

# Niedokrwienie mięśnia sercowego w aspekcie jego zaburzeń metabolicznych

## Myocardial ischemia and metabolic disturbances of the myocardium

Robert Irzmański, Mariusz Piechota, Tomasz Cegliński,  
Jan Kowalski i Lucjan Pawlicki

Klinika Chorób Wewnętrznych i Rehabilitacji Kardiologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

W wysoko rozwiniętych krajach zachodnich dławica piersiowa otwiera listę schorzeń, które są główną przyczyną chorobowości całkowitej i z przyczyn sercowych [1, 2]. Na uwagę zasługuje fakt, że umieralności związanej z incydentami sercowo-naczyniowymi dorównuje jedynie umieralność spowodowana nowotworami złośliwymi [3]. Pomimo dynamicznego postępu, jaki osiągnięto zarówno w diagnostyce, jak i terapii choroby niedokrwiennej, wciąż pojawiają się nowe wyzwania, a nasza wiedza wydaje się nadal niewystarczająca. W ostatnich latach uwagę wielu badaczy zajmują zaburzenia metaboliczne towarzyszące ostremu niedokrwieniu mięśnia sercowego oraz w okresie jego restytucji po niedokrwieniu.

Przez niedokrwienie mięśnia sercowego rozumiemy zmniejszenie wieńcowego przepływu krwi. Stan ten wiąże się zatem z istotnym ograniczeniem zasadniczej roli układu krążenia w zakresie transportu do komórek serca tlenu oraz substratów energetycznych niezbędnych do podtrzymania procesów biologicznych. Najczęstszą przyczyną niedokrwienia jest miażdżycza tętnic wieńcowych, często wieloletnia, powodująca stopniowe ograniczanie przepływu w tętnicach nasierdziowych [4]. W naturalnym rozwoju ostrego niedokrwienia mięśnia sercowego ważną rolę odgrywa morfologia blaszki miażdżycowej [5]. Płytką z dużą zawartością płynnego cholesterolu i obecnością licznych komórek

zapalnych, odgraniczona od światła naczynia jedynie cienką błoną kolagenową, jest znacznie bardziej podatna na pęknięcie pod wpływem działania sił ścinających czy trawiących kolagen proteinaz niż płytka stabilna inkrustowana wapniem [6]. Pęknięcie tak zbudowanej blaszki miażdżycowej aktywuje proces trombogenezy w naczyniu wieńcowym [7], a tym samym rozpoczyna kaskadę zaburzeń metabolicznych w komórce mięśniowej, skutkujących ostrym deficytem czynników koniecznych do jej przeżycia.

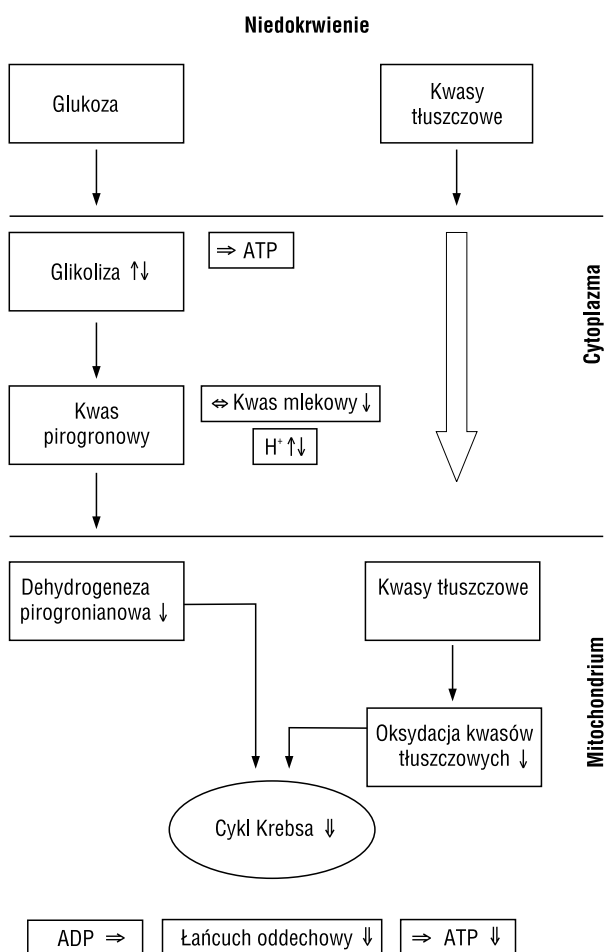
Klinicznym ekwiwalentem tych zaburzeń jest upośledzenie funkcji skurczowej mięśnia sercowego [8]. Do utrzymania prawidłowej kurczliwości serce musi bowiem bezustannie odtwarzać zapasy energii. Ta z kolei pochodzi z hydrolizy adenozynotrifosforanu (ATP). Wysokoenergetyczne reszty fosforanowe są efektem przemian węglowodanów i kwasów tłuszczowych, które nieprzerwanie zachodzą w komórce mięśniowej [9]. O przewadze jednego z substratów decyduje aktualny poziom zapotrzebowania na pracę mięśnia sercowego oraz dostępność tlenu. Katabolizm glukozy następuje na drodze glikolizy w cytoplazmie oraz mitochondrialnej oksydacji. W wyniku glikolizy dochodzi do rozpadu glukozy do pirogronianu z wytworzeniem niewielkiej ilości energii. Tych zaledwie kilka procent (5–10%) energii w stosunku do ogólnej puli komórkowego ATP wydaje się mieć kluczowe znaczenie w utrzymaniu endogennej równowagi jonowej, zwłaszcza w okresie zmniejszonej podaży tlenu [10]. Przeważająca część energii jest wytwarzana w mitochondriach [11]. Pirogronian, powstający w trakcie glikolizy, jest dekarboksylowany przy udziale dehydrogenazy pirogronianowej (PDH) do acetylokoenzymu A (acetylo-CoA). Ten ostatni zaś jest dalej metabolizowany w cyklu kwasów trójkarbo-

Adres do korespondencji: Dr med. Robert Irzmański  
Klinika Chorób Wewnętrznych i Rehabilitacji  
Kardiologicznej UM  
Pl. Hallera 1, 90–647 Łódź  
e-mail: robik03@mp.pl

Nadesłano: 16.04.2004 r.      Przyjęto do druku: 19.08.2004 r.

ksylowych (cyklu Krebsa) [12]. Alternatywnym źródłem acetylo-CoA jest utlenianie kwasów tłuszczowych w mitochondriach.

W procesie  $\beta$ -oksydacji tych kwasów powstają cząsteczki acetylo-CoA podlegające dalszemu utlenianiu w cyklu Krebsa [13]. Beta-oksydacja kwasów tłuszczowych jest źródłem zredukowanego dwunukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADH) oraz zredukowanego dwunukleotydu flawinoadeninowego (FADH<sub>2</sub>), które są wykorzystywane w łańcuchu przekazywania elektronów. Powstawanie redukujących równoważników jest niezbędne do przeniesienia elektronów przez cykl reakcji, naprzemiennie redukujących i utleniających, zakończony ucieczką protonów z mitochondriów. Łańcuch elektronowy przy udziale tlenu zapewnia fosforylację adenosynodwufosforanu (ADP, *adenosino-di-phosphoran*) do ATP, odnawiając tym samym zapasy energii [14] (ryc. 1).



**Rycina 1.** Zmiany metabolizmu komórki mięśnia sercowego spowodowane niedokrwieniem (opis w tekście)

**Figure 1.** Changes of cardiomyocytes metabolism ischemia induced (description in text)

Na uwagę zasługuje fakt, że pomimo wytwarzania mniejszej ilości ATP w procesie utleniania glukozy (20–40%) w porównaniu z utlenianiem kwasów tłuszczowych oksydacja węglowodanów wymaga mniejszej ilości tlenu. Istnienie mechanizmu konkurencyjnej dostępności acetylo-CoA, pochodzącego z obu źródeł, tj. utleniania glukozy i  $\beta$ -oksydacji, do cyklu Krebsa może limitować utlenianie glukozy, zwłaszcza przy nadprodukcji NADH [15]. W okresie niedokrwienia dynamiczna równowaga tego układu ulega zaburzeniu. To  $\beta$ -oksydacja staje się głównym donorem acetylo-CoA. Zmniejszone wykorzystanie glukozy powoduje, że przy prawidłowym przebiegu glikolizy w cytoplazmie komórki dochodzi do wzrostu stężenia jej produktów, tj. mleczanu i protonów. Eliminacja protonów w mechanizmie przezbłonowym wiąże się ze zmianą wewnątrzkomórkowej równowagi jonowej (wzrost stężenia sodu i wapnia) i jest procesem wymagającym nakładu energii [16]. Takie wykorzystanie ATP powoduje z kolei zmniejszenie kurczliwości kardiocytów, co staje się przyczyną upośledzenia globalnej funkcji skurczowej. Gwałtowne ograniczenie podaży tlenu w ostrym niedokrwieniu mięśnia sercowego powoduje zmniejszenie utleniania zarówno glukozy, jak i kwasów tłuszczowych. W tym okresie glikoliza jest głównym źródłem ATP. Jednocześnie w krwi obwodowej zwiększa się stężenie wolnych kwasów tłuszczowych (FFA, *free fatty acid*) uwalnianych z tkanki tłuszczowej pod wpływem katecholamin. Przedłużające się niedokrwienie powoduje stopniowe wyczerpywanie endogennego glikogenu. Przy nadmiernej podaży FFA i szcążkowym metabolizmie tlenowym zaczyna przeważać utlenianie kwasów tłuszczowych [17]. Oksydacja kwasów tłuszczowych jest jednak procesem mniej wydajnym. Do wytworzenia tej samej ilości ATP potrzeba bowiem około 10% tlenu więcej niż podczas spalania glukozy. W niedokrwionym mięśniu sercowym proces utleniania kwasów tłuszczowych pozostaje głównym źródłem energii. Takie przestrojenie metabolizmu powoduje szybsze wyczerpywanie i tak już ubogich zapasów tlenu oraz zmniejszoną produkcję ATP, która nie może zapewnić prawidłowej czynności kardiocyta. Brak radykalnej poprawy w zakresie podaży tlenu do mięśnia sercowego skutkuje najczęściej jego nieodwracalnym uszkodzeniem. Przywrócenie przepływu krwi w naczyniach wieńcowych nie jest równoznaczne z jednoczesną normalizacją metabolizmu. Reperfuzja zwiększa bowiem aktywność kompleksu enzymatycznego związanego z karnityną, który jest odpowiedzialny za transport kwasów tłuszczowych do mitochondriów [18, 19]. Aktywność tego komplek-

su oraz zwiększona podaż FFA w krwi obwodowej wzmagają tempo oksydacji tych ostatnich, przyczyniając się tym samym do marginalizacji utleniania glukozy. Paradoksalnie więc po reperfuzji niekoniernie musi powrócić prawidłowa czynność niedokrwionego uprzednio obszaru mięśnia sercowego. Upośledzenie kurczliwości wiąże się także z przemijającą dysfunkcją miofilamentów. W krótkotrwałym niedokrwieniu dochodzi bowiem do częściowej proteolizy elementów kurczliwych. Reperfuza generuje duże ilości wolnych rodników tlenowych, które modyfikują własności sarkolemy poprzez peroksydację lipidów błony komórkowej [20]. W konsekwencji sarkolemy zwiększa swoją przepuszczalność dla jonów wapnia [21]. Nadmiar tych ostatnich aktywuje enzymy proteolityczne odpowiedzialne za powstawanie mikrouszkodzeń w obrębie elementów kurczliwych. Są one odwracalne, a ich naprawa jest jeszcze możliwa i stopniowo postępuje. Obserwowano istotne rozprężenie pomiędzy obniżoną siłą skurczu generowaną przez mięsień a wysokim stężeniem wapnia endogenne w tym okresie [22]. Wydaje się, że zwiększona ekspresja genów kodujących białka wiążące wapń, np. SERCA (*Sarco-Endoplasmic Retikulum Calcium ATP-ase*) czy fosfolambanu, wskazuje na istotną rolę zjonizowanego wapnia w skutecznym opóźnieniu powrotu prawidłowej czynności skurczowej mięśnia sercowego po przemijającym niedokrwieniu [23, 24]. Jednocześnie towarzyszące niedokrwieniu uszkodzenie miofilamentów zmniejsza ich wrażliwość na wapń. Opisane zaburzenia dotyczą serca ogłuszonego. Termin ten został po raz pierwszy zastosowany przez Heyndricksa i dotyczy osłabienia kurczliwości mięśnia sercowego wynikającego z gwałtownego zamknięcia tętnicy wieńcowej, trwającego jednak na tyle krótko, że nie powoduje ono nieodwracalnego uszkodzenia kardiocytów [25]. Bardziej złożoną sytuacją jest tzw. zamrożenie mięśnia sercowego. Pojęcie to wprowadził Rahimtoola, opisując zmiany w mięśniu, związane z przewlekłym niedokrwieniem [26]. Jednak pytanie, czy zaburzenia towarzyszące zamrożeniu bardziej wiążą się z przewlekającym się w czasie ograniczeniem przepływu wieńcowego, czy też z powtarzającymi się incydentami jego ogłuszenia, wydaje się nadal aktualne [27, 28]. U chorych z wieloletnim wywiadem w kierunku choroby wieńcowej i zaburzeniami kurczliwości o charakterze akinezy w badaniu echokardiograficznym po reperfuzji obserwowano zmniejszenie stopnia tych zaburzeń lub ich całkowite ustąpienie [29]. Akinetyczne segmenty miokardium najczęściej nie różnią się znacznie od tych, które są wynikiem dokonanego zawału serca. Jednak

w trakcie próby dobutaminowej echokardiografia wykazuje poprawę kurczliwości segmentów zamrożonych, a kontynuacja wlewu dobutaminy powoduje odpowiedź dwufazową mięśnia, z przywróceniem akinezy włącznie [30]. Osłabienie czynności skurczowej zamrożonego mięśnia sercowego jest następstwem nie tyle niedoborów energetycznych, ile wyrazem jego adaptacji do długotrwałego spadku produkcji ATP związanego z przewlekłą hipoperfuzyją. Krytyczne zmniejszenie kurczliwości z całkowitym wyłączeniem czynności niedokrwionego segmentu mięśnia sercowego jest związane z dramatycznym dążeniem do utrzymania kardiocytów przy życiu [31]. Taki stan może trwać przez długi czas. Pojawiają się zmiany ultrastrukturalne w postaci utraty miofilamentów czy zwiększenia obecności małych mitochondriów. Struktura kardiocyta zaczyna przypominać strukturę komórki płodowej [32]. Niedokrwione segmenty przystosowują się bowiem wtórnie do sytuacji, kiedy nie uczestniczą w globalnej funkcji skurczowej lewej komory. W tym okresie reperfuza nie przynosi najczęściej od razu widocznych efektów ze względu na towarzyszące istotne zaburzenia metaboliczne związane z translokacją do sarkolemy układów enzymatycznych biorących udział w aktywnym transporcie glukozy. Zasadniczą rolę w metabolizmie zamrożonego mięśnia odgrywa białko GLUT-1, niezależne od insuliny, strukturalnie bliskie białkom płodowym. Zmniejsza ono przewagę podstawowego układu transportującego glukozę GLUT-4, zależnego nadal od insuliny [33]. Jednak wydajność obu białek różnie. Ma to ogromne znaczenie dla podtrzymania szczątkowego wytwarzania ATP. Pomimo niekorzystnych następstw glikolizy beztlenowej, jak choćby nadprodukcji protonów, niewielka ilość ATP powstająca w cytozolu niedokrwionej komórki wystarcza do względnie skutecznej pracy pompy sodowej i wapniowej, co bezpośrednio wiąże się z utrzymaniem integralności błony komórkowej [34]. W objętych niedokrwieniem kardiocytach dochodzi do wzmożonego magazynowania glikogenu, co wydaje się potwierdzać koncepcję zmienionego metabolizmu glukozy w zamrożonym mięśniu sercowym. W tych obszarach obserwuje się spadek metabolizmu oksydacyjnego w niedokrwionych komórkach, jednak bez jego całkowitego zahamowania, jak to się dzieje w segmentach objętych zawałem [35]. Zwiększony udział glukozy w produkcji ATP podwyższa ryzyko wzrostu pH wraz z niekorzystnymi tego następstwami. Jednak przeważa opinia, że zmniejszony przepływ w tętnicach nasierdżiowych, a tym samym ograniczona podaż glukozy do mięśnia sercowego, wystarcza do zrównoważenia ne-

gatywnych skutków glikolizy beztlenowej. W doświadczalnym modelu zamrożonego miokardium stwierdzano znaczne obniżenie wewnątrzkomórkowego pH, co skutkowało osłabieniem funkcji skurczowej niedokrwionych segmentów. Warto podkreślić, że pH było wyższe, gdy niedokrwienie poprzedzał incydent całkowitej okluzji naczyń. W trakcie hipoperfuzji nie obserwowano już wzrostu stężenia mleczanu, co sugeruje adaptacyjne przestrojenie metabolizmu oksydacyjnego, spowodowane poprzedzającym epizodycznym ustaniem przepływu wieńcowego [36]. Tym samym kardiocyty zagrożonego niedokrwieniem segmentu zostają niejako przygotowane do drastycznego ograniczenia podaży substratów energetycznych w okresie spadku perfuzji. Opisane zjawisko określa się mianem hartowania mięśnia sercowego [37]. Nie jest jasne, jaki jest mechanizm wywołujący ten fenomen oraz czy hartowanie jest warunkiem koniecznym do podtrzymania żywotności zamrożonego mięśnia sercowego. Krótkotrwała okluzja tętnicy powoduje bowiem przemieszczenia układów enzymatycznych z cytozolu do błony komórkowej. Translokacja dotyczy między innymi 5'-nukleotydu, białka G oraz indukowanej syntazy tlenu azotu (NOS, *nitric oxide synthetase*) [38, 39]. Wydaje się, że badania wewnątrzkomórkowej aktywności układu związanego z NOS mogą dostarczyć nowych informacji o tym, jak postępuje adaptacja kardiocytów do niskoprężynowego niedokrwienia [40]. W cytozolu obecne są dwie izoformy NOS: endotelialna (eNOS) i neuronalna (nNOS) [41]. Aktywność obu białek jest regulowana przez zmiany wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia lub, jak w przypadku eNOS, przez rozciąganie błony komórkowej [42]. Zaburzenia równowagi jonowej oraz okresowy wzrost gradientu osmotycznego i nadmiernego uwodnienia komórki mięśniowej obserwuje się w różnych fazach zamrożenia miokardium [43]. Jak się wydaje, eNOS bierze udział w heterometrycznej regulacji siły skurczu [44]. Wymiar poprzeczny rozciągniętej komórki mięśniowej zmniejsza się, co wiąże się ze wzrostem powinowactwa troponiny C do jonów wapnia [45]. Siła skurczu mięśnia zależy zatem od aktualnego stężenia wapnia wewnątrzkomórkowego. W mechanizmie uwalniania wapnia z siateczki sarkoplazmatycznej bierze zaś udział tlenek azotu (NO), wytwarzany przy aktywnym udziale eNOS, poprzez nitrozylację kanałów wapniowych siateczki [46]. Przyjmuje się, że eNOS oraz NO współuczestniczą w złożonym procesie uruchamiania komórkowej rezerwy kurczliwości, co ma istotne znaczenie w ocenie żywotności zamrożonego mięśnia sercowego.

Przedstawione zmiany metabolizmu przewlekle niedokrwionego serca są jedynie, w świetle prowadzonych badań klinicznych i doświadczalnych, początkiem nowego podejścia do problematyki choroby wieńcowej. Wydaje się, że kierunki rozwoju diagnostyki i terapii tej choroby w najbliższym czasie wyznaczać będzie coraz lepsze zrozumienie zaburzeń metabolicznych i ich konsekwencji.

## Piśmiennictwo

1. Parker C.J., Morgan K., Dewey M.E., the Analysis Group of the MRC Cognitive Function and Ageing Study. Physical illness and disability among elderly people in England and Wales: the Medical Research Council Cognitive Function and Ageing Study. *Epidemiol. Commun. Health* 1997; 51: 494–501.
2. Ahto M., Isoaho R., Puolijoke H. i wsp. Prevalence of coronary heart disease, associated manifestations and electrocardiographic findings in elderly Finns. *Age Ageing* 1998; 27: 729–737.
3. Tunstall-Pedoe H., Kuulasmaa K., Amouyel Ph. i wsp. Myocardial infarction and Coronary Deaths in the World Health Organization MONIKA Project. Registration procedure, events rates, case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. *Circulation* 1994; 90: 583–639.
4. Leng G.C., Papacosta O., Whincup P. i wsp. Femoral atherosclerosis in an older British population: prevalence and risk factors. *Atherosclerosis* 2000; 152: 167–174.
5. Libby P. The molecular basis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844–2850.
6. Davies M.J., Richardson P.D., Woolf N. i wsp. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: Role of extracellular lipid, macrophage and smooth muscle cell content. *Br. Heart J.* 1993; 69: 377–381.
7. DeWood M.A., Spores J., Notske R. i wsp. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 1980; 303: 897–902.
8. Coletta C., Galati A., Greco G. i wsp. Prognostic value of high dose dipirydamole echocardiography in patients with chronic coronary artery disease and preserved left ventricular function. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995; 26: 887–894.
9. Neely J.R., Morgan H.E. Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle. *Annu Rev. Physiol.* 1974; 36: 413–459.
10. Opie L.H., King L.M. Glucose and glycogen utilization in myocardial ischaemia changes in metabolism and consequences for the myocyte. *Mol. Cell. Biochem.* 1998; 180: 3–26.

11. Page E., McCallister L.P. Quantitative electron microscopic description of heart muscle cells. Application to normal, hypertrophied and thyroxin-stimulated hearts. *Am. J. Cardiol.* 1973; 31: 172–181.
12. Stanley W.C., Lopaschuk G.D., Hall J.I., McCormack J.G. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic condition potential for pharmacological interventions. *Cardiovascular Res.* 1997; 33: 243–257.
13. Lopaschuk G.D., Belke D.D., Gamble J., Itoi T., Schonekess B.O. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochem. Biophys. Acta* 1994; 1213: 263–276.
14. Opie L.H. Cardiac metabolism-emergence, decline and resurgence. *Cardiovascular Res.* 1992; 26: 721–733.
15. Lopaschuk G.D., Stanley W.C. Glucose metabolism in the ischaemic heart. *Circulation* 1997; 95: 313–315.
16. Liu B., Clanachan A.S., Schulz R., Lopaschuk G.D. Cardiac efficiency is improved after ischaemia by altering both the source and fate acid of protons. *Circ. Res.* 1996; 79: 940–948.
17. Benzi R.H., Lerch R. Dissociation between contractile function and oxidative metabolism in post-ischaemic myocardium. *Circ. Res.* 1992; 71: 567–576.
18. Lopaschuk G.D., Spafford M., Davies N.J. i wsp. Glucose and palmitate oxidation in isolated working rat hearts reperfused following a period of transient global ischaemia. *Circ. Res.* 1990; 66: 656–663.
19. Kudo N., Kung L., Witters L.A., Hardie D.G., Lopaschuk G.D. Heart contains an active 5'-AMP-activated protein kinase that is involved in the regulation of fatty acid oxidation. *Circulation* 1996; 92: 1771–1777.
20. Bolli R., Jeroudi M.O., Patel B.S. i wsp. Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion: evidence that myocardial “stunning” is a manifestation of reperfusion injury. *Circ. Res.* 1989; 65: 607–622.
21. Siegmund B., Zude R., Piper H.M. Recovery of anoxic-reoxygenated cardiomyocytes from severe  $\text{Ca}^{2+}$  overload. *Am. J. Physiol.* 1992; 63: 1262–1269.
22. Gao W.D., Atar D., Backs P.H., Marban E. Relationship between intracellular calcium and contractile force in stunned myocardium: direct evidence for decreased myofilament  $\text{Ca}^{2+}$  responsiveness and altered diastolic function in intact ventricular muscle. *Circ. Res.* 1995; 76: 1036–1048.
23. Frass O., Sharma H.S., Knoll R. i wsp. Enhanced gene expression of calcium regulatory proteins in stunned myocardium. *Cardiovasc. Res.* 1993; 27: 2037–2043.
24. Mintz E., Guillain F. Ca transport by sarcoplasmic reticulum ATP-ase. *Biochim. Biophys. Acta* 1997; 1318: 52–70.
25. Heyndrickx G.R., Millard R.W., McRitchie R.J., Maroko P.R., Vatner S.F. Regional myocardial functional and electrophysical alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J. Clin. Invest.* 1975; 56: 978–985.
26. Rahimtoola S.H. A perspective on the three large multicenter randomized clinical trials of coronary bypass surgery for chronic stable angina. *Circulation* 1983; 72: V123–V135.
27. Vanoverschelde J.L.J., Wijns W., Depre C. i wsp. Mechanism of chronic regional postischaemic dysfunction in humans. New insights from the study of noninfarcted collateral-dependent myocardium. *Circulation* 1993; 87: 1513–1523.
28. Kloner R.A., Jennings R.B. Consequences of brief ischaemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications. Część 1. *Circulation* 2001; 104: 2981–2989.
29. Vanoverschelde J.L.J., Melin J.A., Depre C., Borgers M., Dion R., Wijns W. Time course of functional recovery of hibernating myocardium after coronary revascularization. *Circulation* 1994; 90: I-378.
30. Sicari R. Prognostic value of dobutamine-atropine stress echocardiography early after acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997; 29: 254–261.
31. Camici P.G., Dutka D.P. Repetitive stunning, hibernation, and heart failure: contribution of PET to establishing a link. *Am. J. Physiol.* 2001; 280: H929–H936.
32. Flameng W., Suy R., Schwarz F. i wsp. Ultrastructural correlates of left ventricular contraction abnormalities in patients with chronic ischaemic heart disease: determinants of reversible segmental asynergy. *Am. Heart J.* 1984; 102: 846–857.
33. Young L.H., Renfu Y., Russel R. i wsp. Low-flow ischaemia leads to translocation of canine heart GLUT-4 and GLUT-1 glucose transporters to the sarcolemma in vivo. *Circulation* 1996; 95: 415–422.
34. Ferrari R., Cargnoni A., Bernocchi P. i wsp. Metabolic adaptation during a sequence of no-flow and low-flow ischaemia: a possible trigger for hibernation. *Circulation* 1996; 94: 2587–2596.
35. Schwaiger M., Sun D., Deeb N. i wsp. Expression of myocardial glucose transporter (GLUT) mRNAs in patients with advanced coronary artery disease. *Circulation* 1994; 90: I-113.
36. van Binsbergen X.A., van Emous J.G., Ferrari R. i wsp. Metabolic and functional consequences of successive no-flow and sustained low-flow ischaemia: a PMRS study on rat hearts. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1996; 28: 2373–2381.
37. Reimer K.A., Murry C.E., Yamasawa I. i wsp. Four brief periods of ischaemia cause no cumulative ATP loss or necrosis. *Am. J. Physiol.* 1986; 251: H1306–H1315.

38. Liu Y., Ytrehus K., Downey J.M. Evidence that translocation of protein kinase C is a key event during ischaemic preconditioning of rabbit myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1994; 26: 661–668.
39. Niroomand F., Strasser R. Impaired functions of inhibitory G-proteins. *Circ. Res.* 1995; 76: 861–870.
40. Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischaemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J. Moll Cell Cardiol.* 2001; 33: 1897–1918.
41. Kelly R.A., Balligand J.L., Smith T.W. Nitric oxide and cardiac function. *Circ. Res.* 1996; 79: 363–380.
42. Fleming I., Busse R. Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovasc. Res.* 1999; 43: 532–541.
43. Ruiz-Meana M., Garcia-Dorado D., Gonzales M.A. i wsp. Effect of osmotic stress on sarcolemmal integrity of isolated cardiomyocytes following transient metabolic inhibition. *Cardiovasc. Res.* 1995; 30: 54–69.
44. Prendergast B.D., Sagach V.F., Shah A.M. i wsp. Basal release of nitric oxide augments the Frank-Starling response in the isolated heart. *Circulation* 1997; 96: 1320–1329.
45. Bers D.M. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* 2002; 415: 198–205.
46. Petroff M.G., Kim S.H., Pepe S. i wsp. Endogenous nitric oxide mechanisms mediate the stretch dependence of  $Ca^{2+}$  release in cardiomyocytes. *Nat. Cell. Biol.* 2001; 3: 867–873.