

Prekondicioniranje miokarda anestheticima

Danijel Pravdić, Filip Sedlić, Ana Šepac i Željko J. Bošnjak
Zavod za anesteziologiju, Medical College of Wisconsin, Milwaukee SAD

Pregledni članak

UDK 616.127-089.5:612.887

Prispjelo: 3. listopada 2008.

Prekondicioniranje anestheticima predstavlja zaštitu miokarda tijekom ishemije i reperfuzije koja je potaknuta primjenom inhalacijskih anestetika prije ishemije. Različite unutarstanične protein-kinaze, mitohondrijski i sarkolemalni ATP-osjetljivi K^+ kanali i slobodni radikali kisika imaju ključnu ulogu u prijenosu unutarstaničnoga signala u prekondicioniranju. Ostali signalni elementi uključeni u prekondicioniranje jesu, ali ne i isključivo: glikogen sintetaza kinaza 3-beta, vaskularni endotelni čimbenik rasta, hipoksijom inducirani čimbenik 1-alfa, endotelna sintaza dušikovoga oksida i različite unutarstanične kinaze kao što su protein-tirozin-kinaze i protein-serin/treonin-kinaze. Mitohondriji imaju središnju ulogu u mehanizmima stanične smrti i zaštiti stanica u prekondicioniranju. Štoviše, prekondicioniranje anestheticima smanjuje smrt kardiomiocita tako što inhibira otvaranje mitohondrijske PT pore. U ovom preglednom članku opisat ćemo trenutačna stajališta i kontroverze s obzirom na ulogu mitohondrija u kardioprotektivnim učincima inhalacijskih anestetika.

Ključne riječi: Prekondicioniranje anestheticima; Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda; Mitohondriji; Slobodni kisikovi radikali, Inhalacijski anestetici

UVOD

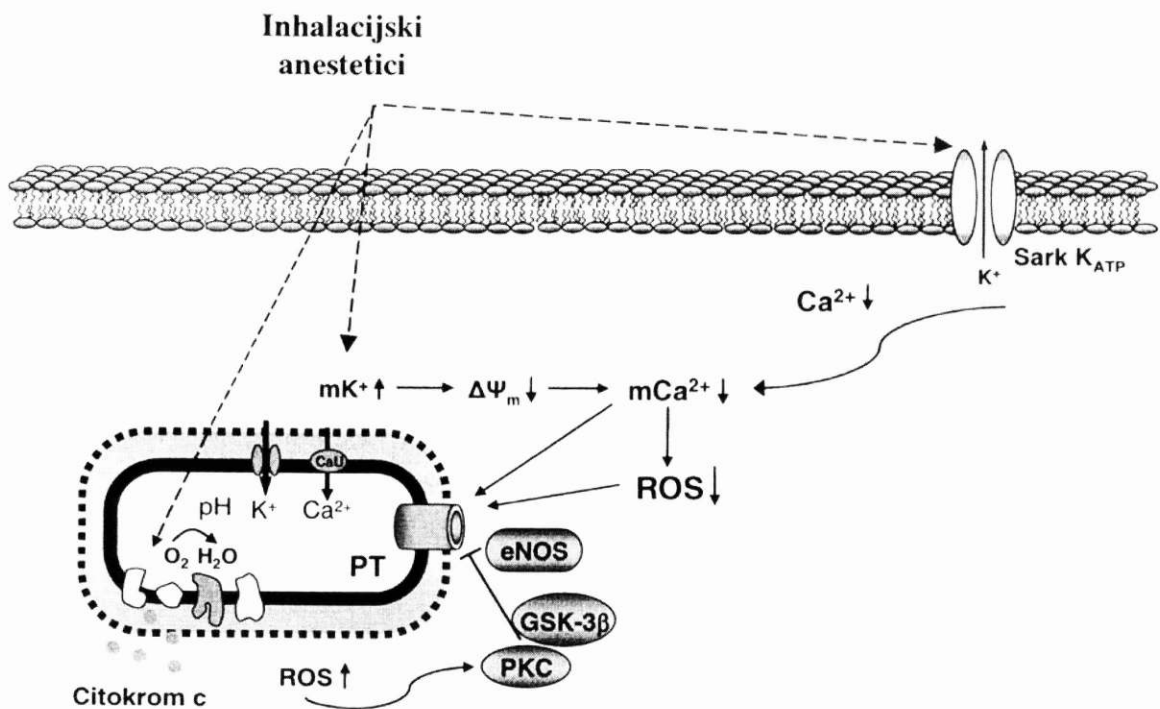
Proučavanje učinaka inhalacijskih anestetika na funkciju srca primarna je znanstvena aktivnost našega zavoda već dugi niz godina. Prvi smo pokazali fenomen prekondicioniranja anestheticima (APC, prema eng., anesthetic-induced preconditioning) i objasnili mnoge mehanizme uključene u APC. Istraživanja u tom području započela su našim otkrićem da inhalacijski anestetik izofluran ima slične zaštitne učinke na srce kao ishemijsko prekondicioniranje. Štoviše, srce ostaje zaštićeno od ishemijsko-reperfuzijske (I/R) ozljede i nakon što se odstrani inhalacijski anestetik. Stoga, osim što potiče akutne zaštitne učinke, APC dovodi do programiranih promjena u genskoj ekspresiji različitih proteina odgovornih za kardioprotekciju. Nakon tog otkrića i mnogi su drugi laboratoriji dobili slične rezultate i pokazali kako je prekondicioniranje važno i u drugim tkivima kao što su mozak i bubreg, time potvrđujući da mehanizmi odgovorni za APC (slika 1) postoje u različitim vrstama stanica.

Uskoro je prepoznata i klinička važnost APC-a, te su naša prvobitna istraživanja na životinjama vrlo brzo proširena i na klinička istraživanja kojima je potvrđeno da inhalacijski anestetici mogu prekondicionirati i ljudski miokard i poboljšati ishod nakon kirurških zahvata na srcu (1-5). To je ubrzalo definiranje kliničkih smjernica od strane American Heart Association i American College of Cardiology za uporabu inhalacijskih anestetika u bolesnika s rizikom od ishemije miokarda (6). I danas su APC i signalni mehanizmi u APC-u predmet istraživanja ne samo radi boljeg poznavanja utjecaja anestetika na zdravo ili bolesno srce, nego i da bi se što bolje istražili signalni putovi u prekondicioniranju koji bi mogli unaprijediti terapijske mogućnosti u budućnosti (7). S obzirom na veliku važnost mitohondrija u staničnom metabolizmu i oksidacijskom stresu, vjeruje se da je disfunkcija mitohondrija odgovorna za različite bolesti srca. S druge strane, mitohondriji su izgledni cilj kardioprotektivnih postupaka kao što je APC. Ipak, naše je razumije-

vanje funkcije mitohondrija u tim procesima ograničeno. U ovom kratkom preglednom članku opisat ćemo neke od uloga mitohondrija u APC-u.

Mitohondriji i prekondicioniranje anestheticima. Produljena ishemija i naknadna reperfuzija miokarda mogu značajno oštetiti mitohondrije i uzrokovati smanjenje energetske zaliha u stanicama, a to nadalje može uzrokovati nepovratno oštećenje miokarda. Međutim, štetni utjecaji ishemije i reperfuzije mogu biti znatno umanjeni ako se srce prethodno izloži kratkim razdobljima ishemije ili farmakološkim čimbenicima, npr. inhalacijskim anestheticima (8,9,10,11). Ti su prekondicijski poticaji usmjereni k zaštiti bioenergetike mitohondrija tijekom oksidacijskog stresa, što nadalje uzrokuje zaštitu funkcije mitohondrija i zaštitu stanica te smanjuje nekrotičku i apoptotičku smrt stanica. Pokazali smo da su mitohondriji izolirani iz srca štakora prekondicioniranih izofluranom blago depolarizirani i imaju blago rasprezanje oksidacijske fosforilacije, što može smanjiti štetnu akumulaciju Ca^{2+} u mitohondrijskom matriksu bez negativnoga utjecaja na sintezu ATP-a (12). To su vjerojatno zaštitni učinci kojima APC smanjuje stupanj oštećenja mitohondrija tijekom oksidacijskoga stresa. Osim toga, s obzirom na njihovu prirodnu topljivost u lipidima, inhalacijski anestetici mogu izravno utjecati na različite funkcije mitohondrija kao što su ove: oksidacijska fosforilacija, stvaranje slobodnih radikala kisika (ROS, prema eng., reactive oxygen species) i prijenos iona, te na taj način započeti signalnu kaskadu APC-a.

Tijekom procesa oksidacijske fosforilacije, prijenos elektrona s reduciranih molekula ($NADH$ i $FADH_2$) na O_2 spregnut je s izbacivanjem H^+ iona preko unutarnje mitohondrijske membrane. Energija pohranjena kao elektrokemijski gradijent koristi se za sintezu ATP-a (13), što je glavna funkcija mitohondrija. Međutim, osim sinteze ATP-a, mitohondriji su važno mjesto stvaranja ROS-a koji čine superoksidni anion ($O_2^{\cdot-}$) i njegovi metaboliti (H_2O_2 i OH^{\cdot}) (14). ROS imaju dvojak ulogu u stani-



SLIKA 1.

Pojednostavljeni shematski prikaz prijenosa unutarstaničnoga signala i unutarstaničnih ciljeva koji su uključeni u prekondicioniranje anestetici.

FIGURE 1

Simplified schematic presentation of intracellular signal and intracellular targets which are involved in anesthetic preconditioning.

Osim sarkolemalnih K_{ATP} kanala (Sark K_{ATP}), inhalacijski anestetici mogu izravno aktivirati i mitohondrijske K_{ATP} kanale, što uzrokuje promjenu bioenergetike mitohondrija i malu proizvodnju slobodnih radikala kisika (ROS-a). ROS aktivira različite unutarstanične medijatore kao što je protein kinaza C (PKC) koja fosforilira Sark K_{ATP} i senzitivizira ih na djelovanje anestetika. Senzitivizirani Sark K_{ATP} lakše se otvaraju tijekom metaboličkoga stresa što povećava izlazak K^+ iz stanice, ubrzava repolarizaciju i skraćuje trajanje akcijskoga potencijala. To nadalje smanjuje akumulaciju Ca^{2+} tijekom ishemije i reperfuzije, koji ima ključnu ulogu u regulaciji apoptoze. Mitohondrijski K_{ATP} kanali mogu se otvoriti i tijekom ishemije i reperfuzije, što smanjuje membranski potencijal mitohondrija ($\Delta\psi_m$) i smanjuje akumulaciju Ca^{2+} unutar mitohondrija (m Ca^{2+}). Ostali signalni elementi što prenose i pojačavaju signal koji je započeo djelovanjem anestetika su ovi: glikogen sintetaza kinaza 3-beta (GSK-3 β), vaskularni endotelni čimbenik rasta, hipoksijom inducirani čimbenik 1-alfa, endotelna sintaza dušikovoga oksida (eNOS, prema engl., *nitric oxid synthase*) i različite unutarstanične kinaze kao što su protein-tirozin-kinaze i protein-serin/treonin-kinaze. CaU = mitohondrijski prijenosnik za Ca^{2+} , PT = mitohondrijska PT pora, m K^+ = mitohondrijski K^+ .

ci; u suvišku uzrokuju oštećenje miokarda (15, 16), dok su male količine ROS-a sastavni dio različitih signalnih putova (17). Malo povećanje ROS-a događa se tijekom faze prekondicioniranja, te ako se smanji primjenom antioksidanta, zaštitni učinak prekondicioniranja, biva poništen (18,19,20). Ti podatci pokazuju da osim što mogu oštetiti stanicu, ROS mogu imati i korisnu ulogu poticanjem zaštitnih mehanizama.

Jedna od funkcija mitohondrija je i regulacija ionske homeostaze stanice. Unutrašnja mitohondrijska membrana sadrži velik broj ionskih kanala i izmjenjivača gdje se događa vrlo živa izmjena iona koju u najvećoj mjeri pokreće izrazito negativan membranski potencijal mitohondrija ($\Delta\psi_m$) (21, 22). Ti procesi pomažu u

održavanju ionske ravnoteže u stanici, ali su i važan regulator funkcije mitohondrija (23,24,25). Zbog moguće povezanosti s kardioprotektivnim mehanizmima mitohondrijski kationski kalijevi kanali (mito K_{ATP} , mito K_{Ca} and mito $K_{v1.3}$), potaknuli su zanimanje znanstvenika u posljednje vrijeme (26,27,28,29,30,31,32). Mitohondrijski kalcijev prijenosnik (CaU, prema eng., Ca^{2+} uniporter) glavni je put ulaska Ca^{2+} u mitohondrije, kako u fiziološkim tako i u patološkim stanjima (33, 34,35).

Konačno, mitohondriji imaju važnu ulogu u mehanizmima programirane stanične smrti (apoptoze). Tijekom stanja stresa, povećanje unutarstaničnoga Ca^{2+} može uzrokovati povećanje

mitohondrijskoga Ca^{2+} (mCa^{2+}), što zajedno s prekomjernim stvaranjem ROS-a, potiče otvaranje mitohondrijske PT (PT, prema eng., *permeability transition*) pore i otpuštanje citokroma c, što uzrokuje apoptozu (36, 37). Stoga, iako kontrolirani utok Ca^{2+} u mitohondrije potiče respiraciju povećanjem aktivnosti enzima, (23, 24, 38) prekomjerno nakupljanje mCa^{2+} uzrokuje otvaranje mitohondrijske PT pore što može potaknuti staničnu smrt. S obzirom na opisane funkcije mitohondrija u normalnoj staničnoj fiziologiji te u uvjetima staničnog stresa, važno je objasniti kako inhalacijski anestetici mijenjaju bioenergetiku mitohondrija, homeostazu iona i proizvodnju ROS-a.

Mitohondrijska PT pora. Otvaranje mitohondrijske PT pore označava proces u kojemu se γQ_m naglo smanjuje zbog povećanja mCa^{2+} i oksidacijskoga oštećenja, što uzrokuje smrt stanica apoptozom ili nekrozom. Mitohondrijsku PT poru prvi su opisali Haworth i Hunther (39,40,41). Otvaranje mitohondrijske PT pore potiču: povećani mCa^{2+} , anorganski fosfat, ROS, masne kiseline, a inhibiraju je Mg^{2+} , ciklosporin A, adeninski nukleotidi i niski pH. **Pogreška! Nevaljana veza.** Uvjeti koji potiču otvaranje PT pore odgovaraju onima koji su prisutni tijekom reoksigenacije miokarda. Molekularna građa mitohondrijske PT pore još je predmet aktivne rasprave. Smatra se da mitohondrijsku PT poru izgrađuju anionski kanal ovisan o naponu (VDAC, prema eng., *voltage dependent anion channel*) smješten u vanjskoj mitohondrijskoj membrani, premještač adeninskih nukleotida (ANT, prema eng., *adenine nucleotide translocase*) smješten u unutarnjoj mitohondrijskoj membrani i ciklofilin-D koji se nalazi u mitohondrijskom matriksu (42). Međutim, uloga VDAC-a i ANT-a u tvorbi mitohondrijske PT pore sve je više dvojbena (43).

Uloga mitohondrijske PT pore u zaštiti miokarda prekondicioniranjem. Novija su istraživanja pokazala da mitohondrijska PT pora ima ključnu ulogu u kardioprotekciji te da ishemijsko i farmakološko prekondicioniranje i postkondicioniranje inhibiraju otvaranje mitohondrijske PT pore (44, 45). U izoliranim miocitima, inhibitori PT pore ciklosporin A i N-metil-4-valin-ciklosporin A produljili su vrijeme potrebno za otvaranje pore tijekom oksidacijskoga stresa koji je uzrokovan laserom. Pokazano je da mitohondriji izolirani iz srca kunića nakon prekondicioniranja desfluranom imaju povećanu otpornost na otvaranje mitohondrijske PT pore uzrokovano Ca^{2+} (11). Inhibiranje otvaranja mitohondrijske PT pore ciklosporinom A poboljšava prekondicioniranje izofluranom (46) i ishemijsko postkondicioniranje (47,48,49). Unatoč tim otkrićima, molekularni mehanizmi regulacije mitohondrijske PT pore uglavnom su nepoznati. U preliminarnim studijama pokazali smo da su mitohondriji izolirani iz srca prekondicioniranih štakora otporniji na otvaranje mitohondrijske PT pore potaknuto Ca^{2+} . Nadalje, inhibiranje ključnih staničnih enzima poništava zaštitne učinke APC na mitohondrijsku PT poru. Stoga, naši podatci pokazuju da je mitohondrijska PT pora važan cilj u kardioprotekciji tijekom ishemijske i reperfuzije. Vjerujemo da su razlike u otvaranju mitohondrijske PT pore središnji čimbenik u mnogim fenotipskim razlikama uzrokovanim kratkotrajnom izlaganju inhalacijskim anestetecima.

Svojstva VDAC-a i ANT-a. VDAC, poznat još kao porin u kvasaca, ima maksimalnu vodljivost od ~600 pS u 150 mM KCl, a djelomičnu (eng., *subconductance*) pri vrijednostima između

50 i 300 pS kada se kanal otvara i zatvara (eng., *gating*). Potpuno je otvoren pri 10 mV, a nalazi se u zatvorenom stanju pri negativnijim ili pozitivnijim naponima (50). VDAC izravno inhibiraju: Bcl-2 (51), heksokinaza II, protein-kinaza C (52), protein-kinaza A (53) i c-Raf kinaze (54). Königov polianion i DIDS također na nespecifičan način inhibiraju VDAC, a specifičnije ga inhibira antisens Bcl-2 fosforotioat oligodeoksiribonukleotid, G3139 (55). ANT formira veliki kanal vodljivosti 900 pS u 150 mM KCl pri visokim koncentracijama Ca^{2+} . Inhibiraju ga ciklosporin A i bongkrekična kiselina, a aktivira atraktilozid (56, 57). Ciklofilin-D je imunofilin koji je vezan za ANT u unutarnjoj mitohondrijskoj membrani. On je ciljno mjesto djelovanja imunosupresiva ciklosporina A, koji inhibira stvaranje mitohondrijske PT pore i smanjuje ishemijsko reperfuzijsku ozljedu. U modelu ciklofilin-D knockout miša, nađena je povećana otpornost na I/R ozljedu koja je po veličini bila slična onoj u normalnoga miša koji je bio tretiran ciklosporinom A (58). Ipak, veličina apoptoze potaknute proapoptotičnom Bcl-2 porodicom proteina nije bila izmijenjena.

K_{ATP} kanali. Sarkolemalni ATP-osjetljivi K ($\text{sarkK}_{\text{ATP}}$) kanali predstavljaju jedinstvenu skupinu kanala koji su poglavito regulirani metaboličkim stanjem stanice (59). Tijekom metaboličkih promjena, kao što je I/R, $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$ otvaraju se i pomažu u održavanju stanične homeostaze. Ti zaštitni učinci otvaranja $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$ pripisuju se smanjenju depolarizacije membrane, skraćenju akcijskoga potencijala i smanjenju štetnoga nakupljanja Ca^{2+} (60, 61). Već se dugo vremena $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$ smatraju važnim medijatorima u prekondicioniranju (62,63,64). U pokusima na srcima pasa, inhibicija $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$ kanala specifičnim inhibitorom HMR-1098 poništava je zaštitu miokarda potaknutu prekondicioniranjem s desfluranom (65). Naše su studije pokazale kako je aktivacija $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$ krajnji činitelj koji značajno doprinosi zaštiti izoliranih kardiomiocita s anestetecima (66,67,68). Također, pokazali smo dugotrajnu modulaciju $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$ nakon kratkotrajnoga izlaganja izofluranu, što odgovara memorijskoj fazi APC-a (69). Nadalje, otkriveno je da izofluran potiče otvaranje $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$, učinak koji je trajao nekoliko sati nakon APC-a i koji je bio posljedica smanjene osjetljivosti $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$ na ATP (70). Suprotno tome, druge studije pokazale su kako HMR-1098 nema utjecaja na zaštitu APC-om i kako $\text{sarkK}_{\text{ATP}}$ nisu uključeni u APC (71,72,73,74,75).

Slobodni radikali kisika (ROS). Tijekom teške I/R ozljede povećava se stvaranje ROS-a i prekomjerno nakupljanje mCa^{2+} . Oba zbivanja potiču otvaranje PT pore što uzrokuje depolarizaciju γQ_m , inhibiciju stvaranja ATP-a, bubrenje mitohondrija, dodatno stvaranje ROS-a i daljnje nakupljanje mCa^{2+} . Zajednički je učinak navedenih promjena disfunkcija mitohondrija (35, 76, 77). Međutim, istraživanja su pokazala da male koncentracije ROS-a koje se stvaraju tijekom I/R oštećenja pokreću niz signalnih molekula koje sudjeluju u očuvanju mitohondrijske cjelovitosti te očuvanju miokarda općenito (78, 79). Prekondicioniranje anestetecima, na primjer, uzrokuje stvaranje malih količina ROS-a koje su se pokazale bitnima za djelovanje niza signalnih molekula uključenih u prekondicioniranje. Istraživanja provedena u našem laboratoriju pokazala su da se ta vrsta kardioprotektivnoga odgovora može blokirati primjenom antioksidanata. Smatra se kako ograničeno poticanje stvaranja

ROS-a potiče zaštitne signalne putove koji ostaju aktivirani i nakon primjene anestetika (72, 80, 81).

Dušikov oksid (NO). Male koncentracije endogeno stvorenoga NO-a i NO-donora (<1 μM) imaju zaštitno djelovanje na mitohondrije u zbivanjima poput I/R ozljede. Suprotno tome, pokazano je da veće koncentracije NO-a (>5 μM) uzrokuju otvaranje PT pore (82). Klasični put djelovanja NO-a uključuje ciklički GMP i protein-kinazu G, koji pridonosi otvaranju mitohondrijskih K_{ATP} kanala, (83), ekspresiji mitohondrijskih redoks i signalnih proteina i inhibiciji PT pore (84). Također, smatra se da NO izravno djeluje na transportni lanac elektrona, te na taj način preko reverzibilne inhibicije ulaska elektrona u kompleks IV i vjerojatno putem stvaranja malih količina ROS-a potiče djelovanje niza molekula koje imaju kardioprotektivni učinak. Međutim, doprinos navedenih čimbenika u kardioprotekciji je sporan i još nedovoljno istražen. Ipak, čini se da je transportni lanac elektrona mjesto na kojem anestetici imaju izravni učinak ili učinak ovisan o NO-u, što nadalje može kontrolirati stvaranje mitohondrijskoga ROS-a, nakupljanje mCa^{2+} i otvaranje PT pore. Bitno je dalje istražiti može li stvaranje NO-a potaknuto anestetici *in vivo* potaknuti stvaranje ROS-a koji je nužan za početak prekondicioniranja i koji su signalni putovi stimulirani djelovanjem NO-a.

Prekondicioniranje anestetici i šećerna bolest. Šećerna je bolest važan rizični čimbenik za kardiovaskularne bolesti (85), iako odgovorni mehanizmi nisu u potpunosti razjašnjeni. Dijabetes i hiperglikemija povećavaju stvaranje ROS-a (86,87,88), smanjuju dostupnost NO-a (89), narušavaju funkciju endotela (90, 91) i slabe reaktivnost koronarne mikrocirkulacije tijekom ishemije miokarda (92). Istraživanja u našem laboratoriju upućuju da dijabetes izrazito oslabljuje prijenos kardioprotektivnih signala. Dijabetes ili aktivna hiperglikemija poništavaju smanjenje veličine infarkta kao odgovor na APC (93, 94), ishemijsko (95-97) ili farmakološko prekondicioniranje (95, 98), a veličina infarciranoga područja izravno je povezana s koncentracijom glukoze u krvi. I dok je dijabetes značajan čimbenik koji povećava perioperativni rizik, mali broj studija istražio je postupke kojima se taj rizik može smanjiti. Jedan od pristupa jest agresivna kontrola koncentracije glukoze u krvi inzulinom, ali su povoljni učinci tog postupka upitni i vjerojatno je da inzulin sam ne može značajno poboljšati kardiovaskularni ishod u dijabetičnih bolesnika. Potrebno je pronaći nove metode koje će smanjiti teške komplikacije u kirurških bolesnika koje sa sobom nosi dijabetes, a određivanje mehanizama kojima dijabetes poništava APC važan je korak u tom procesu.

ZAKLJUEAK

Prekondicioniranje inhalacijskim anestetici važno je i klinički značajno. Sadašnje spoznaje pokazuju da APC može potaknuti kardioprotektivne mehanizme i učiniti miokard otpornim na I/R ozljedu tijekom duljega vremena. Budući da se ishemija i reperfuzija pojavljuju tijekom različitih kliničkih stanja kao što su ova: transplantacijska kirurgija, ugradnja koronarne prijemosnice, zamjena srčanih zalistaka i tijekom vaskularne kirurgije, APC predstavlja obećavajući način zaštite miokarda u takvim terapijskim postupcima. Ipak, potrebno je provesti nove studije koje bi mogle pokazati koji su mehanizmi ključni za kardioprotekciju, te kako se APC može najučinkovitije primijeniti u kliničkoj praksi.

LITERATURA

1. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasche P. Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation*. 1999;100(19 Suppl):II340-4.
2. De Hert SG, Turani F, Mathur S, Stowe DF. Cardioprotection with volatile anesthetics: mechanisms and clinical implications. *Anesth Analg*. 2005;100(6):1584-93.
3. Tomai F, De Paulis R, Penta de Peppo A, Colagrande L, Caprara E, Polisca P, i sur. Beneficial impact of isoflurane during coronary bypass surgery on troponin I release. *G Ital di Cardiol*. 1999;29(9):1007-14.
4. Zaugg M, Lucchinetti E, Garcia C, Pasch T, Spahn DR, Schaub MC. Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part II. Clinical implications. *Br J Anaesth*. 2003;91(4):566-76.
5. Zaugg M, Lucchinetti E, Uecker M, Pasch T, Schaub MC. Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms. *Br J Anaesth* 2003;91(4):551-65.
6. Fleisher LA, Beckman JA, Brown KA, Calkins H, Chaikof EL, Fleischmann KE, i sur. ACC/AHA 2007 guidelines on perioperative cardiovascular evaluation and care for noncardiac surgery: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines on Perioperative Cardiovascular Evaluation for Noncardiac Surgery) developed in collaboration with the American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Rhythm Society, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, and Society for Vascular Surgery. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(17):e159-241.
7. Shanmuganathan S, Hausenloy DJ, Duchon MR, Yellon DM. Mitochondrial permeability transition pore as a target for cardioprotection in the human heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(1):H237-42.
8. Cason BA, Gamperi AK, Slocum RE, Hickey RF. Anesthetic-induced preconditioning. *Anesthesiology*. 1997;87(5):1182-90.
9. Kersten JR, Schmelting TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K_{ATP} channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology*. 1997;87:361-70.
10. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36.
11. Priou V, Chiari P, Gateau-Roesch O, Argaud L, Muntean D, Salles D, i sur. Desflurane-induced preconditioning alters calcium-induced mitochondrial permeability transition. *Anesthesiology*. 2004;100(3):581-8.
12. Ljubkovic M, Mio Y, Marinovic J, Stadnicka A, Warltier DC, Bosnjak ZJ, et al. Isoflurane preconditioning uncouples mitochondria and protects against hypoxia-reoxygenation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007;292(5):C1583-90.
13. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature*. 1961;191:144-8.
14. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003;552(Pt 2):335-44.
15. Ambrosio G, Zweier JL, Duilio C, Kuppusamy P, Santoro G, Elia PP, i sur. Evidence that mitochondrial respiration is a source of potentially toxic oxygen free radicals in intact rabbit hearts subjected to ischemia and reflow. *J Biol Chem* 1993;268(25):18532-41.
16. Lesnefsky EJ, Moghaddas S, Tandler B, Kerner J, Hoppel CL. Mitochondrial dysfunction in cardiac disease: ischemia-reperfusion, aging, and heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33(6):1065-89.
17. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47-95.
18. Kevin LG, Camara AK, Riess ML, Novalija E, Stowe DF. Ischemic preconditioning alters real-time measure of O2 radicals in intact hearts with ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;284(2):H566-74.
19. Lebuffe G, Schumacker PT, Shao ZH, Anderson T, Iwase H, Vanden Hoek TL. ROS and NO trigger early preconditioning: relationship to mitochondrial KATP channel. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;284(1):H299-308.
20. Tanaka K, Weihrauch D, Kehl F, Ludwig LM, LaDisa JF, Jr., Kersten JR, i sur. Mechanism of preconditioning by isoflurane in rabbits: a direct

- role for reactive oxygen species. *Anesthesiology*. 2002;97(6):1485-90.
21. O'Rourke B. Myocardial K ATP channels in preconditioning. *Circ Res*. 2000;87:845-55.
 22. O'Rourke B. Mitochondrial ion channels. *Annu Rev Physiol*. 2007;69:19-49.
 23. Denton RM, Randle PJ, Martin BR. Stimulation by calcium ions of pyruvate dehydrogenase phosphate phosphatase. *Biochem J*. 1972;128(1):161-3.
 24. McCormack JG, Denton RM. The effects of calcium ions and adenine nucleotides on the activity of pig heart 2-oxoglutarate dehydrogenase complex. *Biochem J*. 1979;180(3):533-44.
 25. Garlid KD, Paucek P. Mitochondrial potassium transport: the K(+) cycle. *Biochim Biophys Acta*. 2003;1606(1-3):23-41.
 26. Fryer RM, Hsu AK, Gross GJ. Mitochondrial K(ATP) channel opening is important during index ischemia and following myocardial reperfusion in ischemic preconditioned rat hearts. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33(4):831-4.
 27. Ohnuma Y, Miura T, Miki T, Tanno M, Kuno A, Tsuchida A, i sur. Opening of mitochondrial K(ATP) channel occurs downstream of PKC-epsilon activation in the mechanism of preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283(1):H440-7.
 28. Pain T, Yang XM, Critz SD, Yue Y, Nakano A, Liu GS, i sur. Opening of mitochondrial K(ATP) channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circ Res*. 2000;87(6):460-6.
 29. Shintani Y, Node K, Asanuma H, Sanada S, Takashima S, Asano Y, i sur. Opening of Ca2+-activated K+ channels is involved in ischemic preconditioning in canine hearts. *J Mol Cell Cardiol*. 2004;37(6):1213-8.
 30. Xu W, Liu Y, Wang S, McDonald T, Van Eyk JE, Sidor A, i sur. Cytoprotective role of Ca2+-activated K+ channels in the cardiac inner mitochondrial membrane. *Science* 2002;298(5595):1029-33.
 31. Stowe DF, Aldakkak M, Camara AKS, Riess ML, Heinen A, Varadarajan SG, Jiang MT. Cardiac mitochondrial preconditioning by big Ca2+-sensitive K+ channel opening requires superoxide radical generation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290:H434-40.
 32. Ljubkovic M, Shi Y, Cheng Q, Bosnjak Z, Jiang MT. Cardiac mitochondrial ATP-sensitive potassium channel is activated by nitric oxide in vitro. *FEBS Lett*. 2007;581(22):4255-9.
 33. Di Lisa F, Bernardi P. Mitochondrial function as a determinant of recovery or death in cell response to injury. *Mol Cell Biochem*. 1998;184(1-2):379-91.
 34. Duchen MR. Mitochondria and Ca(2+) in cell physiology and pathophysiology. *Cell Calcium*. 2000;28(5-6):339-48.
 35. Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders MW, Sheu SS. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004;287(4):C817-33.
 36. Scorrano L, Ashiya M, Buttle K, Weiler S, Oakes SA, Mannella CA, i sur. A distinct pathway remodels mitochondrial cristae and mobilizes cytochrome c during apoptosis. *Dev Cell*. 2002;2(1):55-67.
 37. Honda HM, Ping P. Mitochondrial permeability transition in cardiac cell injury and death. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2006;20(6):425-32.
 38. Eng J, Lynch RM, Balaban RS. Nicotinamide adenine dinucleotide fluorescence spectroscopy and imaging of isolated cardiac myocytes. *Biophys J*. 1989;55(4):621-30.
 39. Haworth RA, Hunter DR. The Ca2+-induced membrane transition in mitochondria. II. Nature of the Ca2+ trigger site. *Arch Biochem Biophys*. 1979;195(2):460-7.
 40. Hunter DR, Haworth RA. The Ca2+-induced membrane transition in mitochondria. I. The protective mechanisms. *Arch Biochem Biophys*. 1979;195(2):453-9.
 41. Hunter DR, Haworth RA. The Ca2+-induced membrane transition in mitochondria. III. Transitional Ca2+ release. *Arch Biochem Biophys*. 1979;195(2):468-77.
 42. Halestrap A. Biochemistry: a pore way to die. *Nature*. 2005;434(7033):578-9.
 43. Baines CP, Kaiser RA, Sheiko T, Craigen WJ, Molckentin JD. Voltage-dependent anion channels are dispensable for mitochondrial-dependent cell death. *Nat Cell Biol*. 2007;9(5):550-5.
 44. Hausenloy DJ, Maddock HL, Baxter GF, Yellon DM. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning? *Cardiovasc Res*. 2002;55(3):534-43.
 45. Hausenloy DJ, Yellon DM, Mani-Babu S, Duchen MR. Preconditioning protects by inhibiting the mitochondrial permeability transition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287(2):H841-9.
 46. Krolikowski JG, Bienengraeber M, Weihrauch D, Warltier DC, Kersten JR, Pagel PS. Inhibition of mitochondrial permeability transition enhances isoflurane-induced cardioprotection during early reperfusion: the role of mitochondrial KATP channels. *Anesth Analg* 2005;101(6):1590-6.
 47. Gateau-Roesch O, Argaud L, Ovize M. Mitochondrial permeability transition pore and postconditioning. *Cardiovasc Res*. 2006;70(2):264-73.
 48. Hausenloy DJ, Yellon DM. Survival kinases in ischemic preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res*. 2006;70(2):240-53.
 49. Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Postconditioning: reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovasc Res*. 2006;70(2):200-11.
 50. Rostovtseva T, Colombini M. VDAC channels mediate and gate the flow of ATP: implications for the regulation of mitochondrial function. *Biophys J*. 1997;72(5):1954-62.
 51. Tsujimoto Y, Shimizu S. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. *Apoptosis*. 2007;12(5):835-40.
 52. Baines CP, Song CX, Zheng YT, Wang GW, Zhang J, Wang OL, i sur. Protein kinase Cepsilon interacts with and inhibits the permeability transition pore in cardiac mitochondria. *Circ Res*. 2003;92(8):873-80.
 53. Bera AK, Ghosh S. Dual mode of gating of voltage-dependent anion channel as revealed by phosphorylation. *J Struct Biol*. 2001;135(1):67-72.
 54. Bathori G, Csordas G, Garcia-Perez C, Davies E, Hajnoczky G. Ca2+-dependent control of the permeability properties of the mitochondrial outer membrane and voltage-dependent anion-selective channel (VDAC). *J Biol Chem*. 2006;281(25):17347-58.
 55. Lai JC, Tan W, Benimetskaya L, Miller P, Colombini M, Stein CA. A pharmacologic target of G3139 in melanoma cells may be the mitochondrial VDAC. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(19):7494-9.
 56. Brustovetsky N, Klingenberg M. Mitochondrial ADP/ATP carrier can be reversibly converted into a large channel by Ca2+. *Biochemistry*. 1996;35(26):8483-8.
 57. Brustovetsky N, Tropschug M, Heimpel S, Heidkamper D, Klingenberg M. A large Ca2+-dependent channel formed by recombinant ADP/ATP carrier from *Neurospora crassa* resembles the mitochondrial permeability transition pore. *Biochemistry*. 2002;41(39):11804-11.
 58. Baines CP, Kaiser RA, Purcell NH, Blair NS, Osinska H, Hambleton MA, i sur. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature*. 2005;434(7033):658-62.
 59. Noma A. ATP-regulated K+ channels in cardiac muscle. *Nature*. 1983;305:147-148.
 60. Baczko I, Giles WR, Light PE. Pharmacological activation of plasma-membrane KATP channels reduces reoxygenation-induced Ca(2+) overload in cardiac myocytes via modulation of the diastolic membrane potential. *Br J Pharmacol*. 2004;141(6):1059-67.
 61. Rainbow RD, Lodwick D, Hudman D, Davies NW, Norman RI, Standen NB. SUR2A C-terminal fragments reduce KATP currents and ischaemic tolerance of rat cardiac myocytes. *J Physiol*. 2004;557(Pt 3):785-94.
 62. Bienengraeber MW, Weihrauch D, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC. Cardioprotection by volatile anesthetics. *Vasc Pharmacol*. 2005;42(5-6):243-52.
 63. Pratt PF, Jr., Wang C, Weihrauch D, Bienengraeber MW, Kersten JR, Pagel PS, i sur. Cardioprotection by volatile anesthetics: new applications for old drugs? *Curr Opin Anaesthesiol*. 2006;19(4):397-403.
 64. Stadnicka A, Marinovic J, Ljubkovic M, Bienengraeber MW, Bosnjak ZJ. Volatile anesthetic-induced cardiac preconditioning. *J Anesth*. 2007;21(2):212-9.
 65. Toller WG, Gross ER, Kersten JR, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate - dependent potassium channels. *Anesthesiology*. 2000;92:1731-9.
 66. Marinovic J, Bosnjak ZJ, Stadnicka A. Distinct roles for sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in isoflurane-induced protection against oxidative stress. *Anesthesiology*. 2006;105(1):98-104.
 67. Marinovic J, Ljubkovic M, Stadnicka A, Bosnjak ZJ, Bienengraeber M. Role of sarcolemmal ATP-sensitive potassium channel in oxidative stress-induced apoptosis: mitochondrial connection. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294(3):H1317-25.
 68. Mio Y, Bienengraeber MW, Marinovic J, Gutterman DD, Rakic M, Bosnjak ZJ, i sur. Age-related attenuation of isoflurane preconditioning in human atrial cardiomyocytes: roles for mitochondrial respiration and sarcolemmal adenosine triphosphate-sensitive potassium channel activ-

- ity. *Anesthesiology*. 2008;108(4):612-20.
69. Marinovic J, Bosnjak ZJ, Stadnicka A. Preconditioning by isoflurane induces lasting sensitization of the cardiac sarcolemmal adenosine triphosphate-sensitive potassium channel by a protein kinase C-delta-mediated mechanism. *Anesthesiology*. 2005;103(3):540-7.
70. Stadnicka A, Marinovic J, Bienengraeber M, Bosnjak ZJ. Impact of in vivo preconditioning by isoflurane on adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the rat heart: lasting modulation of nucleotide sensitivity during early memory period. *Anesthesiology*. 2006;104(3):503-10.
71. Hanouz JL, Zhu L, Persehaye E, Massetti M, Babatasi G, Khayat A, i sur. Ketamine preconditions isolated human right atrial myocardium: roles of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and adrenoceptors. *Anesthesiology*. 2005;102(6):1190-6.
72. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Schaub MC. Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K(ATP) channels via multiple signaling pathways. *Anesthesiology*. 2002;97(1):4-14.
73. Uecker M, Da Silva R, Grampp T, Pasch T, Schaub MC, Zaugg M. Translocation of protein kinase C isoforms to subcellular targets in ischemic and anesthetic preconditioning. *Anesthesiology*. 2003;99(1):138-47.
74. Hanouz JL, Yvon A, Massetti M, Lepage O, Babatasi G, Khayat A, i sur. Mechanisms of desflurane-induced preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesthesiology*. 2002;97(1):33-41.
75. Yvon A, Hanouz JL, Haelewyn B, Terrien X, Massetti M, Babatasi G, i sur. Mechanisms of sevoflurane-induced myocardial preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesthesiology*. 2003;99(1):27-33.
76. Nadtochiy SM, Tompkins AJ, Brookes PS. Different mechanisms of mitochondrial proton leak in ischaemia/reperfusion injury and preconditioning: implications for pathology and cardioprotection. *Biochem J*. 2006;395(3):611-8.
77. Weiss JN, Korge P, Honda HM, Ping P. Role of the mitochondrial permeability transition in myocardial disease. *Circ Res*. 2003;93(4):292-301.
78. Kevin LG, Novalija E, Riess ML, Camara AK, Rhodes SS, Stowe DF. Sevoflurane exposure generates superoxide but leads to decreased superoxide during ischemia and reperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg*. 2003;96(4):949-55.
79. Lisa FD, Canton M, Menabo R, Kaludercic N, Bernardi P. Mitochondria and cardioprotection. *Heart Fail Rev*. 2007;12(3-4):249-60.
80. Ludwig LM, Weihrauch D, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC. Protein kinase C translocation and Src protein tyrosine kinase activation mediate isoflurane-induced preconditioning in vivo: potential downstream targets of mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and reactive oxygen species. *Anesthesiology*. 2004;100(3):532-9.
81. Stadnicka A, Kwok WM, Warltier DC, Bosnjak ZJ. Protein tyrosine kinase-dependent modulation of isoflurane effects on cardiac sarcolemmal K(ATP) channel. *Anesthesiology*. 2002;97(5):1198-208.
82. Brookes PS, Salinas EP, Darley-Usmar K, Eiserich JP, Freeman BA, Darley-Usmar VM, i sur. Concentration-dependent effects of nitric oxide on mitochondrial permeability transition and cytochrome c release. *J Biol Chem*. 2000;275(27):20474-9.
83. Costa AD, Garlid KD, West IC, Lincoln TM, Downey JM, Cohen MV, i sur. Protein kinase G transmits the cardioprotective signal from cytosol to mitochondria. *Circ Res*. 2005;97(4):329-36.
84. Kim JS, Ohshima S, Padiaditakis P, Lemasters JJ. Nitric oxide: a signaling molecule against mitochondrial permeability transition - and pH-dependent cell death after reperfusion. *Free Radic Biol Med*. 2004;37(12):1943-50.
85. Grundy SM, Benjamin EJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, i sur. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 1999;100(10):1134-46.
86. Diederich D, Skopec J, Diederich A, Dai FX. Endothelial dysfunction in mesenteric resistance arteries of diabetic rats: role of free radicals. *Am J Physiol*. 1994;266(3 Pt 2):H1153-61.
87. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, i sur. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. 2000;404(6779):787-90.
88. Tesfamariam B, Cohen RA. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am J Physiol*. 1992;263(2 Pt 2):H321-6.
89. Giugliano D, Marfella R, Coppola L, Verrazzo G, Acampora R, Giunta R, i sur. Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine. Evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. *Circulation*. 1997;95(7):1783-90.
90. Marfella R, Verrazzo G, Acampora R, La Marca C, Giunta R, Lucarelli C, i sur. Glutathione reverses systemic hemodynamic changes induced by acute hyperglycemia in healthy subjects. *Am J Physiol*. 1995;268(6 Pt 1):E1167-73.
91. Pieper GM, Meier DA, Hager SR. Endothelial dysfunction in a model of hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Am J Physiol*. 1995;269(3 Pt 2):H845-50.
92. Kersten JR, Brooks LA, Dellsperger KC. Impaired microvascular response to graded coronary occlusion in diabetic and hyperglycemic dogs. *Am J Physiol*. 1995;268(4 Pt 2):H1667-74.
93. Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Hyperglycemia prevents isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction. *Anesthesiology*. 2002;96(1):183-8.
94. Tanaka K, Kehl F, Gu W, Krolikowski JG, Pagel PS, Warltier DC, i sur. Isoflurane-induced preconditioning is attenuated by diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;282(6):H2018-23.
95. Kersten JR, Montgomery MW, Ghassemi T, Gross ER, Toller WG, Pagel PS, i sur. Diabetes and hyperglycemia impair activation of mitochondrial K(ATP) channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;280(4):H1744-50.
96. Kersten JR, Schmeling TJ, Orth KG, Pagel PS, Warltier DC. Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning in vivo. *Am J Physiol*. 1998;275(2 Pt 2):H721-5.
97. Kersten JR, Toller WG, Gross ER, Pagel PS, Warltier DC. Diabetes abolishes ischemic preconditioning: role of glucose, insulin, and osmolality. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;278(4):H1218-24.
98. Jamnicki-Abegg M, Weihrauch D, Chiari PC, Krolikowski JG, Pagel PS, Warltier DC, i sur. Diabetes abolishes sildenafil-induced cGMP-dependent protein kinase-I expression and cardioprotection. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2007;50(6):670-6.

ANESTHETIC-INDUCED CARDIAC PRECONDITIONING

Danijel Pravdić, Filip Sedlić, Ana Šepac, Željko J. Bošnjak
Department of Anaesthesiology, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA

ABSTRACT

Anesthetic preconditioning (APC) describes the protection of myocardium in ischemia and reperfusion injury obtained from applying volatile anesthetics before an ischemic event. Various intracellular kinases, mitochondrial and sarcolemmal ATP-sensitive K⁺ channels, and reactive oxygen species play a pivotal role in the signal transduction cascade in APC. The other cellular components involved in APC include but are not limited to: glycogen synthase kinase 3-beta, vascular endothelial growth factor, hypoxia inducible factor 1 alpha, nitric oxide synthase, and different intracellular kinases (e.g. protein tyrosine and protein serine-threonine kinases). Mitochondria are an integral part in the mechanism of cell death as well as cellular protection by preconditioning. Moreover, it has been suggested that APC reduces cardiomyocyte death through the inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening. This review article addresses current concepts and controversies regarding the specific roles of the mitochondria in cardioprotective signaling by volatile anesthetics.

Key words: anesthetic preconditioning, ischemia-reperfusion injury, mitochondria, reactive oxygen species, inhalational anesthetics