Ventricular premature beat-driven intermittent restoration of coronary blood flow reduces the incidence of reperfusion-induced ventricular fibrillation in a cat model of regional ischaemia. *Am. Heart J.*, 1996; 132: 78-83

[42] Noda T., Minatoguchi S., Fujii K., Hori M., Ito T., Kanmatsuse K., Matsuzaki M., Miura T., Nonogi H., Tada M., Tanaka M., Fujiwara H.:

Evidence for the delayed effect in human ischemic preconditioning: prospective multicenter study for preconditioning in acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1999; 34: 1966-1974

[43] Obal D., Dettwiler S., Favocchia C., Scharbatke H., Preckel B., Schlack W.: The influence of mitochondrial KATP-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo. *Anest. Analg.*, 2005; 101: 1242-1260

[44] Okubo S., Tanabe Y., Takeda K., Kitayama M., Kanemitsu S., Kukreja R.C., Takekoshi N.: Ischemic preconditioning and morphine attenuate myocardial apoptosis and infarction after ischemia-reperfusion in rabbits: role of delta-opioid receptor. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2004; 287: H1786-H1791

[45] Ovize M., Baxter G., Di Lisa F., Ferdinandy P., Garcia-Dorado D., Hausenloy D.J., Heusch G., Vinten-Johansen J., Yellon D.M., Schulz R.; Working Group of Cellular Biology of Heart of European Society of Cardiology: Postconditioning and protection from reperfusion injury: where do we stand? *Cardiovasc. Res.*, 2010; 87: 406-423

[46] Pagel P., Krolkowski J.G., Amour J., Warltier D., Weihrauch D.: Morphine reduces the threshold of helium preconditioning against myocardial infarction: the role of opioid receptors in rabbits. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.*, 2009; 23: 619-624

[47] Patel H.H., Hsu A.K., Gross G.J.: COX-2 and iNOS in opioid induced delayed cardioprotection in the intact rat. *Life Sci.*, 2004; 75: 129-140

[48] Peart J.N., Gross E.R., Gross G.J.: Effect of exogenous κ-opioid receptor activation in rat model of myocardial infarction. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2004; 43: 410-415

[49] Peart J.N., Gross E.R., Reichelt M.E., Hsu A., Headrick J.P., Gross G.J.: Activation of κ-opioid receptors at reperfusion affords cardioprotection in both rat and mouse hearts. *Basic Res. Cardiol.*, 2008; 103: 454-463

[50] Peart J.N., Gross G.J.: Exogenous activation of δ- and κ-opioid receptors affords cardioprotection in isolated murine heart. *Basic Res. Cardiol.*, 2004; 99: 29-37

[51] Peart J.N., Patel H.H., Gross G.J.: Δ-opioid receptor activation mimics ischemic preconditioning in the canine heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2003; 42: 78-81

[52] Pleym H., Stenseth R., Wiseth R., Karevold A., Dale O.: Supplemental remifentanyl during coronary artery bypass grafting is followed by a transient postoperative cardiac depression. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 2004; 48: 1155-1162

[53] Przyklenk K., Bauer B., Ovize M., Kloner R., Whittaker P.: Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*, 1993; 87: 893-899

[54] Roleder T., Gołba K.S., Kunecki M., Malinowski M., Biernat J., Smolka G., Deja M.A.: The co-application of hypoxic preconditioning and postconditioning abolishes their own protective effect on systolic function in human myocardium. *Cardiol. J.*, 2013; 20: 472-477

[55] Schultz J.J., Hsu A.K., Nagase H., Gross G.J.: TAN-67, a δ₁-opioid receptor agonist, reduces infarct size via activation of Gi/o proteins and K_{ATP} channels. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 1998; 274: H909-H914

[56] Shan J., Yu X.C., Fung M.L., Wong T.M.: Attenuated "cross talk" between κ-opioid receptors and β-adrenoceptors in the heart of chronically hypoxic rats. *Pflugers Arch.*, 2002; 444: 126-132

[57] Smolka G., Gołba K.S., Malinowski M., Deja M., Biernat J., Reszka B., Dalecka A.M., Woś S.: Nowe oblicze modyfikowanej reperfuzyj: postconditioning. *Kardiol. Pol.*, 2005; 63; 4 (suppl. 2): 450-456

[58] Staat P., Rioufol G., Piot C., Cottin Y., Cung T.T., L'Huillier I., Aupetit J.F., Bonnefoy E., Finet G., André-Fouët X., Ovize M.: Postconditioning the human heart. *Circulation*, 2005; 112: 2143-2148

[59] Stein A., Bolli R., Dawn D., Sanganalmath S., Zhu Y., Wang O.L.,

Guo Y., Motterlini R., Xuan Y.T.: Carbon monoxide induces a late preconditioning-mimetic cardioprotective and antiapoptotic milieu in the myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2012; 52: 228-236

[60] Sun H.Y., Wang N.P., Halkos M., Kerendi F., Kin H., Guyton R.A., Vinten-Johansen J., Zhao Z.Q.: Postconditioning attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of jnk and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Apoptosis*, 2006; 11: 1583-1593

[61] Takano H., Qiu Y., Guo Y., French B.A., Bolli R.: Nitric oxide donors induce late preconditioning against myocardial stunning and infarction in conscious rabbits via an antioxidant-sensitive mechanism. *Circ. Res.*, 1998; 83: 73-84

[62] The GUSTO investigators: An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, 1993; 329: 673-682

[63] Thibault H., Piot C., Staat P., Bontemps L., Sportouch C., Rioufol G., Cung T.T., Bonnefoy E., Angoulvant D., Aupetit J.F., Finet G., André-Fouët X., Macia J.C., Raczka F., Rossi R., Itti R., Kirkorian G., Derumeaux G., Ovize M.: Long-term benefit of postconditioning. *Circulation*, 2008; 117: 1037-1044

[64] Tomai F., Crea F., Gaspardone A., Versaci F., Ghini A.S., Ferri C., Desideri G., Chiariello L., Goffrè P.A.: Effects of naloxone on myocardial ischemic preconditioning in humans. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1999; 33: 1863-1869

[65] Valtchanova-Matchouganska A., Ojewole J.A.: Mechanisms of opioid delta (δ) and kappa (κ) receptors' cardioprotection in ischaemic preconditioning in a rat model of myocardial infarction. *Cardiovasc J. S. Afr.*, 2003; 14: 73-80

[66] Villemagne P., Dannals R.F., Ravert H.T., Frost J.: PET imaging of human cardiac opioid receptors. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2002; 29: 1385-1388

[67] Vinten-Johansen J.: Postconditioning: a mechanical maneuver that triggers biological and molecular cardioprotective responses to reperfusion. *Heart Fail. Rev.*, 2007; 12: 235-244

[68] Wagner R., Piler P., Bedanova H., Adamek P., Grodecka L., Freiberg T.: Myocardial injury is decreased by late remote ischaemic preconditioning and aggravated by tramadol in patients undergoing cardiac surgery: a randomised controlled trial. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.*, 2010; 11: 758-762

[69] Wall T.M., Sheehy R., Hartman J.C.: Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1994; 270: 681-689

[70] Wang G., Wu S., Pei J., Yu X., Wong T.: κ - but not δ -opioid receptors mediate effects of ischemic preconditioning on both infarct and arrhythmia in rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2001; 280: H384-H391

[71] Wittert G., Hope P., Pyle D.: Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996; 218: 877-881

[72] Wong G.T., Jiang L.L., Irwin M.G.: Activation of central opioid receptors induces cardioprotection against ischemia-reperfusion injury. *Anesth. Analg.*, 2010; 111: 24-28

[73] Wong G.T., Huang Z., Ji S., Irwin M.G.: Remifentanyl reduces the release of biochemical markers of myocardial damage after coronary artery bypass surgery: a randomized trial. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.*, 2010; 24: 790-796

[74] Wong T.M., Lee A.Y., Tai K.K.: Effects of drugs interacting with opioid receptors during normal perfusion or ischemia and reperfusion in the isolated rat heart - an attempt to identify cardiac opioid receptor subtype(s) involved in arrhythmogenesis. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1990; 22: 1167-1175

[75] Xi J., Tian W., Zhang L., Jin Y., Xu Z.: Morphine prevents the mitochondrial permeability transition pore opening through NO/cGMP/PKG/Zn²⁺/GSK-3 β signal pathway in cardiomyocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2010; 298: H601-H607

[76] Xu Z.D., Jin M., He W.X., Xia S.X., Zhao Y.F., He B., Cao D.X., Peng S.L., Li J., Cao M.H.: Remifentanyl preconditioning lowers cardiac troponin I levels in patients undergoing off-pump coronary artery bypass graft surgery. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Bao*, 2009; 29: 1554-1556

[77] Yao Z., Gross G.J.: Acetylcholine mimics ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in dogs. *Am. J. Physiol.*, 1993; 264: H2221-H2225

[78] Yellon D.M., Alkhulaifi A.M., Pugsley W.B.: Preconditioning the human myocardium. *Lancet*, 1993; 342: 276-277

[79] Yellon D.M., Hausenloy D.J.: Myocardial reperfusion injury. *N. Engl. J. Med.*, 2007; 357: 1121-1135

[80] Yu X.C., Li H.Y., Wang H.X., Wong T.M.: U50,488H inhibits effects of norepinephrine in rat cardiomyocytes-cross-talk between κ -opioid and β -adrenergic receptors. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1998; 30: 405-413

[81] Zatta A.J., Kin H., Lee G., Wang N., Jiang R., Lust R., Reeves J.G., Mykytenko J., Guyton R.A., Zhao Z.Q., Vinten-Johansen J.: Infarct-sparing effect of myocardial postconditioning is dependent on protein kinase C signalling. *Cardiovasc. Res.*, 2006; 70: 315-324

[82] Zhang Y., Chen Z.W., Irwin M.G., Wong T.M.: Remifentanyl mimics cardioprotective effect of ischemic preconditioning via protein kinase C activation in open chest of rats. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2005; 26: 546-550

[83] Zhang Y., Irwin M.G., Lu Y., Mei B., Zuo Y.M., Chen Z.W., Wong T.M.: Intracerebroventricular administration of morphine confers remote cardioprotection - role of opioid receptors and calmodulin. *Eur. J. Pharm.*, 2011; 656: 74-80

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.