

Panu Profesorowi Lechowi Wojtczakowi z okazji pięćdziesięciolecia pracy naukowej związanej z bioenergetyką komórki oraz z okazji siedemdziesiątej rocznicy urodzin

RYSZARD T. SMOLEŃSKI

Katedra i Zakład Biochemii,

Akademia Medyczna w Gdańsku

Dębinki 1, 80-211 Gdańsk

PRZEMIANY ENERGETYCZNE I METABOLIZM NUKLEOTYDÓW W SERCU I ICH ZNACZENIE W KARDIOLOGII I KARDIOCHIRURGII

WSTĘP

Procesy prowadzące do przekształcenia energii związków chemicznych w pracę mechaniczną komórek kurczliwych, aktywny transport metabolitów i jonów w komórce oraz procesy biosyntez stanowią obecnie centralne zagadnienia współczesnej biochemii. Choć podstawowe dane, dotyczące energetyki komórki, takie jak: wyjaśnienie roli ATP jako uniwersalnego przenośnika energii, zbadanie głównych dróg powstawania i wykorzystania wysokoenergetycznych wiązań fosforanowych oraz poznanie struktury i funkcji mitochondriów zostały opracowane już kilkadziesiąt lat temu, nadal jednak wiele ważnych pytań pozostaje bez odpowiedzi. Nie jest do końca jasne, w jaki sposób szybkość mitochondrialnej syntezy ATP w komórce dopasowuje się do aktualnego zapotrzebowania. Poznawane są coraz to nowe szczegóły dotyczące transportu metabolitów i jonów przez błony mitochondrialne i wzajemne relacje pomiędzy metabolitami energetycznymi zużywanymi w czasie syntezy ATP (WOJTCZAK i współaut. 1995, NAŁĘCZ i współaut. 1992).

Badania dotyczące bioenergetyki komórki mają szczególne znaczenie w kardiologii i kardiologii ze względu na rolę przemian energetycznych w podtrzymaniu pracy skurczowej serca. Wyniki tych badań pozwalają nie tylko

zrozumieć przyczyny i mechanizmy patologiczne wielu chorób serca lecz również dają podstawy do rozwoju nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Rozwój kardiologii i inwazyjnej kardiologii pozwala na coraz dokładniejsze poznawanie mechanizmów fizjologicznych i patologicznych w sercu człowieka, co z kolei staje się inspiracją do badań podstawowych. Izolacja i hodowla komórek serca ludzkiego, spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) *in vivo*, tomografia emisji pozytonowej (PET) to niektóre z zaawansowanych technik obecnie dostępnych w badaniach metabolizmu energetycznego w sercu człowieka. Utrzymanie równowagi energetycznej komórek serca jest brane pod uwagę przy doborze i dawkowaniu leków inotropowych. Coraz bardziej skuteczna i kompleksowa redukcja zużycia ATP w sercu w czasie niedokrwienia towarzyszącego zabiegom kardiologicznym jest uwzględniana przy opracowywaniu nowych płynów kardioplegicznych. Obecne zmiany w sposobach leczenia w kardiologii i kardiologii w pełni uwzględniają zjawiska, takie jak „hibernacja” czy „hartowanie” serca. Istniejące dzisiaj możliwości dzięki badaniom podstawowym nadal nie są jednak w pełni wykorzystane w praktyce klinicznej.

METODYKA BADAŃ METABOLIZMU ENERGETYCZNEGO SERCA U CZŁOWIEKA

Badanie metabolizmu serca ludzkiego jest dyscypliną bardzo szczególną, gdyż materiał badawczy pochodzi najczęściej od chorych leczonych z powodu chorób serca. Jest więc rzeczą oczywistą, że problemy naukowe zawsze muszą ustępować dobru pacjenta i skuteczności jego leczenia. Nakłada to szereg ograniczeń, które nie byłyby do zaakceptowania w laboratorium eksperymentalnym a wnioski często muszą być opracowywane na podstawie wyników częściowych, uzyskiwanych w warunkach nieoptymalnych. W ostatnich latach jednak możliwości badań metabolizmu serca człowieka uległy znacznemu poszerzeniu w związku z rozwojem inwazyjnej kardiologii i kardiochirurgii oraz nieinwazyjnych metod analizy metabolizmu tkanek. Przy okazji procedur, takich jak: przezskórna angioplastyka wieńcowa czy transplantacje serca można uzyskać próbki krwi wieńcowej, tętniczej i żylniej do analiz biochemicznych. Serce usunięte w czasie transplantacji może być przedmiotem bardzo wielostronnej analizy włączając w to badania dotyczące metabolizmu energetycznego. Sprawą kluczową jest szybkie pobranie i zamrożenie próbek. Możliwość nieinwazyjnego pomiaru stężeń metabolitów przemian energetycznych w sercu człowieka pojawiła się dzięki rozwojowi spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR).

POMIAR STĘŻEŃ METABOLITÓW W MATERIALE BIOPSYJNYM KOMÓR SERCA

Jedną z najczęściej stosowanych metod oceny metabolizmu energetycznego serca jest pomiar stężeń metabolitów w materiale biopsyjnym pobranym z komór serca. Pobranie materiału biopsyjnego jest możliwe w czasie operacji kardiologicznych po otwarciu klatki piersiowej. Pełnościenne biopsje można wówczas pobrać najczęściej z koniuszka serca. Możliwe jest również pobranie skrawka serca w czasie cewnikowania w trakcie inwazyjnych zabiegów kardiologicznych. Uzyskany tą drogą materiał pochodzi z wsierdzia i warstwy podwsierdziowej mięśniówki serca. Pobrany wycinek musi być natychmiast zamrożony w ciekłym azocie, aby zapobiec zmianom stężeń metabolitów występujących w sercu. Wśród związków uczestniczących w przemianach energetycznych najczęściej jest oznaczane stężenie ATP w biopsji. Możliwe jest również oznaczanie całego szeregu innych metabolitów, takich jak: fosfokreatyna, glikogen, metabolity glikolizy, czy metabolity

cyklu Krebsa. Zasadniczą zaletą biopsji jest możliwość bezpośredniej analizy stężeń wielu metabolitów w sercu dowolnymi, najbardziej zaawansowanymi metodami analitycznymi, obecnie dostępnymi. Zasadnicza wada tej metody, pomimo iż ilości materiału są znikome, wynoszące około kilku miligramów, polega na jej inwazyjnym charakterze. Poważnym ograniczeniem jest również fakt, iż jest analizowana jedynie próbka pochodząca z jednego obszaru serca i wyniki analiz nie są w pełni miarodajne dla stanu metabolicznego serca jako całości (VAN der VUSSE i VAN der VEEN 1988).

OZNACZANIE STĘŻEŃ METABOLITÓW I AKTYWNOŚCI ENZYMATYCZNYCH W PRZEDSIONKACH SERCA

Fragmenty przedsionków są usuwane rutynowo w trakcie zabiegów kardiologicznych. Pobieranie prób z nich do badań biochemicznych nie jest więc dodatkowym obciążeniem dla pacjenta. Można je poddawać temu samemu typowi analiz, który znajduje zastosowanie do materiału biopsyjnego pochodzącego z komór serca. Ze względu na możliwość pobrania większej ilości tkanki, łatwiejsze jest dokonywanie oznaczeń aktywności enzymatycznych. Możliwa jest również izolacja enzymów i innych białek. Usunięte fragmenty przedsionków są również wygodnym materiałem do izolacji kardiomiocytów czy komórek endotelium (SKŁADANOWSKI i współaut. 1996).

POMIAR TĘTNICZO-ŻYLNEJ RÓŻNICY STĘŻEŃ METABOLITÓW W SERCU

Bardzo ważną metodą analizy metabolizmu energetycznego w sercu jest pomiar tętniczo-żylniej różnicy stężeń metabolitów. Porównanie stężeń metabolitów we krwi tętniczej dopływającej do serca i wypływającej z serca krwi żylniej, pobieranej najczęściej z zatoki wieńcowej, pozwala na dokonanie oceny, jakie metabolity i w jakich ilościach są pobierane a jakie uwalniane z serca. Zaletą tej metody jest mniejsze niż w przypadku biopsji obciążenie pacjenta. Pozwala również na ocenę stanu metabolicznego serca jako całości a nie tylko jego określonego obszaru. Wśród metabolitów, których stężenia są w tych warunkach najczęściej analizowane należy wymienić: stężenie mleczanu i pirogronianu, czyli produktów ciągu glikolitycznego w warunkach niedokrwienia a jednocześnie ważnych substratów energetycznych serca, stężenie glu-

kozy czy kwasów tłuszczowych, a także stężenia katabolitów ATP, takich jak inozyna, adenozyina czy hipoksantyna (SMOLENSKI i współaut. 1993, SMOLENSKI i współaut. 1994).

BADANIA METABOLICZNE HODOWANYCH KOMÓREK SERCA LUDZKIEGO

Wprowadzenie na szeroką skalę transplantacji serca ludzkiego jako metody leczenia dało możliwość zastosowania wielu zaawansowanych technik badawczych. Za pomocą techniki trawienia istoty międzykomórkowej mieszaniną enzymów proteolitycznych (głównie kolagenaz) można uzyskać z usuniętych serc ludzkich zawiesinę żywych komórek określonego typu (kardiomiocytów lub endotelium), które można następnie poddawać dalszej hodowli i wielostronnej analizie. Można, na przykład, badać zmiany stężeń metabolitów przemian energetycznych oraz kurczliwości przy zmieniających się ściśle kontrolowanych warunkach środowiska, takich jak zawartość tlenu, substratów energetycznych, obecność inhibitorów metabolizmu czy leków inotropowych. Jest to więc doskonały model do testowania nowych leków. Opracowano techniki, które pozwalają na analizę stężeń metabolitów, takich jak ATP nawet w pojedynczej komórce (SMOLENSKI i współaut. 1992, Li i współaut. 1992).

PERFUZJA EX VIVO SERCA CZŁOWIEKA

Transplantacje serca umożliwiają zastosowanie techniki badawczej polegającej na perfuzji serca ludzkiego poza organizmem człowieka. Chore serce po usunięciu jest podłączane do specjalnej aparatury, z której pod stałym ciśnieniem lub ze stałą prędkością jest podawany wysycony tlenem płyn zawierający związki mineralne w stężeniach występujących we krwi. Zastosowanie tej metody do serca człowieka jest połączone ze sporymi trudnościami techniczno-organizacyjnymi. Powszechnie stosowana aparatura do perfuzji serca szczura czy królika musiała zostać w tym celu powiększona kilkakrotnie. Eksperymenty te pozwoliły na uzyskanie rozstrzygających danych dotyczących, na przykład, aktywności oksydazy ksantynowej w sercu człowieka, potwierdzając ostatecznie brak aktywności tego enzymu u człowieka (DE JONG i współaut. 1990).

BADANIA CZYNNOŚCIOWO-METABOLICZNE SERCA Z ZASTOSOWANIEM TOMOGRAFII EMISJI POZYTRONOWEJ

Technika ta pozwala na ilościową ocenę wychwytu odpowiednio znakowanych metabo-

litów w poszczególnych obszarach serca. W połączeniu ze znajomością szlaków metabolicznych podawanych związków metodą tą można stwierdzić zaburzenia przepływu wieńcowego na podstawie zaburzeń metabolicznych. Przy podaniu innych znakowanych związków jest możliwa ocena wymiany substratów energetycznych czy tlenu pomiędzy światłem naczyń a komórkami kurczliwymi. Dzięki tej technice jest możliwe badanie nie tylko fizjologicznych reakcji, lecz również stanów patologicznych i ich reakcji na leki (BUXTON i SCHLEBERT 1991, DEUSSEN i współaut. 1992).

NIEINWAZYJNY POMIAR STĘŻEŃ WYSOKOENERGETYCZNYCH FOSFORANÓW Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO (NMR)

Technika spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego pozwala na ocenę stężeń metabolitów w żywych tkankach w sposób nieinwazyjny, ponadto niemal natychmiastowy, nie wymagający żadnych dodatkowych procedur. Wśród metabolitów widocznych w spektroskopii NMR najczęściej są oznaczane związki zawierające izotop ^{31}P , takie jak ATP, fosfokreatyna czy nieorganiczny fosforan. Oznaczenia związków zawierających izotop ^{13}C nabierają również coraz większego znaczenia. Poza stężeniami metabolitów jest możliwe uzyskanie szeregu innych danych, takich jak wartość pH wewnątrzkomórkowego, czy stężenie wolnego jonu magnezowego. Możliwa jest również ocena szybkości niektórych reakcji enzymatycznych *in vivo*, takich jak reakcja kinazy kreatynowej czy szybkości syntezy i rozpadu ATP.

W badaniach metabolizmu energetycznego serca człowieka zastosowano NMR do oceny zmian stężeń metabolitów fosforanowych w czasie prób wysiłkowych u chorych z chorobą wieńcową, u których stwierdzono zmiany stężenia fosfokreatyny. Badano również stężenia metabolitów fosforanowych u chorych z przeto- stem i niewydolnością mięśnia sercowego. Zmiany profilu metabolitów fosforanowych w sercu stwierdzono również za pomocą NMR u chorych z odrzutem przeszczepionego serca. Podejmowane są próby zastosowania spektroskopii NMR w diagnostyce zawału serca. Rozdzielczość map metabolicznych serca, możliwych obecnie do uzyskania, które pozwoliłyby na identyfikację obszarów niedokrwionych ciągle jest jednak do tego celu niewystarczająca. Wadą tej metody są również ogromne koszty aparatury, szczególnie tej możliwej do zastosowania w badaniach u ludzi (RADDA 1992, SCHAEFER 1993).

METABOLIZM ENERGETYCZNY SERCA W STANACH PATOLOGICZNYCH

ZMIANY METABOLICZNE W SERCU W CZASIE
NIEDOKRWIENIA

Metabolizm energetyczny w komórkach kurczliwych serca jest niezwykle intensywny. Jest to zrozumiałe, jeżeli przypomnimy fakt, iż narząd ten musi przepompować kilka do kilkunastu litrów krwi na minutę pod ciśnieniem około 100 mm Hg. Jak wspomniano, bezpośrednim źródłem energii dla tego procesu jest ATP. Zawartość ATP w sercu człowieka wynosi około 5 mmol/kg (SMOLEŃSKI i współaut. 1991, SMOLEŃSKI 1990, SMOLEŃSKI i YACOB 1995). Szybkość zużycia ATP wynosi natomiast 20–100 mmol/kg/min (HAWORTH i współaut. 1983), co oznacza, że ATP znajdujące się w sercu wystarcza jedynie na kilka do kilkunastu sekund pracy tego narządu. Serce funkcjonuje jednak dzięki bardzo wydajnemu, przebiegającemu równolegle ze zużyciem odtwarzaniu wysokoenergetycznych wiązań fosforanowych ATP. Z dwóch możliwych dróg powstawania ATP, glikolitycznej — niezależnej od tlenu, przebiegającej w cytoplazmie — i oksydacyjnej zachodzącej w mitochondriach, jedynie ta druga droga jest w stanie sprostać tak wysokiemu zapotrzebowaniu. W warunkach normalnych synteza wysokoenergetycznych wiązań fosforanowych zachodzi w ponad 90% na drodze mitochondrialnej fosforylacji oksydacyjnej a jedynie pozostała niewielka część powstaje na drodze fosforylacji substratowych ciągu glikolitycznego. Wśród procesów zużywających ATP w pracującym mięśniu sercowym dominuje przede wszystkim praca mechaniczna (około 80% całkowitego zużycia). Enzymem bezpośrednio zaangażowanym w tym procesie jest ATPaza miozynowa (NEELY i MORGAN 1975). Pozostałe procesy to głównie praca pomp jonowych, związana z aktywnościami Na^+ - K^+ ATPazy i Ca^{++} -ATPazy. Niewielkie ilości ATP są zużywane przez procesy biosyntezy. Konsekwencją tak dużej intensywności przemian energetycznych jest konieczność stałego dostarczania tlenu do komórek serca, który dociera wraz z krążeniem wieńcowym. Dlatego też tak dramatyczne i natychmiastowe są konsekwencje przerwania krążenia wieńcowego, co obserwujemy, gdy dokonana się w sercu zawał. Stan niedokrwienia mięśnia sercowego może mieć bardzo wiele postaci. Może występować jako stan przewlekły lub ostry, może być kontrolowany (w czasie zabiegów kardiochirurgicznych) lub nie kontro-

lowany, częściowy (ograniczenie przepływu wieńcowego) lub całkowity (zamknięcie całkowite naczyń wieńcowych), przejściowy (krążenie wieńcowe zostaje przywrócone) lub nieodwracalny, czy wreszcie dotyczący całego serca lub tylko określonych obszarów. Jest to zjawisko niezwykle złożone i jedynie niektóre zmiany metaboliczne, które dokonują się wówczas w sercu przedstawiono na schemacie 1.

Schemat 1

Zmiany metaboliczne w niedokrwionym sercu w różnym czasie od całkowitego zamknięcia dopływu krwi:

W sekundach:

- ograniczenie dostępności tlenu;
- zaburzenia równowagi jonowej błony komórkowej;
- wyczerpanie zasobów tlenu;
- zahamowanie fosforylacji oksydacyjnej;
- zmniejszenie produkcji ATP;
- obniżenie stężenia fosfokreatyny i spadek wartości potencjału fosforylacyjnego;
- zmniejszanie się amplitudy i częstotliwości błonowych potencjałów czynnościowych;
- zmniejszanie się siły i częstotliwości skurczów serca;
- ucieczka wewnątrzkomórkowego jonu potasowego;
- akumulacja jonów sodowego i chlorkowego wewnątrz komórki;
- uwalnianie amin katecholowych;
- stymulacja cykazy adenylowej i wzrost stężenia cAMP;
- aktywacja fosforylasy glikogenowej i aktywacja glikogenolizy;
- obniżenie stężenia ATP;
- akumulacja NADH i zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej;
- akumulacja nieorganicznego fosforanu, CO_2 i obniżenie się pH;
- aktywacja fosfofruktokinazy i stymulacja ciągu glikolitycznego.

W minutach:

- pogłębianie się kwasicy wewnątrzkomórkowej;
- całkowite zahamowanie mitochondrialnego transportu elektronów;
- zahamowanie zużycia kwasów tłuszczowych i akumulacja acylo-CoA;
- zużywanie zasobów glikogenu w beztlenowej glikolizy;
- wyciek nieorganicznego fosforanu z komórek serca;
- zwiększona aktywność dehydrogenazy mleczanowej i akumulacja mleczanu;
- wyciek mleczanu z komórek serca;

- wzrost stężenia AMP i stymulacja katabolizmu nukleotydów;
- akumulacja adenozyiny, inozyiny i hipoksantyny;
- maksymalne rozszerzenie naczyń wieńcowych;
- głęboka kwasica wewnątrzkomórkowa;
- zahamowanie fosfofruktokinazy i dehydrogenazy aldehydu-3-fosfoglicerynowego i zahamowanie glikolizy;
- obrzęk komórkowy;
- wzrost cytoplazmatycznego stężenia jonu wapniowego;
- ucieczka jonu magnezowego z komórki;
- wyczerpanie zasobów glikogenu;
- początkowa faza uszkodzenia mitochondriów (obrzęk);
- całkowite zużycie wysokoenergetycznych związków fosforanowych;
- skurcz tężcowy serca;
- aktywacja hydrolaz lizosomalnych (początek zmian nieodwracalnych w sercu).

W godzinach:

- postępujący obrzęk komórkowy;
- nieodwracalna utrata kontroli oddechowej w mitochondriach;
- całkowita dezorganizacja metabolizmu;
- ultrastrukturalne zmiany aparatu kurczliwego;
- ucieczka makrocząstek (głównie białek) z komórek i ich przedostawanie się do chłonki;
- uszkodzenie struktury mitochondriów;
- destrukcja białek kurczliwych;
- uszkodzenie struktury błony komórkowej;
- intensywny wyciek enzymów i innych białek wewnątrzkomórkowych;
- autoliza komórki;
- powstanie martwicy w obszarze niedokrwionym.

Jak wspomniano stan niedokrwienia serca może być nieodwracalny albo odwracalny. Odwracalne niedokrwienie budzi większe zainteresowanie nie tylko ze względu na to, że coraz częściej występuje w warunkach klinicznych (np. terapia trombolityczna zawału serca, zabiegi kardiochirurgiczne) lecz również ze względu na to, że istnieją tu znacznie większe możliwości oddziaływania farmakologicznego na ten proces. Reperfuzja jest wprawdzie nieodzowna dla zachowania żywotności komórek serca, lecz jednocześnie w jej trakcie, aktywacji ulegają mechanizmy pogłębiające uszkodzenia mięśnia sercowego spowodowanego niedokrwieniem. Zwane jest to uszkodzeniem przez reperfuzję (ang. reperfusion injury). Destrukcyjne procesy metaboliczne, które zachodzą w sercu w czasie reperfuzji przedstawione zostały na schemacie 2.

Schemat 2

Szkodliwe procesy metaboliczne zachodzące w sercu w czasie reperfuzji:

- Aktywacja powstawania wolnych rodników uszkadzających fosfolipidy, białka i kwasy nukleinowe w komórkach serca.
- Akumulacja wapnia wewnątrzkomórkowego — aktywacja proteaz, fosfolipaz i endonukleaz.
- Zahamowanie aktywności kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej.
- Zahamowanie produkcji tlenu azotu i prostacykliny związane z uszkodzeniem komórek endotelium.
- Zahamowanie produkcji adenozyiny związane ze spadkiem puli nukleotydów adeninowych w kardiomiocytach.
- Zaburzenia przepływu wieńcowego (ang. no-reflow phenomenon) spowodowane obrzękiem śród- i międzykomórkowym oraz uszkodzeniem mechanizmów regulujących napięcie ściany naczyń.
- Zwiększone zużycie kwasów tłuszczowych i zahamowanie wykorzystania glukozy jako substratów energetycznych.
- Dalsza degradacja ATP spowodowana zaburzeniami ukrwienia i opóźnionym powrotem równowagi energetycznej.
- Aktywacja reakcji zapalnych i pojawienie się nacieku leukocytnego.

ZMIANY STĘŻEŃ ATP I INNE MODYFIKACJE METABOLIZMU ENERGETYCZNEGO W SERCU W CZASIE ZABIEGÓW KARDIOCHIRURGICZNYCH

Współczesne zabiegi kardiochirurgiczne wymagają zatrzymania akcji serca i wprowadzenia tego narządu w stan całkowitego niedokrwienia trwającego czasem do dwóch godzin celem umożliwienia dokonania wymiany zastawek, korekcji wad wrodzonych czy utworzenia zespołu aortalno-wieńcowych. Szczególną sytuacją są transplantacje serca, gdy narząd ten jest poddawany całkowitemu niedokrwieniu przez okres do 4–6 godzin w czasie transportu pomiędzy szpitalem, w którym pobrano serce od dawcy, do ośrodka, w którym dokonuje się wszczepienia serca. W świetle danych, które przedstawiono powyżej, pojawia się oczywiste pytanie, jak to jest możliwe, że po tak długim okresie całkowitego niedokrwienia serce jest w stanie podjąć swoją funkcję. Uwarunkowane jest to zastosowaniem kardioprotekcji, która wyodrębniła się jako szczególna dziedzina bardzo wielostronnych badań. Podstawowym elementem kardioprotekcji jest hipotermia, która powoduje znaczne zmniejszenie zapotrzebowania energetycznego serca. W czasie rutynowych zabiegów kardiochirurgicznych temperaturę serca w czasie niedokrwienia obniża się do około 20°C. W czasie transplantacji serce jest transportowane w temperaturze około 4°C. Drugim ważnym elementem jest podanie pły-

nów kardioplegicznych, które najczęściej zawierając wysokie stężenie jonu potasowego, powodują depolaryzację komórek serca oraz zatrzymanie ich cyklicznej czynności skurczowej. Płyn kardioplegiczny zawiera też szereg innych składników, które zmniejszają skutki niedokrwienia, takich jak magnez czy prokaina. Przedmiotem intensywnych badań są dalsze modyfikacje płynów kardioplegicznych polegające na jego uzupełnieniu o leki, takie jak: blokery kanałów wapniowych, adenozyne, mannitol, fosfokreatynę, fruktozo-1,6-difosforan, akadezynę, mioflazynę czy allopurinol (FLAMENG i współaut. 1995, FLAMENG 1986). Trwają badania nad dalszą redukcją zużycia ATP w niedokrwionym sercu poprzez zastosowanie inhibitorów kanałów sodowych czy inhibitorów mitochondrialnej syntazy ATP (powodującej rozpad ATP w sercu niedokrwionym). Znaczenie badań podstawowych nad energetyką komórkową jest szczególnie istotne w dalszym ulepszaniu płynów kardioplegicznych, gdyż większość proponowanych modyfikacji ma swoje źródło właśnie w tej dziedzinie badań podstawowych.

W efekcie tych działań stężenie ATP pozostaje na poziomie niewiele zmienionym w porównaniu ze stężeniem wyjściowym nawet po kilkugodzinym niedokrwieniu w czasie transplantacji. Nieco większe zmiany stężenia ATP obserwuje się w czasie innych zabiegów kardiokirurgicznych (SMOLEŃSKI i współaut. 1992, 1993). Szczególnie jednak po okresie ischemii w niskiej temperaturze (w czasie transplantacji) dość znaczny spadek stężenia ATP można zaobserwować w czasie reperfuzji. Zmniejszenie się stężenia ATP w sercu a ściślej puli nukleotydów adeninowych (sumy ATP, ADP i AMP) może mieć poważne konsekwencje dla czynności serca. Wprawdzie bezpośredni wpływ na czynność mechaniczną serca jest kwestionowany, ale może powodować zmniejszenie produkcji adenozyne — ważnego fizjologicznie metabolitu regulującego przepływ wieńcowy, reakcje zapalne i agregację płytek we krwi. Mechanizmy te nie mają więc swego naturalnego modulatora w czasie reperfuzji i mogą znacznie pogłębić uszkodzenie mięśnia sercowego.

Poza spadkiem stężenia ATP w sercu może następować szereg innych zmian. Przy wydłużonych okresach niedokrwienia mogą następować zmiany w strukturze i funkcji mitochondriów, regulacji cytoplazmatycznego stężenia jonu wapniowego czy wrażliwości białek kurczliwych na wapń. Duże zainteresowanie budzą ostatnio zmiany profilu substratów metabolicznych zużywanych przez serce obserwowane w wyniku niedokrwienia.

Jest to przedmiotem dyskusji, ale generalnie przeważa pogląd, że zahamowane zostaje zużycie glukozy, natomiast proporcjonalnie zwiększa się zużycie kwasów tłuszczowych w sercu (LOPASCHUK i współaut. 1990, MICKLE i współaut. 1986). W efekcie zwiększa się koszt tlenowy syntezy ATP, co powoduje opóźnienie powrotu równowagi energetycznej w komórkach serca. Jest to szczególnie ważne we wczesnym okresie reperfuzji ze względu na rolę procesów energetycznych w zapobieganiu uszkodzenia komórek serca (głównie błon komórkowych) przez reakcje wolnorodnikowe. W zmianach tych duże znaczenie ma zahamowanie kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej (VARY i RANDLE 1984, LEWANDOWSKI i WHITE 1995).

ZMIANY METABOLIZMU ENERGETYCZNEGO

W PRZEROŚNIĘTYM MIĘŚNIU SERCOWYM I W PRZEWLEKŁEJ NIEWYDOLNOŚCI SERCA

Przerost serca powoduje szereg zmian morfologicznych i metabolicznych w tym narządzie. Podstawową cechą morfologiczną przerostu serca jest powiększenie się wielkości kardiomiocytów przy niezminiającej się całkowitej liczbie komórek. Ważną cechą jest zmniejszenie się względnej gęstości naczyń włosowatych spowodowane nieproporcjonalnie mniejszym wzrostem sieci naczyniowej (SWYNGHDAUW 1990). Utrudnia to w znacznym stopniu wymianę tlenu i metabolitów pomiędzy światłem naczyń a kardiomiocytami.

W sercu przerośniętym występuje szereg procesów adaptacyjnych dotyczących bezpośrednio przemian energetycznych i metabolizmu nukleotydów. Obserwuje się, na przykład, zmiany profilu izoenzymatycznego kinazy kreatynowej, spadek stężenia karnityny, obniżenie stężenia fosfokreatyny wynikające zarówno z upośledzonego tworzenia wysokoenergetycznych wiązań fosforanowych, jak i obniżenia całkowitej puli kreatyny w kardiomiocytach. Stężenie ATP może być obniżone lub nie zmienione. Podwyższone są natomiast stężenia innych nukleotydów trójfosforanowych, takich jak UTP, CTP i GTP. W sercu przerośniętym zwiększa się rola glukozy jako źródła energii (AUSSEDAT i współaut. 1992, SEYMOUR i współaut. 1990).

Przerost mięśnia sercowego prowadzi zwykle do jego niewydolności, w związku z czym wiele charakterystycznych dla przerostu zmian metabolicznych można zaobserwować również w przewlekłej niewydolności serca (SWYNGHDAUW 1990). Dotyczy to, na przykład, zwiększonej roli ciągu glikolitycznego czy obniżonego stężenia puli związków kreatynowych. Występuje rów-

niez wyraźne dalsze obniżenie się stężenia fosfokreatyny i podwyższenie stężenia fosforanu nieorganicznego (BOTTOMLEY 1994, SCHWARTZ i współaut. 1992).

Zmiany metaboliczne w przerośniętym i niewydolnym mięśniu sercowym człowieka mogą być analizowane w materiale biopsyjnym pobranym w czasie zabiegów kardiologicznych. Wiele cennych informacji dostarczyły również badania z zastosowaniem NMR. Analiza aktywności enzymatycznych w niewydolnym mięśniu sercowym człowieka wykazała obniżone aktywności enzymów cyklu kwasów trójkarboksylowych. Zostały potwierdzone również obserwacje dotyczące znacznego obniżenia puli metabolitów kreatynowych przy nie zmienionych stężeniach ATP i innych nukleotydów adeninowych, aczkolwiek przedstawiono również odmienne wyniki (REGITZ i FLECK 1992). Badania *in vivo* z zastosowaniem NMR nie pozwalają wprowadzić na precyzyjne określenie absolutnej wartości stężeń badanych metabolitów. Mogą jednak dostarczać danych dotyczących stanu energetycznego na podstawie wzajemnych relacji pomiędzy ATP, fosfokreatyną i nieorganicznym fosforanem. Zaobserwowano, że w pewnych sytuacjach przerost mięśnia sercowego, czy przewlekła niewydolność serca koreluje z obniżonym względnym stężeniem fosfokreatyny (CONWAY i współaut. 1991). Stan ten występuje zawsze, gdy wspomnianym zaburzeniom towarzyszy upośledzenie perfuzji wieńcowej (BOTTOMLEY 1994). Ocena wzajemnych relacji metabolitów fosforanowych w sercu może być przydatna w klinicznej diagnozie niewydolności serca, lub w określaniu optymalnego czasu na dokonanie operacji wymiany zastawek w sercu (CONWAY i współaut. 1991).

METABOLIZM WYSOKOENERGETYCZNYCH FOSFORANÓW W SERCU „OGLUSZONYM”

Stan ten dotyczy sytuacji, w której dochodzi to przejściowego, odwracalnego zmniejszenia wydolności mechanicznej serca, występującego przez okres od kilku godzin do kilku dni, w czasie reperfuzyj po okresie niedokrwienia (SUN i współaut. 1992, SCHULTZ i współaut. 1995). Ze względu na duże znaczenie tego zjawiska i częste jego występowanie w warunkach klinicznych, jest ono bardzo intensywnie badane. Istnieje wiele hipotez próbujących je wyjaśnić. Jedna z nich zakłada, że przyczyną tego zjawiska jest obniżenie puli nukleotydów adeninowych a w związku z tym i ATP (JENNINGS i STEENBERGER 1985). Koncepcja ta opiera się na spostrzeżeniu, że pełny powrót sprawności mechanicznej przebiega równolegle z odbudową

puli adenylanów. Przeważa jednak pogląd, że przyczyną są raczej zaburzenia po stronie wykorzystania ATP przez ATPazy białek kurczliwych. To z kolei może być spowodowane zaburzeniami „ogłuszenia” metabolizmu jonu wapniowego. Pogląd ten popierają obserwacje, z których wynika, że potencjał fosforylacyjny, określający precyzyjnie niż samo stężenie ATP czy fosfokreatyny stan energetyczny komórki, jest paradoksalnie podwyższony w sercu „ogłuszonym”, co świadczy o efektywnej produkcji ATP przez mitochondria. Zwiększone zużycie tlenu, występujące równolegle ze zmniejszeniem pracy mechanicznej w tym stanie, świadczy o istniejących jednak zaburzeniach funkcjonowania mitochondriów i ich rozkojarzeniu. Mechanizm „ogłuszenia” serca jest związany z powstawaniem wolnych rodników. Przez zastosowanie związków chemicznych i enzymów wyłapujących wolne rodniki można w znacznym stopniu zmniejszyć zaburzenia czynności mechanicznej w wyniku ogłuszenia (SUN i współaut. 1996, BOLLI i współaut. 1995).

METABOLIZM ENERGETYCZNY „HIBERNUJĄCYCH” KOMÓREK SERCA

Terminu tego używa się do określenia przewlekłego stanu obniżenia aktywności mechanicznej komórek kurczliwych serca, spowodowanego niedokrwieniem, który ustępuje po przywróceniu przepływu krwi (SCHULTZ i HEUSCH 1995, SCHULTZ i współaut. 1995). Hibernujące komórki, znajdujące się w niedokrwionym obszarze serca, obniżają swoją aktywność metaboliczną na tyle, aby możliwe było zachowanie ich żywotności kosztem głównie pracy mechanicznej. Stan ten jest więc ściśle związany z procesami bioenergetycznymi. Charakterystyczna jest również możliwość czasowego pobudzenia aktywności mechanicznej hibernujących komórek działaniem środków inotropowych, lecz jest to związane z pogorszeniem ich stanu metabolicznego (CHEN i współaut. 1995). Przykładem ilustrującym zjawisko hibernacji jest eksperyment, w którym serce lub jego obszar poddano znacznemu ograniczeniu przepływu wieńcowego. W sytuacji tej początkowo dochodzi do obniżenia stężenia ATP i fosfokreatyny łącznie z utratą kurczliwości. Z czasem jednak równowaga energetyczna powraca, lecz pozostaje zahamowana praca skurczowa komórek. Przywrócenie normalnego przepływu wieńcowego powoduje powrót czynności mechanicznej. Z zagadnieniem tym są związane ważne problemy praktyczne dotyczące celowości inwazyjnego przywracania ukrwienia obszarów serca objętych przewlekłym niedokrwieniem z to-

warzyszącym upośledzeniem kurczliwości niedokrwionych obszarów. Nie są znane mechanizmy powodujące zahamowanie zużycia ATP i hibernację komórek serca. Wykluczono dotychczas zwiększoną produkcję adenozyiny i aktywację zależnych od ATP kanałów potasowych, jako czynników uczestniczących w tym zjawisku (SCHULTZ i współaut. 1993, OFFSTAD i współaut. 1994, GAO i współaut. 1995). Badania materiału biopsyjnego pochodzącego od pacjentów z przewlekłym upośledzeniem czynności skurczowej, u których nastąpiła poprawa po dokonaniu rewaskularyzacji, wykazały zwiększoną zawartość glikogenu, zwiększoną ilość pozakomórkowych struktur kolagenu, jak również zmniejszenie się ilości i dezorganizację struktury białek kurczliwych.

„HARTOWANIE” SERCA I ZMIANY METABOLIZMU ENERGETYCZNEGO Z TYM ZWIĄZANE

W roku 1986 opisano po raz pierwszy zjawisko polegające na zwiększeniu się odporności serca na długotrwałe niedokrwienie pojawiające się po poddaniu serca krótkotrwałemu niedokrwieniu (REIMER i współaut. 1986, MURRY i współaut. 1986). Efekt ten nazwano „hartowaniem” serca (ang. preconditioning). Zjawisko to początkowo stwierdzono na eksperymentalnym modelu zawału serca, gdzie zaobserwowano znaczną redukcję strefy zawałowej w sercach poddanych hartowaniu w porównaniu z kontrolnymi. Potwierdzono istnienie zjawiska hartowania w wielu innych sytuacjach, takich jak całkowita ischemia w normotermii, całkowita ischemia w hipotermii a także w sercu różnych gatunków zwierząt (SCHULTZ i współaut. 1995, JENKINS i współaut. 1995, RAVINGEROVA i współaut. 1995). Równolegle z czynnościowymi wykładnikami hartowania opisano również pierwsze cechy metaboliczne, polegające na zmniejszającej się degradacji ATP przy powtarzających się incydentach niedokrwiennych. Podejmowane są liczne próby wyjaśnienia zjawiska hartowania. Wiadomo, że jednym z mediatorów jest adenozyina (GROVER i współaut. 1992). Podkreślane jest znaczenie kinazy białkowej C (BAXTER i współaut. 1995). Być może ostatecznym elementem kaskady zjawisk w tym uczestniczących jest aktywacja zależnych od ATP kanałów potasowych. Aktywacja białek G przez system adrenergiczny lub bradykininę również może odgrywać istotną rolę (BREW i współaut. 1995, RAVINGEROVA i współaut. 1995). Duże znaczenie mogą mieć też zmiany metabolizmu energetycznego zbliżone do pojawiających się w sercu „ogłuszonym”, takie jak zmniejszenie zużycia ATP przy jednocześnie zastymulowanej syntezie

ATP. Pogląd zakładający wspólny mechanizm obu zjawisk jest jednak krytykowany, gdyż zniesienie „ogłuszenia” hartowanych serc poprzez podanie leków inotropowych, nie znosi efektu kardioprotekcyjnego. Ważnym spostrzeżeniem dotyczącym serc poddanych hartowaniu jest podwyższone stężenie fosfokreatyny nawet do 170% normy w okresie reperfuzji po krótkotrwałym hartującym niedokrwieniu. Największe jednak znaczenie wśród procesów bioenergetycznych przypisuje się wyraźnej redukcji szybkości zużycia energii w czasie długotrwałego niedokrwienia. Przejawia się to znacznie wolniejszym spadkiem zasobów wysokoenergetycznych fosforanów przy jednoczesnym wolniejszej akumulacji mleczanu. Aktualne poglądy dotyczące przyczyn redukcji szybkości procesów zużywających ATP zakładają możliwość obniżonego uwalniania noradrenaliny z zakończeń nerwowych, obniżonej wrażliwości receptorów adrenergicznych, zwiększonego stężenia adenozyiny w czasie niedokrwienia, zwiększonej wrażliwości receptorów adenozyinowych typu A_1 , podwyższony przepływ przez kanały potasowe i zmniejszony przez kanały wapniowe lub obniżona aktywność ATPaz w kardiomiocytach. Ze względu na duże różnice międzygatunkowe wiele uwagi poświęcono występowaniu hartowania w sercu człowieka. Problem ten był możliwy do zbadania w czasie zabiegów kardiochirurgicznych a także w czasie angioplastyki wieńcowej, podczas których oceniano stężenie ATP w sercu, uwalnianie katabolitów purynowych oraz zmiany w EKG w czasie powtarzających się kontrolowanych epizodów niedokrwiennych występujących w trakcie tych zabiegów. Wszystkie dane zdają się potwierdzać możliwość hartowania serca człowieka (BAXTER i YELLON 1994, DEUTSCH i współaut. 1990, YELLON i współaut. 1996). Odkrycie zjawiska hartowania miało niewątpliwie znaczny wpływ na powrót techniki zabiegów kardiochirurgicznych, polegającej na okresowym wielokrotnym zamykaniu aorty i przepływu wieńcowego w czasie operacji, która w pewnych sytuacjach jest wygodniejsza niż stosowanie płynów kardioplegicznych.

ZMIANY METABOLIZMU ENERGETYCZNEGO ZWIĄZANE Z SZOKIEM TERMICZNYM

W wyniku działania ekstremalnych warunków środowiska w wielu typach komórek począwszy od bakterii po organizm człowieka dochodzi do indukcji charakterystycznych białek zwanych białkami szoku termicznego. Od początku przypuszczano, że zjawisko to musi mieć znaczenie cytoprotekcyjne. Dziś wiadomo, że

białka szoku termicznego zapobiegają denaturacji innych białek pełniących ważne funkcje fizjologiczne. Pomagają również w nadaniu ostatecznego kształtu białkom nowo powstającym (KELLEY i GEORGOPOULOS 1992, STUART i współaut. 1994). Indukcja tych białek w sercu powoduje zwiększenie jego odporności na niedokrwienie i znaczną poprawę sprawności mechanicznej w okresie reperfuzji (CURRIE 1987, DONNELLY i współaut. 1992). Można to zaobserwować również jako efekt ograniczający strefę martwicy w eksperymentalnym zawale serca. Maksymalne działanie kardioprotekcyjne obserwuje się w 24 godziny po poddaniu serc szokowi termicznemu. Bezpośredni związek pomiędzy białkami szoku termicznego a efektami kardioprotekcyjnymi wykazano w eksperymentach z wykorzystaniem linii komórkowych produkujących zwiększone ilości białka szoku termicznego HSP-70 (HEADS i współaut. 1995), a także na transgenicznym myszach o podwyższonej ekspresji HSP70, których serca wykazywały znacznie zwiększoną odporność na niedokrwienie (MARBER i współaut. 1995). Nie jest jednak do końca wyjaśnione, jakie białka i w związku z tym jakie procesy metaboliczne są ochraniające. Możliwe jest, że białkami tymi są enzymy uczestniczące w przemianach energetycznych komórki zgodnie z wynikami badań *in vitro*, w których stwierdzono ochronne działanie w stosunku do enzymów, takich jak dehydrogenaza mleczanowa, dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa czy syntaza cytrynianowa (ZIETARA i SKORKOWSKI 1995, JAKOB i współaut. 1995). Serca poddane szokowi termicznemu mają nie zmienione stężenia ATP czy fosfokreatyny, ale można zaobserwować szereg innych zmian, na przykład wzrost stężeń innych trójfosforanów, takich jak UTP, GTP czy CTP. Co ciekawe, że obserwuje się również podwyższone stężenia NADP. Te zmiany mogą prowadzić do szybszego powstawania i rozpadu glikogenu (UTP) czy stymulacji przemian fosfolipidów (CTP) poza zwiększeniem puli wysokoenergetycznych fosforanów. Bardzo ważną cechą serc poddanych szokowi termicznemu jest wolniejsze zużycie ATP i wolniejsza szybkość spadku pH w czasie niedokrwienia, które przypomina sytuację obserwowaną w sercach poddanych hartowaniu. Być może jest to wspólny mechanizm kardioprotekcyjnego działania obu zjawisk, aczkolwiek jego drogi są niewątpliwie różne.

WPLYW BADAŃ METABOLIZMU ENERGETYCZNEGO SERCA NA ROZWÓJ NOWYCH METOD LECZENIA

Wraz z poznawaniem procesów zachodzących w warunkach fizjologicznych i patologicz-

nych w sercu człowieka pojawiają się nowe możliwości terapeutyczne. Jedną z tych możliwości to aktywacja kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej. W czasie niedokrwienia serca dochodzi do inaktywacji tego kompleksu enzymatycznego na drodze fosforylacji, co jest naturalnym procesem dostosowującym metabolizm do braku tlenu. W okresie reperfuzji reaktywacja kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej jest opóźniona, co powoduje zmniejszenie oksydacyjnego zużycia glukozy i zwiększenie zużycia kwasów tłuszczowych. Obniżona aktywność w okresie reperfuzji jest niekorzystna i wykazano, że w wyniku aktywacji kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej dochodzi do wyraźnej poprawy sprawności mechanicznej serca (LEWANDOWSKI i WHITE 1995, McVEIGH i LOPASCHUK 1990). Podejmowane są próby zastosowania klinicznego związków, które powodują ten efekt w czasie zabiegów kardiokirurgicznych i w stanie niewydolności serca (BERSIN i współaut. 1994, KOSHKARIAN 1995).

Kardioprotekcyjny efekt wywiera podawanie glukozy-insuliny-potasu. Celem tej interwencji metabolicznej jest przedstawienie przemian energetycznych serca na wykorzystanie glukozy zamiast kwasów tłuszczowych, co obniża koszt tlenowy syntezy ATP. Ponadto jedna z koncepcji zakłada, że glukoza może dodatkowo przyspieszać szybkość cyklu Krebsa przez dostarczanie metabolitów anaplerotycznych. Ta interwencja potwierdziła swoją efektywność w badaniach klinicznych u chorych poddanych zabiegom tworzenia zespoleń aortalno-wieńcowych, u których wystąpiły pooperacyjne zaburzenia wydolności mechanicznej serca (TAEGTMEYER 1995).

Przywrócenie optymalnego przepływu wieńcowego w czasie reperfuzji jest naturalną konsekwencją stwierdzonych zaburzeń w regulacji pojawiających się po okresie niedokrwienia. Podejmowane są próby terapeutycznego zastosowania leków rozszerzających naczynia wieńcowe w okresie reperfuzji w czasie zabiegów kardiokirurgicznych, po dokonaniu rewaskularyzacji czy trombolizy w leczeniu zawału serca. Badaniom są poddawane efekty zastosowania w tym celu nitrogliceryny czy innych związków uwalniających tlenek azotu, L-argininy (prekursoru tlenku azotu) czy adenozy, które poza efektem rozszerzającym naczynia wieńcowe wywierają szereg innych efektów kardioprotekcyjnych, takich jak zapobieganie agregacji płytek krwi i zmniejszanie reakcji zapalnych (AMRANI i współaut. 1995, CHANG i współaut. 1992).

Modyfikacje płynów kardioplegicznych stosowane w kardiokirurgii są przedmiotem bar-

dzo intensywnych badań. Wśród koncepcji, które pojawiły się w ostatnim czasie należy wymienić zastosowanie adenozyiny jako związku powodującego szybsze niż wysokie stężenie jonu potasowego zatrzymanie akcji serca. Ponadto po podaniu adenozyiny komórki serca znajdowałyby się w korzystniejszym z punktu widzenia energetyki komórki stanie hiperpolaryzacji. Podobne efekty powodują inne związki, które tak jak adenozyina prowadzą do otwarcia ATP-zależnych kanałów potasowych (DAMIANO 1995). Badane jest również zastosowanie inhibitorów kanału sodowego (tetrodotoksyna), które uniemożliwiając przebieg potencjałów czynnościowych powodowałyby również pożądany w tej sytuacji efekt zatrzymania czynności skurczowej. Zastosowanie tej metody zapobiegałoby akumulacji wewnątrzkomórkowej jonu sodowego i pośrednio wapniowego, blokując ten istotny mechanizm uszkodzenia serca (CHAMBERS 1996).

Naturalną konsekwencją stwierdzonego deficytu karnityny w sercu przerośniętym lub w

stanie niewydolności są próby usunięcia tych zaburzeń. Jeden z analogów karnityny propionyl-L-karnityna podawany zwierzętom eksperymentalnym powodował znaczną poprawę parametrów, szczególnie podatności rozkurczowej serca (YANG i współaut. 1995, SUNDQVIST i współaut. 1994) a również i stanu energetycznego komórek serca (TORIELLI i współaut. 1995). Wyniki badań klinicznych wykazały korzystny wpływ na parametry czynnościowe serca (CHIDDO i współaut. 1991, MANCINI i współaut. 1992).

Jak widać z przedstawionego opisu, wyniki badań metabolizmu energetycznego w coraz większym stopniu pozwalają zrozumieć mechanizmy patologiczne w sercu człowieka i w coraz szerszym zakresie przyczyniają się do postępów w terapii i diagnostyce. Zapewne jeszcze długo będą w pełni wykorzystywane możliwości, jednak nie wszystkie, otwarte przez badania podstawowe i skuteczność wielu metod leczenia będzie trudna do wyjaśnienia na podstawie naszej obecnej wiedzy dotyczącej energetyki komórki.

ENERGY AND NUCLEOTIDE METABOLISM IN THE HEART AND THEIR SIGNIFICANCE IN CARDIOLOGY AND CARDIAC SURGERY

Summary

Studies on cellular energy metabolism are especially important in cardiology and cardiac surgery due to the role of these processes in supporting contractile activity of the heart. The results of these studies allow not only better understanding of the disease process in the heart but also provide a background for development of novel diagnostic and therapeutic strategies. Recent advances in cardiac surgery and invasive cardiology greatly facilitated investigations on physiological and pathological mechanisms in the human heart, providing inspiration for basic research into the problem. Isolation and culture of the cells from the human heart, *in vivo* nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), positron emission tomography (PET) are exam-

ples of the advanced techniques currently available for studying energy metabolism in the human heart. Maintenance of the energy equilibrium in the cardiac cells is taken into consideration in selection of and establishing the dosage of the inotropic drugs. More efficient and complex inhibition of ATP utilisation in the heart during ischemia accompanying cardiac surgery is important in development of novel cardioplegic solutions. Current therapeutic approach in cardiology and cardiac surgery takes into account hibernation and preconditioning phenomena as well as the role of substrate preferences in the postischemic heart. However, current possibilities revealed by basic research are still insufficiently implemented in the clinical practice.

LITERATURA

- ALPERT N. R., 1991. *Energetics of isometric force development in control and volume-overload human myocardium. Comparison with animal species.* Circ. Res 68, 836-846.
- AMRANI M., CHESTER A. H., JAYAKUMAR J., SCHYNS C. J., YACOUB M. H., 1995. *L-arginine reverses low coronary reflow and enhances postischemic recovery of cardiac mechanical function.* Cardiovasc Res. 30, 200-204.
- AUSSEDAT J., LORTET S., RAY A., ROSSI A., HECKMAN M., ZIMMER H. G., VINCENT M., SASSART J., 1992. *Energy metabolism of the hypertrophied heart studied by ³¹P nuclear magnetic resonance.* Cardioscience 3, 233-239.
- BAXTER G. F., YELLON D. M., 1994. *Ischaemic preconditioning of myocardium: a new paradigm for clinical cardioprotection?* Br. J. Clin. Pharmacol. 38, 381-387.
- BAXTER G. F., GOMA F. M., YELLON D. M., 1995. *Involvement of protein kinase C in the delayed cytoprotection following sublethal ischaemia in rabbit myocardium.* Br. J. Pharmacol. 115, 222-224.
- BERSIN R. M., WOLFE C., KWASMAN M., LAU D., KLINSKI C., TANAKA K., KHORRAMI P., HENDERSON G. N., DE MARCO T., CHATTERJEE K., 1994. *Improved hemodynamic function and mechanical efficiency in congestive heart failure with sodium dichloroacetate.* J. Am. Coll. Cardiol. 23, 1617-1624.
- BOLLI R., ZUGHAI B. M., LI X. Y., TANG X. L., SUN J. Z., TRIANA J. F., MCCAY P. B., 1995. *Recurrent ischemia in the canine heart causes recurrent bursts of free radical production that have a cumulative effect on contractile function. A pathophysiological basis for chronic myocardial „stunning“.* J. Clin. Invest. 96, 1066-1084.
- BOTTOMLEY P. A., 1994. *MR spectroscopy of the human heart: the status and the challenges.* Radiology 191, 593-612.
- BREW E. C., MITCHELL M. B., REHRING T. F., GAMBONI ROBERTSON F., MCINTYRE R. C., JR., HARKEN A. H., BANERJEE A., 1995. *Role of bradykinin in cardiac functional protection after global ischemia-reperfusion in rat heart.* Am. J. Physiol. 269, H1370-8.
- CHAMBERS D. J., 1996. *Alternatives to hyperkalaemia for myocardial protection.* J. Mol. Cell Cardiol. 28, A12.

- CHANG M., SHI M., FORMAN H. J., 1992. *Exogenous glutathione protects endothelial cells from menadione toxicity*. Am. J. Physiol. 262, L637-L643.
- CHEN C., LI L., CHEN L. L., PRADA J. V., CHEN M. H., FALLON J. T., WEYMAN A. E., WATERS D., GILLAM L., 1995. *Incremental doses of dobutamine induce a biphasic response in dysfunctional left ventricular regions subtending coronary stenoses*. Circulation 92, 756-766.
- CHIDDO A., GAGLIONE A., MUSCI S., TROITO G., GRIMALDI N., LOCURATOLO N., RIZZON P., 1991. *Hemodynamic study of intravenous propionyl-L-carnitine in patients with ischemic heart disease and normal left ventricular function*. Cardiovasc. Drugs Ther. 5, Suppl. 1, 107-111.
- CONWAY M. A., ALLIS J., OUWERKERK R., NIIOKA T., RAJAGOPALAN B., RADDA G. K., 1991. *Detection of low phosphocreatine to ATP ratio in failing hypertrophied human myocardium by ³¹P magnetic resonance spectroscopy*. Lancet 338, 973-976.
- CURRIE R. W., 1987. *Effects of ischemia and perfusion temperature on the synthesis of stress-induced (heat shock) proteins in isolated and perfused rat hearts*. J. Mol. Cell Cardiol. 19, 795-808.
- DAMIANO R. J., Jr., 1995. *The electrophysiology of ischemia and cardioplegia: Implications for myocardial protection*. J. Card. Surg. 10, 445-453.
- DE JONG J. W., VAN DEN MEER P., NIEUKOOP S., HUIZER T., STROEVE R. J., BOS E., 1990. *Xanthine oxidoreductase activity in perfused hearts of various species, including humans*. Circ. Res. 67, 770-773.
- DEUSSEN A., HENRICH M., HAMACHER K., BORST M. M., HERZOG H., COENEN H. H., STOCKLIN G., 1992. *FEINENDEGEN L. E., SCHRADER J., 1992. Noninvasive assessment of regional cardiac adenosine using positron emission tomography*. J. Nucl. Med. 33, 2138-2144.
- DEUTSCH E., BERGER M., KUSSMAUL W. G., HIRSHFELD J. W., Jr., HERRMAN H. C., LASKEY W. K., 1990. *Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic, and metabolic features [see comments]*. Circulation 82, 2044-2051.
- DONNELLY T. J., SIEVERS R. E., VISSERN F. L., WELCH W. J., WOLFE C. L., 1992. *Heat shock protein induction in rat hearts. A role for improved myocardial salvage after ischemia and reperfusion?* Circulation 85, 769-778.
- FLAMENG W., DE MEYERE R., DAENEN W., SERGEANT P., NGALIKPIMA V., GEBORS J., SUY R., STALPAERT G., 1986. *Nifedipine as an adjunct to St. Thomas' Hospital cardioplegia*. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 91, 723-731.
- FLAMENG W., 1995. *New strategies for intraoperative myocardial protection*. Curr. Opin. Cardiol. 10, 577-583.
- GAO Z. P., DOWNEY H. F., FAN W. L., MALLET R. T., 1995. *Does interstitial adenosine mediate acute hibernation of guinea pig myocardium?* Cardiovasc. Res. 29, 796-804.
- GROVER G. J., SLEPH P. G., DZWONCZYK S., 1992. *Role of myocardial ATP-sensitive potassium channels in mediating preconditioning in the dog heart and their possible interaction with adenosine A1 receptors*. Circulation 86, 1310-1316.
- HASENFUSS G., MULIERI L. A., BLANCHARD E. M., HOLUBARSCH C., LEAVIT B. J., ITTLEMAN F., ALPERT N. R., 1991. *Energetics of isometric force development in control and volume-overload human myocardium. Comparison with animal species*. Circ. Res. 68, 836-846.
- HEADS R. J., YELLON D. M., LATCHMAN D. S., 1995. *Differential cytoprotection against heat stress or hypoxia following expression of specific stress protein genes in myogenic cells*. J. Mol. Cell Cardiol. 27, 1669-1678.
- JAKOB U., LILLIE H., MEYER I., BUCHNER J., 1995. *Transient interaction of Hsp90 with early unfolding intermediates of citrate synthase. Implications for heat shock in vivo*. J. Biol. Chem. 270, 7288-7294.
- JENNINGS R. B., STEENBERGEN C., Jr., 1985. *Nucleotide metabolism and cellular damage in myocardial ischemia*. Annu. Rev. Physiol. 47, 727-749.
- JENKINS D. P., PUGSLEY W. B., YELLON D. M., 1995. *Ischaemic preconditioning in a model of global ischaemia: Infarct size limitation, but no reduction of stunning*. J. Mol. Cell Cardiol. 27, 1623-1632.
- KELLEY W. L., GEORGIOPOULOS C., 1992. *Chaperones and protein folding*. Curr. Opin. Cell Biol. 4, 984-991.
- KOSHKARIAN G. M., 1995. *Congestive heart failure and sodium dichloroacetate [letter]*. J. Am. Coll. Cardiol. 25, 804-805.
- LEWANDOWSKI E. D., WHITE L. T., 1995. *Pyruvate dehydrogenase influences postischemic heart function*. Circulation 91, 2071-2079.
- LI R-K, WEISEL R. D., WILLIAMS W.G., MICKLE D. A. G., 1992. *A method for culturing cardiomyocytes from human pediatric ventricular myocardium*. J. Tissue Culture Meth. 14, 93-100.
- LOPASCHUK G. D., SPAFFORD M.A., DAVIES N. J., WALL S. R., 1990. *Glucose and palmitate oxidation in isolated working rat hearts reperfused after a period of transient global ischemia*. Circ. Res. 66, 546-553.
- MANCINI M., RENGO F., LINGETTI M., SORRENTINO G. P., NOLFE G., 1992. *Controlled study on the therapeutic efficacy of propionyl-L-carnitine in patients with congestive heart failure*. Arzneimittelforschung 42, 1101-1104.
- MARBER M. S., MESTRIL R., CHI S. H., SAYEN M. R., YELLON D. M., DILLMANN W. H., 1995. *Overexpression of the rat inducible 70-kD heat stress protein in a transgenic mouse increases the resistance of the heart to ischemic injury*. J. Clin. Invest. 95, 1446-1456.
- MCVEIGH J. J., LOPASCHUK G.D., 1990. *Dichloroacetate stimulation of glucose oxidation improves recovery of ischemic rat hearts*. Am. J. Physiol. 259, H1079-H1085.
- MICKLE D. A., del Nido P. J., WILSON G. J., HARDING R. D., ROMASCHIN A. D., 1986. *Exogenous substrate preference of the post-ischaemic myocardium*. Cardiovasc. Res. 20, 256-263.
- MURRY C. E., JENNINGS R. B., REIMER K. A., 1986. *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium*. Circulation 74, 1124-1136.
- NALECZ K. A., KAMINSKA J., NALECZ M. J., AZZI A., 1992. *The activity of pyruvate carrier in a reconstituted system: substrate specificity and inhibitor sensitivity*. Arch. Biochem. Biophys. 297, 162-168.
- NISHIDA M., CARLEY W. W., GERRITSEN M. E., ELLINGSEN O., KELLY R. A., SMITH T. W., 1993. *Isolation and characterization of human and rat cardiac microvascular endothelial cells*. Am. J. Physiol. 264, H639-H652.
- OFFSTAD J., KIRKEBOEN K. A., ILEBEKK A., DOWNING S. E., 1994. *ATP gated potassium channels in acute myocardial hibernation and reperfusion*. Cardiovasc. Res. 28, 872-880.
- RADDA G. K., 1992. *Control, bioenergetics, and adaptation in health and disease: noninvasive biochemistry from nuclear magnetic resonance*. FASEB J. 6, 3032-3038.
- RAVINGEROVA T., PYNE N. J., PARRATT J. R., 1995. *Ischaemic preconditioning in the rat heart: the role of G-proteins and adrenergic stimulation*. Mol. Cell Biochem. 147, 123-128.
- REGITZ V., FLECK E., 1992. *Myocardial adenine nucleotide concentrations and myocardial norepinephrine content in patients with heart failure secondary to idiopathic dilated or ischemic cardiomyopathy*. Am. J. Cardiol. 69, 1574-1580.
- REIMER K. A., MURRY C. E., YAMASAWA I., JENNINGS R. B., 1986. *Four brief periods of myocardial ischemia cause no cumulative ATP loss or necrosis*. Am. J. Physiol. 251, H1306-H1315.
- SCHAEFER S., 1993. *Clinical applications of cardiac spectroscopy, [W:] Cardiovascular magnetic resonance spectroscopy*.

- copy, SCHAEFER S., BALABAN R. S. (red.), Boston/Dordrecht/London, Kluwer Academic Publishers, s. 215–224.
- SCHULZ R., EHRLING T., HEUSCH G., 1995. *Stunned myocardium: inotropic reserve and pharmacological attenuation*. Basic Res. Cardiol. 90, 294–296.
- SCHULZ R., HEUSCH G., 1995. *Pathophysiology of the „hibernating” myocardium*. Z. Kardiol. 84, Suppl 4, 91–100.
- SCHULZ R., ROSE J., MARTIN C., BRODDE O. E., HEUSCH G., 1993. *Development of short-term myocardial hibernation. Its limitation by the severity of ischemia and inotropic stimulation*. Circulation 88, 684–695.
- SCHULZ R., POST H., SAKKA S., WALLBRIDGE D. R., HEUSCH G., 1995. *Intraischemic preconditioning. Increased tolerance to sustained low-flow ischemia by a brief episode of no-flow ischemia without intermittent reperfusion*. Circ. Res. 76, 942–950.
- SCHULZ R., ROSE J., POST H., HEUSCH G., 1995. *Regional short-term myocardial hibernation in swine does not involve endogenous adenosine or KATP channels*. Am. J. Physiol. 268, H2294–301.
- SCHWARTZ G. G., STEINMAN S., GARCIA J., GREYSON C., MASSIE B., WEINER M. W., 1992. *Energetics of acute pressure overload of the porcine right ventricle. In vivo ³¹P nuclear magnetic resonance*. J. Clin. Invest. 89, 909–918.
- SEYMOUR A-M. L., ELGAR H., RADDA G. K., 1990. *Hyperthyroidism results in increased glycolytic capacity in the rat heart. A ³¹P-NMR study*. Biochim. Biophys. Acta 1055, 107–116.
- SKLADANOWSKI A. C., SMOLEŃSKI R.T., TAVENIER M., DE JONG J.W., YACOB M.H., SEYMOUR A-M. L., 1996. *The soluble forms of 5' nucleotidase in rat and human heart*. Am. J. Physiol. 270, H1493–H1500.
- SMOLEŃSKI R.T., YACOB M.H., 1993. *Liquid chromatographic evaluation of purine production in the donor human heart during transplantation*. Biomed. Chromatogr. 7, 189–195.
- SMOLEŃSKI R. T., SEYMOUR A-M. L., YACOB M. H., 1994. *Dynamics of energy metabolism in the transplanted human heart during reperfusion*. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 108, 938–945.
- SMOLEŃSKI R. T., SUITERS A., YACOB M.H., 1992. *Adenine nucleotide catabolism and adenosine formation in isolated human cardiomyocytes*. J. Mol. Cell Cardiol. 24, 91–96.
- SMOLEŃSKI R. T., KOCHAN Z., MCDOWALL R., PAGE C., SEYMOUR A-M. L., YACOB M. H., 1994. *Endothelial nucleotide catabolism and adenosine production*. Cardiovasc. Res. 28, 100–104.
- SMOLEŃSKI R. T., SCHRADER J., DE GROOT H., DEUSSEN A., 1991. *Oxygen partial pressure and free intracellular adenosine of isolated cardiomyocytes*. Am. J. Physiol. 260, C708–C714.
- SMOLEŃSKI R. T., YACOB M. H., 1995. *Nucleotide metabolism in human cardiomyocytes and endothelium — implications for protection of the heart during cardiac surgery, in Abd-Elfattah ASA. [W:] Purines and myocardial protection, WECHSLER A. S. (red.), Norwell, MA, U.S.A. Kluwer Academic Publishers, s. 55–80.*
- SMOLEŃSKI R. T., SKLADANOWSKI A. C., ŚWIERCZYŃSKI J., PERKO M., NARKIEWICZ M., ŻYDOWO M. M., 1993. *Changes of nucleotide content in human and rat heart during cardiac surgery and ischemia*. Acta Biochim. Polon. 40, 531–538.
- STUART R. A., CYR D. M., NEUPERT W., 1994. *Hsp70 in mitochondrial biogenesis: from chaperoning nascent polypeptide chains to facilitation of protein degradation*. Experientia 50, 1002–1011.
- SUN S. C., APPEYARD R., MASETTI P., BYRNE J. G., LAURENCE R. G., MARSH J. D., COHN L. H., 1992. *Improved recovery of heart transplants by combined use of oxygen-derived free radical scavengers and energy enhancement*. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 104, 830–837.
- SUN J. Z., TANG X. L., PARK S. W., QIU Y., TURRENS J. F., BOLLI R., 1996. *Evidence for an essential role of reactive oxygen species in the genesis of late preconditioning against myocardial stunning in conscious pigs*. J. Clin. Invest. 97, 562–576.
- SUNDQVIST K. E., VUORINEN K. H., PEUHKURINEN K. J., HASSINEN I. E., 1994. *Metabolic effects of propionate, hexanoate and propionylcarnitine in normoxia, ischaemia and reperfusion. Does an anaplerotic substrate protect the ischaemic myocardium?* Eur. Heart. J. 15, 561–570.
- SWYNGHDAUW B., 1990. *Cardiac hypertrophy and failure*. London/Paris, John Libbey.
- TAEGTMEYER H., 1995. *Metabolic support for the postischemic heart*. Lancet 345, 1552–1555.
- TORIELLI L., CONTI F., CINATO E., CEPPI E., ANVERSA P., BIANCHI G., FERRARI P., 1995. *Alterations in energy metabolism of hypertrophied rat cardiomyocytes: influence of propionyl-L-carnitine*. J. Cardiovasc. Pharmacol. 26, 372–380.
- VAN DER VUSSE G.J., VAN DER VEEN F. H., 1998. *Myocardial high-energy phosphates during open heart surgery. [W:] Myocardial Energy Metabolism, DE JONG J. W. (red), Dordrecht/Boston/Lancaster, Nijhof Publs, s. 245–255.*
- VARY T. C., RANDLE P. J., 1984. *The effect of ischaemia on the activity of pyruvate dehydrogenase complex in rat heart*. J. Mol. Cell Cardiol. 16, 723–733.
- WOJTCZAK A. B., BRDICKA D., WOJTCZAK L., 1995. *Is monoamine oxidase activity in the outer mitochondrial membrane influenced by the mitochondrial respiratory state?* Biochim. Biophys. Acta 1229, 249–255.
- YELLON D. M., BAXTER G. F., MARBER M. S., 1996. *Angina reassessed: pain or protector?* Lancet 347, 1059–1062.
- YANG T., KUPERSHMIT S., RODEN D. M., 1995. *Anti-minK antisense decreases the amplitude of the rapidly activating cardiac delayed rectifier K⁺ current*. Circ. Res. 77, 1246–1253.
- ZIETARA M. S., SKORKOWSKI E. F., 1995. *Thermostability of lactate dehydrogenase LDH-A4 isoenzyme: Effect of heat shock protein DnaK on the enzyme activity*. Int. J. Biochem. Cell Biol. 27, 1169–1174.