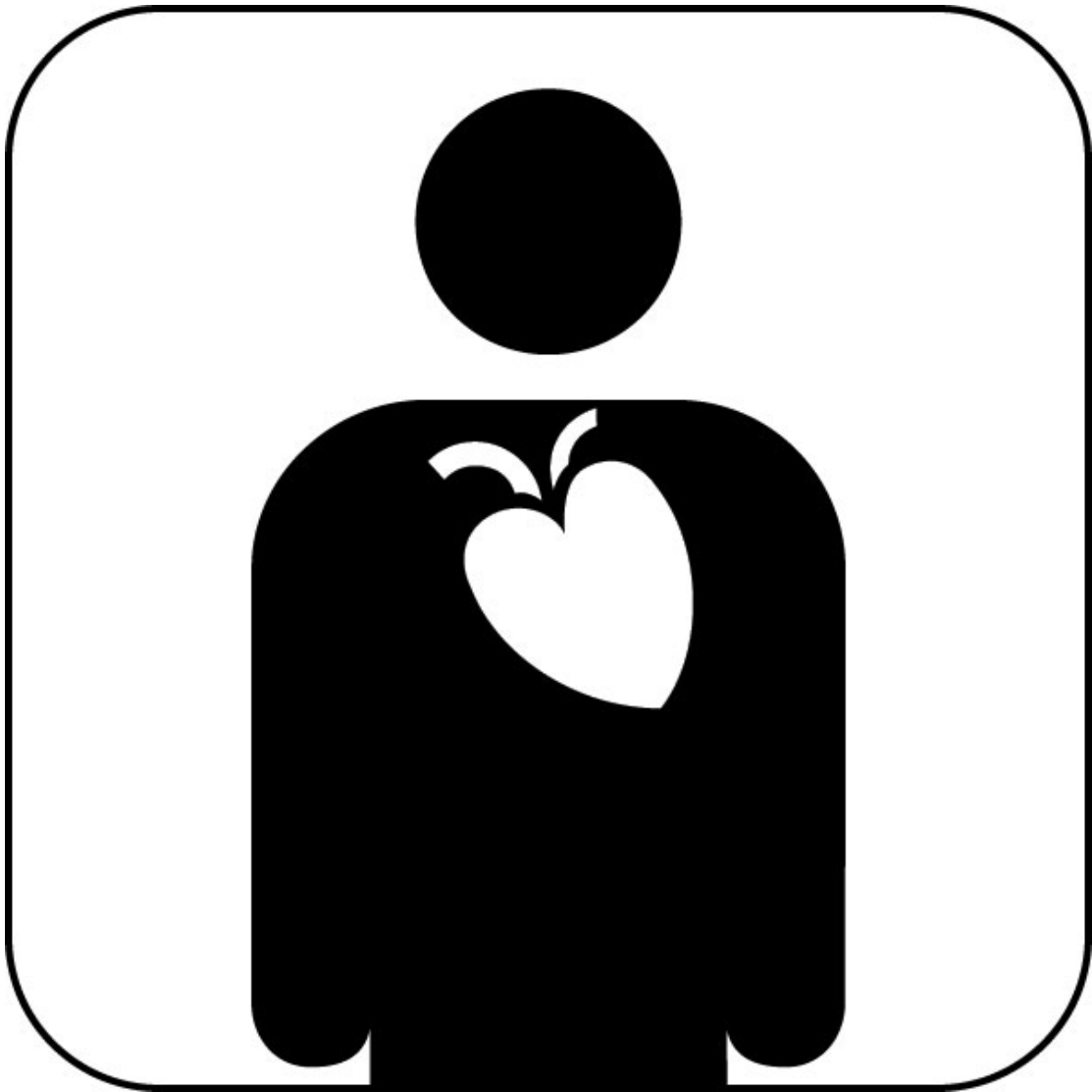


REPERFUSJONSSKADE OG KLINISK UTNYTTELSE AV POSTKONDISJONERING



Prosjektoppgave profesjonsstudiet i medisin
Av Anja Sandemose og Stian Kjennvold

Oktober 2007

Forord

Tidlig på medisinstudiet ble vi introdusert for fenomenet iskemisk prekondisjonering. Dette fenomenet innebærer at man ved å indusere iskemi i forkant av ny iskemi kan redusere infarktstørrelsen. I utgangspunktet tenkte vi å skrive om prekondisjonering, men ville samtidig skrive om noe som var klinisk relevant. Det sier seg selv at den kliniske nytten av prekondisjonering er begrenset, da man må forutse iskemi og intervensjon i forkant. Vår veileder introduserte oss for postkondisjonering. Postkondisjonering er tett knyttet til reperfusjonsskade, og det kliniske potensialet er stort, da det dreier seg om intervensjon på reperfusjonstidspunktet, fremfor i forkant av iskemien. Dette fanget vår interesse.

Ved å jobbe to studenter sammen har vi fått anledning til å sette oss inn en større del av forskningen på området, samtidig som vi har fått øvelse i å vurdere hverandres tekst kritisk. Den største utfordringen har vært at forskningen på området er svært aktiv, og etter en pause fra oppgaven på et år var mye av grunnlaget for oppgaven forandret.

Takk til Arnfinn Ilebekk ved Institutt for eksperimentell forskning for verdifull veiledning.

Forkortelser:

AMI	Akutt myokard infarkt
eNOS	Endotelial nitrogenoksid syntetase
EPO	Erythropoietin
ERK	Ekstracellulære signalregulerte kinaser
GLP-1	Glukagonlignende peptid-1
GPCR	G-proteinkoblet reseptor
ICAM	Intracellulære adhesjonsmolekyler
IPK	Iskemisk prekondisjonering
MPO	Myeloperoxidase
mPTP	Mitochondrial permeability transition pore
PCI	Perkutan koronar intervensjon
PKG	Protein kinase G
PMN	Polymorfnukleære celler
PI3K	Fosfatidylinositol-3-OH kinase
RIPC	Remote ischemic preconditioning
RISK	Reperfusion Injury Salvage Kinase
ROS	Reaktive oksygenderivater
STEMI	ST-elevasjons myokard infarkt

FORORD	2
FORKORTELSER:	3
ABSTRACT	5
INNLEDNING	6
METODER/SØKEKRITERIER	7
PREKONDISJONERING	7
POSTKONDISJONERING	8
REPERFUSJONSSKADE	8
SKADEMEKANISMER	9
<i>Calcium overload-indusert kontraktur</i>	9
<i>Frie oksygenradikaler</i>	11
<i>Vaskulær dysfunksjon</i>	12
<i>Inflammatorisk respons</i>	13
<i>Økt blodstrøm etter reperfusjon</i>	14
<i>Åpning av mPTP (mitochondrial permeability transition pore)</i>	15
RISK	17
KLINISK ANVENDELSE AV POSTKONDISJONERING	18
ISKEMISK POSTKONDISJONERING	18
<i>Målemetoder og endepunkt</i>	18
<i>Studier av iskemisk postkondisjonering på menneske</i>	19
<i>Studier av iskemisk postkondisjonering på dyr</i>	21
FARMAKOLOGISK POSTKONDISJONERING	22
Vekstfaktorer	23
Insulin	23
Erythropoietin	23
G-Proteinkoblede reseptorer	24
Adenosin	24
Glukagonlignende Peptid 1	24
Ikke reseptormediert	25
Statiner/Atorvastatin	25
OPPSUMMERING OG KONKLUSJON	26
REFERANSER	28

Abstract

In this survey we try to present the up to date knowledge of “reperfusion damage” and the “postconditioning-phenomenon” present in the myocardium. Reperfusion damage is the additional injury to the myocardium that is added during reperfusion after an ischemic period. Ischemic postconditioning describes the phenomenon of reduced myocardial injury by manipulating reperfusion through adding very short periods of additional ischemia succeeding a prolonged ischemic period. It appears also to be possible to induce postconditioning by pharmacological interventions during early reperfusion after ischemic periods.

This survey is based upon searches in the Pub Med and Medline databases up to end of September this year. We have particularly searched the available literature for mechanisms of reperfusion injury and effects of postconditioning. We found that reperfusion damage is well established in the literature, whereas a limited number of experiments have been performed in animals on postconditioning. However, the available data indicate that postconditioning is a mechanism which may reduce post ischemic myocardial damage in animals. A significant beneficial effect on myocardial damage also appears to occur in humans, although documentation in humans is limited to just two randomized and prospective, but relatively small trials.

The end-effector of reperfusion damage seems to be the mitochondrial Permeability Transition Pore (mPTP). The damage-reducing effect of postconditioning also appears to be specifically related to this same pore, and conveyed by inhibiting its opening. The pathways of signal transduction resulting in inhibition of mPTP appears, furthermore, to depend on activation of the so-called “survival kinases” (RISK). It appears appropriate to conclude that activation of this signaling pathway at the time of reperfusion, through ischemic or pharmacologic postconditioning, has the potential to reduce reperfusion injury in humans. During thrombolysis only pharmacological postconditioning is possible, but several agents have already been examined in animals resulting in a potential beneficial effect. During interventional reperfusion, also ischemic postconditioning may possibly be performed in the future if additional randomized clinical trials can confirm the results obtained in the two smaller, but randomized and prospective studies already published.

Innledning

I følge WHO er koronar hjertesykdom nå den fremste dødsårsaken på verdensbasis med 3,8 millioner dødsfall blant menn og 3,4 millioner blant kvinner årlig. Det har vært gjort store fremskritt i diagnose og behandling av AMI de siste tiårene og dette har gitt klart bedre prognose for overlevelse. Til tross for velutprøvde intervensjonsstrategier er dødeligheten etter AMI fortsatt betydelig, også der hvor moderne behandling er tilgjengelig, noe som delvis kan tilskrives reperfusjonsskade [1]. Dette betinger nye intervensjonsstrategier i behandlingen av AMI.

Etter okklusjon av koronararterier er det nødvendig raskest mulig å gjenopprette blodstrømmen til den iskemirammede delen av myokard for å unngå eller minske utbredelsen av celledskade. Rask reperfusjon etter koronarokklusjon er den viktigste intervensjon for å begrense infarktstørrelsen, noe som er et vesentlig mål fordi det er systolisk residualfunksjon i venstre ventrikkle som er den viktigste prognostiske faktoren for utfallet etter et gjennomgått AMI [2]. Reperfusjonsstrategier som trombolyse, perkutan koronar intervensjon (PCI), angioplastikk (bypass) eller kombinasjoner av disse har vært sterkt bidragende til bedret prognose ved iskemisk hjertesykdom de siste tiår. I tillegg har medikamentelle tiltak i form av Betablokkere, ACE hemmere, kolesterolsenkende midler, platehemmere og så videre redusert morbiditet og mortalitet ved AMI betydelig.

Til tross for at gjenoppretting av blodtilførsel er absolutt nødvendig behandling ved myokardiskemi vil reperfusjonen kunne medføre ytterligere skade av hjertet. Reperfusjonsskade kan skilles fra iskemisk skade ved at omfanget kan reduseres med intervensjon på det tidspunkt da sirkulasjonen og dermed oksygentilførselen gjenoprettes. I tillegg til de etablerte intervensjonsmetodene for å reperfundere kunne man tenke seg å redusere reperfusjonsskade ved å innføre adjuvant terapi på reperfusjonstidspunktet, såkalt postkondisjonering. I det følgende har vi forsøkt å kartlegge mekanismene bak reperfusjonsskade og bakgrunnen for fenomenet postkondisjonering. Videre har vi drøftet potensialet for en klinisk anvendelse av postkondisjonering, altså for å intervenere mot skade som skyldes nødvendig gjenoppretting av blodtilførsel.

Metoder/søkekriterier

Denne oppgaven er en litteraturstudie basert på artikler funnet ved søk i MEDLINE og PubMed databasene. Søkeordene har vært ”preconditioning”, ”postconditioning” ”ischemic preconditioning”, ”ischemic postconditioning”, ”reperfusion injury”, “reperfusion salvage kinase pathway” i ulike kombinasjoner. Referanser beskrevet i de aktuelle artiklene ble også lest dersom de var relevante. Vi har foretatt utvelgelse av artikler basert på skjønn i forhold til relevans og kvalitet. Vi har utelukkende holdt oss til engelskspråklige artikler fra 80-tallet og frem til i dag.

Prekondisjonering

Iskemisk prekondisjonering (IPK) ble først lansert som begrep og beskrevet i 1986 da Murry og medarbeidere fant at kortvarige alternerende episoder med ikke-letal myokardiskemi og reperfusjon, reduserte infarktstørrelsen ved en etterfølgende langvarig iskemiepisode. Denne beskyttelseeffekten på myokard induisert i forkant av den endelige iskemiepisoden fikk navnet prekondisjonering. Siden har fenomenet vært gjenstand for omfattende forskning og er nå vel dokumentert. Beskyttelseeffekten utløst av IPK avtar etter 3-4 timer for så å gjenoppstå 12-24 timer etter intervensjon og vare i inntil 72 timer. Det er altså to separate perioder, eller vinduer, for beskyttelse av hjertet som utløses av et felles prekondisjoneringsstimulus. Disse kalles henholdsvis "klassisk" IPK og "SWOP (second window of protection)" [3, 4]. Etter hvert har studier også beskrevet et fenomen der kortvarige iskemiepisoder i et annet organ gir beskyttelse av hjertet mot mer langvarig iskemi. Dette er en tredje variant av prekondisjonering kalt ”remote ischemic preconditioning” (RIPC) [5].

Prekondisjonering har vist seg å gi god og reproduserbar beskyttelse av myokard, men har ikke fått noen sentral plass i klinisk praksis da det betinger intervensjon før den endelige skaden har skjedd. Man vil med andre ord måtte forutse når et infarkt vil inntreffe, noe som er praktisk umulig.

Postkondisjonering

Tilsvarende prinsippet ved prekondisjonering har man vist at alternerende korte episoder med iskemi og reperfusjon ved gjenoppretting av blodstrømmen vil kunne begrense infarktstørrelsen, et fenomen kalt postkondisjonering [6].

Da denne gjenoprettelsen av blodtilførsel kontrolleres av behandler, kan intervensjon i form av postkondisjonering styres. Dette gjør at man lettere kan tenke seg en klinisk anvendelse av postkondisjonering enn prekondisjonering for å redusere infarktstørrelse og dermed bedre prognosen etter AMI. I det følgende vil vi ikke bare ta utgangspunkt i den iskemiske postkondisjoneringen men bruke postkondisjonering som et videre begrep som omfatter alle mulige måter å redusere reperfusjonsskade på. Der det er snakk om alternerende iskemi- og reperfusjonsperioder vil vi benytte begrepet iskemisk postkondisjonering.

Tilsvarende fenomenet RIPC har man dessuten funnet at en iskemisk postkondisjoningsstrategi applisert på et annet organ enn hjertet kan formidle en beskyttende effekt på moykard. Denne formen for postkondisjonering har fått navnet 'Remote postconditioning' [7]. Remote pre- og postkondisjonering indikerer begge en generell effekt og at humorale eller nevrogene faktorer er involvert i fenomenet.

Reperfusjonsskade

Reperfusjonsskade defineres her som skade oppstått etter iskemiperioden, i forbindelse med reperfusjon av iskemisk vev. Skaden må kunne påvirkes av intervensjon på reperfusjonstidspunktet, for å kunne tilskrives reperfusjonen [8]. Reperfusjonsskade kan altså kun påvises indirekte. Målet er å finne klinisk anvendbare intervensjoner som reduserer infarktstørrelse hos mennesket utover det man oppnår ved reperfusjonsbehandlingen. I det følgende avsnittet vil vi beskrive mer i detalj de mekanismene som synes å kunne bevirke reperfusjonsskade.

Skademekanismer

Klinisk ser man tre skadevirkninger; arytmier, stunning og celledød (letal reperfusjonsskade). Både stunning og celledød vil vise seg som redusert cardiac output, men ved stunning vil hjertets funksjon forbedres etter en tid. Det har vist seg at ikke bare nekrose, men også apoptose kan være en vesentlig faktor bak celledød ved reperfusjon [9-11]. Vi vil her se på mekanismene bak den letale reperfusjonsskaden, og i hver del se på hva slags intervensjoner som kan være mulige.

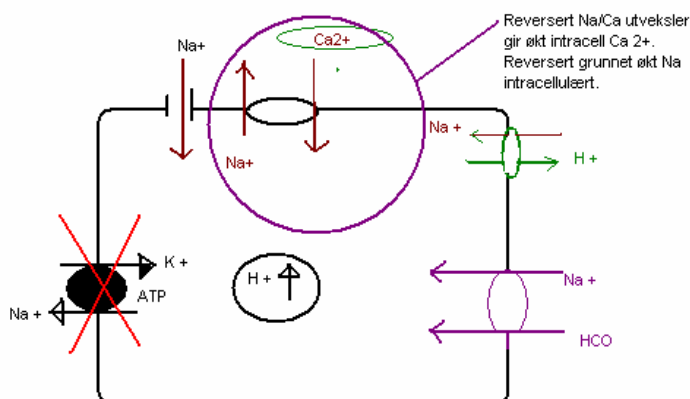
Per september 2007 tyder forskningen på at det er en felles mekanisme for effekten av både prekondisjonering og postkondisjonering (iskemisk og farmakologisk) ved påvirkning av mPTP [12, 13]. De øvrige mekanismene antas å virke på forhold som påvirker åpningen av mPTP. Vi gjennomgår de forskjellige skademekanismene som har vært lansert som mulige forklaringer for å gi et mest mulig fullstendig bilde av forskningen på feltet. Det man tenker seg er altså at de ulike skademekanismene alle virker sammen om å indusere mPTP åpning, som i sin tur medfører celledød. Vi omtaler mPTP åpning til sist.

Calcium overload-indusert kontraktur

Med kontraktur menes vedvarende forkortning og avstivning (stiffening) av myokard. Som følge av dette oppstår såkalt kontraksjonsbåndnekrose. Denne typen nekrose kjennetegnes av kontraherte sarkomerer, forstrukket mellomliggende rom og sarkolemmalt sammenbrudd.

Det synes etablert at denne nekrose kan oppstå etter reperfusjon av iskemisk vev [14]. Når cellen igjen får tilgang på oksygen, vil den, om det ikke allerede har oppstått irreversible skader, gjenoppta sin ATP produksjon. Samtidig har den (post-) iskemiske cellens cytosol en sterkt forøket calcium-konsentrasjon [14]. Dette skyldes at den sarkolemmale natrium/calcium-utveksleren, som normalt pumper natrium inn og calcium ut, er reversert [15]. Dette skyldes akkumulering av intracellulær natrium ved iskemi. Utgangspunktet er økt intracellulær H^+ konsentrasjon og dermed lav pH som følge av anaerob metabolisme. H^+ veksles ut i bytte med Na^+ , mens HCO_3^-/Na^+

symporterer øker intracellulær HCO_3^- som buffering av pH. Samtidig transporteres Na^+ inn i cellen. Se figur 1.



Figur 1: Ved iskemi: H^+ intracellulært stiger på grunn av manglende O_2 og anaerob metabolisme. Na^+/K^+ ATPasen stopper opp og membranen depolariseres. Na^+ intracellulært øker kraftig, og gir en sekundær Ca^{2+} stigning.

Kombinasjonen av fornyet ATP produksjon og forøket intracellulær calcium fører til aktivering av cellens kontraktile apparat. Kontraksjonen er ukontrollert og kan lede til nekrose. Spesielt er dette et problem fordi denne effekten av reoksygeneringen inntreer raskere enn normaliseringen av kationbalansen i cytosol. Man ser også at det i den reoksygenerte cardiomyocytten finner sted et syklisk opptak og frigjøring av calcium fra sarkoplasmatiske retikulum (SR). Dette kan trigge calcium overload-induserte kontrakturer [14].

Forandringer i ionekonsentrasjoner ekstra- og intracellulært i forbindelse med iskemi, anaerob metabolisme og deretter reperfusjon gir også en økt osmotisk gradient som gir væskeansamling intracellulært. Cellene sveller, og nekrose kan induseres. De molekylære mekanismene er omtalt under calcium industert kontraktur. Det er usikkert om dette er en ren iskemiskade eller om det også er en reperfusjonsskade [16].

Man kan tenke seg at enhver intervensjon som inhiberer det kontraktile apparat i cellen kan hindre calcium overload-indusert kontraktur. Denne inhibisjonen må være tidsbegrenset, og trenger bare å virke til kationbalansen over sarkolemma er gjenopprettet. Dette har vært prøvd eksperimentelt med P 2,3 butan dion monoxim [17, 18]. Cytosolisk acidose virker også inhiberende på det kontraktile apparat, og man kunne tenke seg at opprettholdelse av lav intracellulær pH i reperfusjonens

tidligste fase ville kunne forebygge kontraktur. Dette kan skje ved å inhibere enten H^+ /Na utveksleren eller HCO_3^- /Na⁺ - symporterens. Kliniske og eksperimentelle studier [19-21] har dog vist at det ikke er tilstrekkelig å inhibere H^+ /Na-utveksleren. Et prinsipp som ser ut til å være vellykket er å inducere calciumdesensibilisering av myofibrillene [22]. Dette kan oppnås ved hjelp av stoffer som stimulerer guanylyl cyclase, og dermed (via cGMP) protein kinase G (PKG).

Man kunne forvente at korttidsvirkende Ca^{2+} antagonister ville virke kardioprotektivt. Ved det ultrakorttidsvirkende stoffet clevidipin som er injisert på gris på ulike tidspunkter under iskemiperioden (45 min LAD okklusjon) har man da også funnet inhibering av Ca^{2+} innstrømning tidlig i iskemiperioden. Ved reperfusjon reduserer clevidipin infarktstørrelsen [23]. Dette indikerer igjen at Ca^{2+} innstrømning i cellen spiller en rolle for vevsskade både under iskemi og under reperfusjon.

Frie oksygenradikaler

Man har lenge antatt at dannelsen av frie oksygenradikaler er en viktig mekanisme for myokardskade ved reperfusjon. Det er gjort en rekke studier basert på hypotesen om at oksygenradikalene spiller en viktig rolle for den letale reperfusjonsskaden, men dette er fortsatt omdiskutert [8]. Det er imidlertid sterke holdepunkter for at de frie oksygenradikalene i hvert fall er av patogenetisk betydning for arytmier og stuning som manifestasjoner på reperfusjonsskade [24].

Frie oksygenradikaler er sterkt ustabile og kjemisk reaktive stoffer som superoksid anion, hydrogenperoksid, hydroksylgrupper og så videre. De produseres normalt i små mengder og utgjør viktige komponenter blant annet i kroppens forsvar mot mikrober. Frie oksygenradikaler genereres på ulikt vis i ulike celler. De viktigste kildene ved reperfusjon av myokard er aktiverte nøytrofile granulocytter, cardiomyocytter, endotelceller i karene og i mindre grad perivaskulært vev [6]. Det er flere enzymesystemer i samspill, men i hovedsak produserer leukocytene frie oksygenradikaler ved NADPH oksidase systemet, mens for endotel og cardiomyocytene er xantinoksidase sentral [25].

De frie radikalene kan oksidere en rekke biologiske molekyler men aktiviteten reguleres av enzymer som superoksid-dismutase (SOD), glutation og katalase. Disse endogene enzymene finnes også i kardiomyocytter. Reetablering av oksygentilførsel til tidligere iskemisk vev fører imidlertid til dannelse av større mengder frie oksygenradikaler enn normalt, og det er påvist en økt mengde av disse oksygenderivatene allerede sekunder etter reperfusjon av myokard [26]. Dette fører til at kapasiteten til de antioksidative enzymene overskrides slik at celleskade oppstår.

Oksygenradikalene forårsaker lipidperoksidasjon og dermed skade på cellemembranen, noe som igjen kan gi oppsvelling av cellen [27]. De vil også påvirke plater og leukocytter og kunne føre til både vasokonstriksjon og plateaggregasjon. I tillegg er aktiverte leukocytter viktige bidragsyttere til ytterligere dannelse av frie oksygenradikaler.

Vaskulær dysfunksjon

Endotelcellene spiller en viktig rolle i reguleringen av blodstrømmen i blodkarene. Både ved iskemi og ved den påfølgende reperfusjonen oppstår det endringer i og utenfor endotelcellene som påvirker deres funksjon. Disse endringene gir nedsatt barrierefunksjon, endret cytokin- og adhesjonsmolekylekspresjon og økt tonus i karveggen. Dette ble tidlig lansert som en mulig årsak til reperfusjonsskaden. Arterioler, kapillærer og venyler er alle delaktige i den vaskulære dysfunksjon som kan følge iskemi og reperfusjon.

I arteriolene er problemet først og fremst nedsatt evne til vasodilatasjon. Mekanismene bak dette er sannsynligvis mange og varierte, men nedsatt NO produksjon i endotelcellene spiller trolig en viktig rolle [28]. Den nedsatte NO produksjon er blitt tilskrevet økt aktivitet av arginase etter iskemi og reperfusjon. Arginase konkurrerer med NOSene om deres substrat L-arginin. NOS omdanner L-arginin til NO og citrullin. Når arginase induseres vil NOS få redusert tilgangen til sitt substrat og dannelsen av NO kompromitteres. Noen mener også at mangel på kofaktoren tetrahydrobiopterin (BH4) kan bidra til den reperfusjonsinduserte endoteliale dysfunksjon [29]. Dette sannsynliggjøres av at metabolske forstadier for BH4 eksperimentelt har vist seg å bevare endotelbetinget vasodilatasjon. I tillegg er

oksidativt stress og frie oksygenradikaler lansert som viktige kilder til den endoteliale dysfunksjon.

I kapillærene ser man nedsatt antall kar med perfusjon, og økt væskelekkasje ut i vevet med interstitielt ødem som konsekvens. Også her er det mange bakenforliggende mekanismer. Plateaggregering og rekruttering av leukocytter er viktige for okklusjon av kar, mens nedsatt barrierefunksjon i endotelet gir ødem. Ødemet bidrar til å øke trykket omkring karene og dermed også til okklusjon. Nedsatt barrierefunksjon relateres til skade av intercellulære adhesjonsmolekyler. Reaktive oksygen derivater (ROS) og en rekke inflammatoriske mediatorer gir nedsatt ekspresjon av cadherin-molekyler på cellenes overflate [30]. Cytoskjelett-forandringer intracellulært spiller også en rolle. Opphevet reperfusjon kalles no-reflow fenomenet, og dette fenomenet er en konsekvens av forandringene i kapillærene. Klinisk manifesterer dette seg som stunning i myokard, eller mer alvorlig, som økning i infarktstørrelsen etter forsøk på reperfusjon [31].

I venylene er økt permeabilitet problemet. Dette skyldes i hovedsak skadevirkninger av aktive nøytrofile granulocytter som bryter ned forbindelsene mellom endotelcellene. Det oppstår interstitielt ødem og nedsatt flow som i kapillærene [28].

Inflammatorisk respons

Når cardiomyocytter utsettes for en iskemisk episode, vil det i løpet av kort tid skje en opphopning av laktat og andre toksiske metabolitter på grunn av overgangen til et anaerobt stoffskifte i cellen. Dette fører til aktivering av en rekke kjemiske mediatorer og enzymer som modulerer blodplater, er potente vasokonstriktorer og ikke minst virker kjemotaktisk på leukocytter [31]. Et eksempel er aktiveringen av enzymet Fosfolipase A2 som frigjør arakidonsyre fra fosfolipid i cellemembranen [33]. Arakidonsyre omdannes ved hjelp av lipooksygenase- og cyklooksygenasesystemene til inflammatoriske mediatorer som leukotriener, tromboxaner og prostaglandiner.

Ved en normal akutt inflammatorisk respons fungerer endotelmembranen i åreveggen som festepunkt for leukocytter ved hjelp av overflatereseptorer som selektiner og

ICAM. Iskemien medfører imidlertid at det uttrykkes flere slike adhesjonsmolekyler i membranen til endotelcellene [34]. Før reperfusjon er cellen dermed i det vi kan kalle en aktivert tilstand med frigjorte cytokiner og et økt antall adhesjonsproteiner. Dette fremmer adheranse og aktivering av neutrofile granulocytter og monocytter [35] og gir altså økt endotel-leukocytreaksjon når blodtilførselen gjenoprettes. Dannelsen av frie oksygenradikaler ved reperfusjon er også med på å utløse frigjøringen av de proinflammatoriske mediatoene og at et økt antall adhesjonsmolekyler uttrykkes i endotelcellene [36].

De aktiverte immuncellene vil i sin tur frigjøre nye kjemotaktiske substanser som fører til en ytterligere aggregasjon av leukocytter. Degranulering av nøytrofile granulocytter fører til sekresjon av elastase og collagenase som skader både endotelet i åreveggen og selve myokard. Som nevnt vil de neutrofile granulocytterne dessuten frigjøre betydelige mengder frie oksygenradikaler generert hovedsakelig gjennom NADPH oksydasesystemet. Sammen med de proteolytiske enzymene vil de frie oksygenradikalene kunne forårsake celleskade. Vasokonstriksjon, plate- og leukocyttagregering er immunmedierte responser som dessuten kan føre til tetting av mikrovaskulaturen slik at vevsreperfusjon blir betydelig redusert. Dette er trolig en av mekanismene bak no reflow fenomenet omtalt i avsnittet om endotel dysfunksjon.

Flere studier har både vist en økt akkumulering av neutrofile granulocytter ved reperfusjon og en sammenheng mellom reduksjon i infarktstørrelse og redusert antall leukocytter. Likevel er det knyttet en viss usikkerhet til om det er direkte årsakssammenheng mellom de nøytrofile granulocytterne og reperfusjonsskadene, eller om det rett og slett er en inflammatorisk respons på skade fra andre mekanismer som cytokiner og frie oksygenradikaler [36].

Økt blodstrøm etter reperfusjon

Etter reperfusjon ses initialt det som kalles hyperemisk flow i det tidligere avstengte området. Blodstrømmen etter reperfusjon kan være så mye som 7-10 ganger større enn basalgjennomstrømningen. Man kan tenke seg at den dramatiske flowøkningen forårsaker blødning i myokard, ødem og skadelige forandringer ekstra- og intracellulært [37, 38] Faktisk har studier funnet en positiv effekt på infarktstørrelsen ved kontrollert reflow [39]. Forlenget tid med acidose postiskemisk kan redusere

reperfusjonsskade ved å hindre calcium-overload induisert kontraktur. Dette kan være mekanismen bak en eventuell fordel ved kontrollert reflow [40].

Åpning av mPTP (mitochondrial permeability transition pore)

Hovedkomponentene i mPTP er adenin nucleotid translokase (ANT) og mitokondrielt cyclophilin D (CyP-D), samt en spenningsavhengig anion kanal (VDAC). Under normale forhold danner ANT og CyP-D et impermeabelt kompleks lokalisert i den indre mitokondriemembranen. Dannelse av mPTP kan skje ved forskjellige mekanismer; endret CyP-D binding til ANT, endret nukleotidbinding til ANT og gjennom direkte effekt av calcium på ANT [41]. Senere studier tyder på at det i all hovedsak er CYP-D som er av betydning for åpning av mPTP [42, 43].

Oksidativt stress og dannelse av frie radikaler ved reperfusjon, samt postiskemisk calcium-overload og en rekke andre postiskemiske forhold kan via de overnevnte mekanismer føre til åpning av mPTP ved reperfusjon. Det er vist at mPTP åpnes ved reperfusjon, og ikke under den forutgående iskemien [41, 44].

Når mPTP dannes og den indre mitokondriemembranen blir permeabel vil det skje en frikobling av elektrontransportkjeden/oksidativ fosforylering pga fri flyt av protoner over membranen. Dette fører til tap av ATP produserende evne. Samtidig vil det tapes ioner og små molekyler fra mitokondriet, og de store molekylene som forblir intramitokondrielle forårsaker en osmotisk gradient som igjen gir ekstensiv svelling av mitokondriet [45]. Vedvarende ioneubalanse, spesielt med hensyn på calcium, vil aktivere forskjellige degenerative enzymer og dermed forverre skaden.

Åpning av mPTP kan føre til nekrose og/eller apoptose av cellen. Når mitokondriet sveller vil den ytre membranen sprekke, og føre til frigjøring av bl.a. cytokrom c, som er et viktig signal for å indusere apoptose. Apoptose skjer gjennom aktivering av kaspase-kaskader. Om celledøden etter reperfusjon er apoptotisk eller nekrotisk kan avhenge av i hvilken grad åpning av mPTP har funnet sted, samt om kanalen lukkes igjen. Alle intervensjoner som virker på åpningen av mPTP direkte eller som påvirker faktorer som leder til åpning (oksidativt stress, økt calcium, høy pH etc.) vil kunne ha

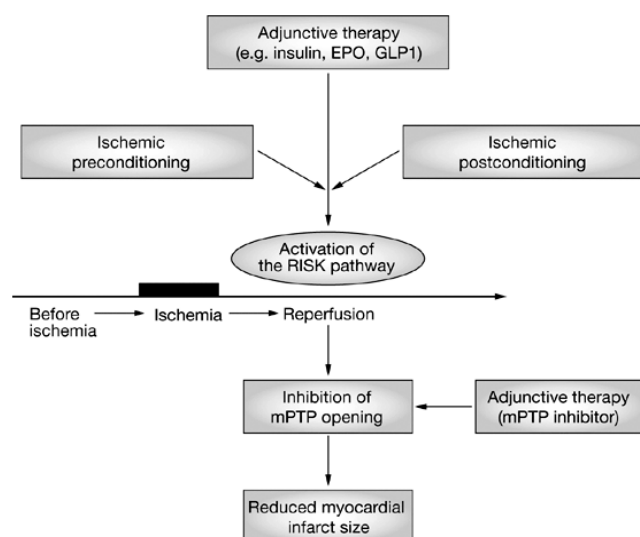
effekt på omfanget av reperfusjonsskaden. En rekke farmakologiske agens kan virke hemmende på mPTP, enten direkte eller ved å hindre omstendigheter som fører til åpning av mPTP.

Gjennom bruk av knock out mus har forsøk vist at å hindre mPTP-åpning spiller en avgjørende rolle for den kardioprotektive effekten både av prekondisjonering og postkondisjonering, iskemisk så vel som farmakologisk [12]. Hos knock out musene hadde man fjernet cyclophilin-D, slik at mPTP dannelse i utgangspunktet var hindret. Disse musene hadde ikke noen tilleggseffekt av postkondisjonering eller prekondisjonering. Dette betyr at effekten allerede var hentet ut, og at pre- og postkondisjonering virket gjennom inhibering av mPTP dannelse.

Forsøk på kanin har i likhet med overnevnte studie vist at inhibering av mPTP åpning reduserer infarktstørrelsen i forhold til ren reperfusjon [13]. Intervensjon ble gjort med cyclosporin A eller NIM811, som er et mer spesifikt derivat av cyclosporin A. NIM811 binder seg kun til mitokondrielt cyclophilin A, i motsetning til cyclosporin A som også binder cyc A i cytosol. Det er vist at calcium overload i cellen er viktig for å åpne mPTP. Ved bruk av NIM811 på reperfusjonstidspunktet tåler cellen vesentlig høyere konsentrasjon av kalsium før mPTP åpnes. Forsøk er gjort både med isolerte mitokondrier og in vivo hos kaniner. Forsøket viste også at NIM811 hadde en bedre beskyttende effekt enn cyc A. Kaninene fikk NIM811 eller cyc A intravenøst, og dermed kan man tenke seg administrasjon av disse midlene sammen med trombolytiske midler vil kunne gi beskyttelse mot reperfusjonsskade.

RISK

Apoptose har blitt vist å ha betydning for reperfusjonsskade etter iskemi [9-11]. I jakten på mulige intervensjonsområder for å redusere reperfusjonsskade har man forsøkt å finne mekanismer som motvirker slik celledød. Reperfusion Injury Salvage Kinase Pathway (RISK) er et begrep som brukes om en gruppe kinaser med det man kan kalle anti-apoptotisk- eller pro-"overlevelseseffekt" [46, 47]. Dette er altså signalkaskader som beskytter mot celledød ved å rekruttere cellenes egne antiapoptotiske mekanismer. RISK signalveien omfatter "overlevelseskinaser" som PI3K (fosfatidylinositol-3-OH kinase)-Akt og ERK (ekstracellulære signalregulerte kinaser) 1 og 2 [48]. Hvilke mekanismer signalveiene aktiverer for beskyttelse av myokard er enda ikke klarlagt i detalj, men endepunktene synes å være en rekke stoffer som normalt er proapoptotiske. Etter hvert har man ment at også andre signalveier må være involvert. RISK har også vist seg å virke hemmende på åpning av mPTP, uten at man kjenner koblingen mellom disse i detalj [49]. Det som er klart er at RISK utgjør en felles signalvei for beskyttelse av myokard som aktiveres både ved pre- og postkondisjonering [50]. Denne felles signalveien kan tenkes som et mulig mål for beskyttelse av hjertet mot reperfusjonsskade ved medikamentell aktivering av "overlevelseskinasene". Eventuelt kan man tenke seg å hemme mPTP direkte, eller en kombinasjon av disse alternativene.



Figur 2: Skjematisk presentasjon av den felles cardioprotektive signalveien RISK. "Overlevelseskinasene" utgjør en felles signalvei som formidler effekten av både iskemisk pre- og postkondisjonering. RISK kan også aktiveres av en rekke medikamenter som Insulin, EPO osv. Endepunktet og det som gir den beskyttende effekten på hjertet er hemming av mPTP åpning [51].

Klinisk anvendelse av postkondisjonering

Man har to muligheter til å anvende postkondisjonering i klinisk sammenheng, nemlig iskemisk og farmakologisk. Iskemisk postkondisjonering er å utsette myokard for nye episoder med iskemi under reperfusjonen, mens man ved farmakologisk postkondisjonering kan benytte seg av ulike agens som aktiverer signalveier som begrenser reperfusjonsskade. Iskemisk postkondisjonering lar seg gjennomføre ved PCI eller bypassoperasjoner, mens man ved trombolyse, som fortsatt er den hyppigst anvendte reperfusjonsmetoden på verdensbasis, vil måtte benytte farmakologiske metoder.

Iskemisk postkondisjonering

Vi skal nedenfor gå gjennom noen av studiene som er gjort av effekten av postkondisjonering. Hensikten er å vurdere om man har dokumentert effekten av postkondisjonering godt nok, og hva slags metoder som er prøvd ut. Før gjennomgangen av studiene presenterer vi de målemetodene og endepunktene som brukes i studiene.

Målemetoder og endepunkt

Infarktstørrelse brukes som endepunkt, siden målet er å redusere infarktstørrelsen. Det anvendes flere metoder for å estimere infarktstørrelse. Bare i dyreforsøk er det mulig å foreta postmortem-undersøkelse. Risikoområde (area at risk) beregnes hos forsøksdyr ved å bestemme forsyningsområde til et bestemt koronarkar, og den faktiske infarktstørrelsen angis i % av risikoområde.

Hos mennesker benyttes blant annet CK-verdier i serum og TIMI grad [52]. TIMI er et mål på perfusjonen i myokard, og graderes fra 0 til 3, hvor grad 0 er ingen perfusjon mens grad 3 svarer til normale forhold. Dette er altså kun et indirekte mål på infarktstørrelse, og sier kun noe om perfusjonen i myokard etter reperfusjon. CK (kreatin kinase) har lenge vært brukt som en indikator på hjerteinfarkt (AMI). Ved AMI stiger CK-verdien i plasma få timer etter infarkt, når maksimal verdi etter ca et døgn, og normaliseres etter ca tre døgn. CK er imidlertid ikke spesifikk for

myokardskade, men finnes også i hjernen og i skjelettmuskulatur, samt noen typer glatt muskulatur. Man antar at jo mer CK som måles i tiden etter reperfusjon, desto større myokardskade. Som vi kommer tilbake til nedenfor er det studier (ref) som viser god korrelasjon mellom infarktstørrelse etter reperfusjon og CK verdien i plasma. Det er også andre stoffer i plasma (MDA) som kan måles i blodet og være indikatorer for infarktstørrelse.

Forandringer i EKG er en viktig indikator for iskemi i myokard, men brukes kun i begrenset grad for å kvantifisere størrelsen på et infarkt. ST-elevasjoner i EKG kan forekomme ved myokardiskemi når infarkt er av en viss størrelse. ST-elevasjonene er egentlig en senking av grunnlinjen i EKG og et relativt sikkert tegn på iskemi. Infarkter med slike EKG forandringer kalles STEMI (ST-elevasjons myokard infarkt), mens infarkt uten ST-elevasjon følgelig kalles non-STEMI. EKG forandringer omtales i flere av studiene av postkondisjonering. Klinisk brukes idag troponiner som en sikker indikator på myokardiskemi. I de studiene vi har sett på brukes ikke troponiner som mål på infarktstørrelse, men nevnes her fordi det brukes i andre forskningsmessige sammenhenger.

Studier av iskemisk postkondisjonering på menneske

I 2005 publiserte Staat og medarbeidere resultatene av en klinisk randomisert kontrollert studie der iskemisk postkondisjonering ble brukt som adjuvant terapi ved PCI etter hjerteinfarkt hos mennesker [52]. Som mål på infarktstørrelsen brukte de CK-verdiene i tiden etter inngrepet. Risikoområdet og kollateral flow ble estimert ved hjelp av angiografi av venstre ventrikel og koronarkar. Disse faktorene, altså risikoområde og kollateral flow, er sammen med tiden myokard er utsatt for iskemi, viktige determinanter for infarktstørrelsen [52]. I forsøket til Staat et al. ble disse vurdert å være like nok i kontrollgruppen og intervensjonsgruppen til at sammenligning var mulig.

Tretti pasienter med pågående AMI ble valgt ut til forsøket, og delt i en kontrollgruppe og en intervensjonsgruppe. Reperfusjon av infarktområdet ble gjort ved PCI med ballongkateter og stenting. Intervensjonsgruppen fikk utført iskemisk postkondisjonering etter reperfusjon. Dette ble gjort ved at ballongen etter stenting

ble plassert rett ovenfor stenten og reflatert med lavt trykk (4-6 atm) i alt fire ganger å ett minutt med ett minutts mellomrom. Etter åtte minutter fra tidspunktet stenten ble implantert, ble det i begge gruppene gjort koronar angiografi for å estimere TIMI grad som mål på myokard-perfusjon. Serum CK-verdiene ble målt ved innkomst, hver fjerde time etter reperfusjonen dag 1 og hver sjettede time dag 2 og 3. Arealet under kurvene ble brukt som mål på eventuell effekt av postkondisjoneringen.

Prospektivt var det bestemt at pasienter med for høy grad av kollateraler til risikoområdet (Rentrop grad 1 eller mer), pasienter med angina de siste 48 timene før AMI (pga muligheten for allerede prekondisjonert myokard) og pasienter hvor man ikke fikk tilstrekkelig reperfusjon bedømt etter TIMI grad, skulle ekskluderes fra forsøket. Ut fra disse kriteriene ble tre pasienter ekskludert.

Infarktstørrelsen med utgangspunkt i arealet under CK-kurvene ble redusert med 36 % hos pasienter som fikk iskemisk postkondisjonering. Data indikerte også at postkondisjonering hadde effekt uavhengig av risikoarealets størrelse. Man fant også en signifikant høyere TIMI grad i de postkondisjonerte hjertene, sannsynligvis som tegn på at reperfusjonen var mest vellykket etter postkondisjonering. TIMI grad er også lansert som en markør for langtidsmortalitet hos AMI pasienter [53]. Regresjon av ST elevasjon er en annen viktig faktor for bevart myokardperfusjon etter AMI [54]. Denne faktoren var imidlertid ikke signifikant forskjellig i gruppene hos Staat og medarbeidere [52].

Det er ikke nevnt om det kliniske utfallet ble kontrollert med måling av EF (ejeksjonsfraksjon) med ekko doppler i etterkant. Dette ville vært av interesse da EF med ekko er et godt mål på funksjons-sekvele etter infarkt, og derfor også på behandlingseffekt. Det er spesielt verdt å merke seg at det i studien ikke ble funnet noen bivirkninger av iskemisk postkondisjonering. I studiene basert på dyreforsøk er dette ikke kommentert, og i alle fall ville man ikke kunne se noen langtidsbivirkninger da dyrene ble avlivet kort tid etter forsøket.

Det andre kliniske studiet av iskemisk postkondisjonering i forbindelse med PCI ble publisert samme år [55]. Også dette var et kontrollert og randomisert forsøk. Sytten pasienter ble inkludert, hvorav ti i iskemisk postkondisjonering gruppen og syv i

kontrollgruppen. Som mål på perfusjonen i myokard etter PCI brukte studien ST-elevasjon, og tilbakegang av denne, samt dopplermåling av flow. Protokollen som ble brukt for iskemisk postkondisjonering var 90 sekunder med oppblåst ballong, etterfulgt av 3-5 minutters fri reperfusjon, igjen etterfulgt av nye 90 sekunders okklusjon med oppblåst ballong. I kontrollgruppen okkluderte man i 90 sekunder på tidspunktet svarende til den andre okklusjonen hos iskemisk postkondisjoneringgruppen. Man fant her en signifikant forskjell i høyde og regresjon av ST-elevasjonene mellom de to gruppene, hvor iskemisk postkondisjonering gruppen kom best ut. Studien viste også bedre post-PCI flow i de kondisjonerte hjertene. Heller ikke i denne studien fant man noen negative bivirkninger av postkondisjoneringen. Det er verdt å merke seg at studien ikke var designet for å undersøke infarktstørrelse, men for å undersøke om postkondisjonering endret perfusjonsforholdene i myokard etter PCI.

Studier av iskemisk postkondisjonering på dyr

Den første studien som beskriver postkondisjonering kom i 2003 og hadde som mål å sammenlikne effekten av postkondisjonering med prekondisjonering [6]. Studien inkluderte 29 hunder og konkluderte med at postkondisjonering er like effektivt for reduksjon av reperfusjonsskade som prekondisjonering. I forhold til kontrollgruppen ga postkondisjoneringen en signifikant reduksjon i infarktstørrelsen. I det følgende beskrives studien i detalj.

Hundene ble påført myokardiskemi gjennom okklusjon av LAD med en ligatur. LAD ble okkludert i 60 minutter. Hos kontrollhundene ble ligaturen deretter åpnet uten noen ytterligere form for intervensjon. Hos postkondisjoneringshundene ble LAD først åpnet i 30 sekunder, for deretter å bli okkludert i 30 sekunder, og dette ble gjentatt i alt tre ganger. Etter 60 minutter med okklusjon ble kollateralforsyningen målt ved angiografi, og deretter pågikk forsøket i 3 timer med fri reperfusjon. Forfatterne av studien konkluderer med at det er en signifikant reduksjon av infarktstørrelse ved iskemisk postkondisjonering, også etter at det er kontrollert for forskjeller i kollateralforsyning. I postkondisjoneringsgruppen ble det også påvist signifikant reduksjon i CK-verdi, vevsødem, MPO-aktivitet, PMN-adheranse, p-selektinekspresjon og signifikant bedre endotelfunksjon i postkondisjoneringsgruppen

sammenliknet med kontrollgruppen. Postkondisjonering ser altså ut til å redusere reperfusjonsskaden, og dermed bedre prognosen etter AMI og reperfusjonsterapi.

Også forsøk på rotter med åpen thorax har vist stor effekt av iskemisk postkondisjonering [36]. Protokollen var okklusjon av LAD i 30 minutter med 3 timers reperfusjon. Seks grupper, hvorav én kontrollgruppe og to grupper med postkondisjonering etter ulike sekvenser er relevante her. Disse to gruppene fikk postkondisjonering i henholdsvis ett og to minutter, med vekslende okklusjon og reperfusjon hvert tiende sekund. Man fant at postkondisjonering i begge gruppene reduserte infarktstørrelsen med 23 %. Infarktstørrelsen ble bestemt med TTC farging. Målinger av plasma CK aktivitet stemte overens med disse funnene.

I kaninstudier har man funnet en større effekt av postkondisjonering enn man finner hos rotter [13]. Man mener at rotter har en høyere xanthine oxidase aktivitet enn andre arter, og større produksjon av frie radikaler, som kan forklare forskjellen i effekt [36]. Dog er effekten av iskemisk postkondisjonering klart signifikant hos alle arter det er gjort studier på. Videre kan det kommenteres at siden plasma CK og MPO viser en lineær sammenheng med infarktstørrelsen kan disse muligvis brukes som mål på effekt av iskemisk postkondisjonering hos mennesker etter reperfusjon.

Studie	Studieobjekt	Metode	Effekt (red infarktstørrelse)
Zhao et al 2003	Hund in vivo	Iskemisk	44%
Kin et al	Rotter in vivo	Iskemisk	23 %
Arguad et al	Kaniner in vivo	NIM811	58%
Staat	Mennesker	Iskemisk	36%

Tabell 1: Tabellen gir en oversikt over effekten av postkondisjonering i studiene beskrevet over.

Farmakologisk postkondisjonering

RISK kan aktiveres farmakologisk ved hjelp av en rekke ulike substanser. Fordi man nå ser RISK signalveien med virkning på mPTP som endepunktet for både pre- og postkondisjonering, har vi valgt å konsentrere oss om intervensjon på denne signalveien når vi omtaler farmakologisk intervensjon på reperfusjonstidspunktet. Da

slik terapi intervensjoner på RISK i likhet med iskemisk postkondisjonering og IPK har vi valgt å omtale denne som farmakologisk postkondisjonering. Stadig nye medikamenter viser seg å kunne beskytte hjertemuskelceller mot reperfusjonsskade ved aktivering av RISK. I de følgende avsnitt vil vi drøfte en del av disse. Vi har valgt å dele inn i tre grupper; vekstfaktorer/cytokiner, stoffer som virker på G-proteinkoblede reseptorer og stoffer der effektene ikke er reseptormedierte. Vi omtaler noen få sentrale medikamenter som enten er i bruk allerede i behandling av andre tilstander, eller har blitt testet i kliniske studier. De resterende agens som virker via aktivering av RISK er presentert i tabell 1.

Vekstfaktorer

Vekstfaktorer er en heterogen gruppe stoffer som binder seg til sine spesifikke reseptorer på celleoverflaten og fremkaller ulike intracellulære reaksjoner fra stimulering av cellevekst til celledød. I forbindelse med postkondisjonering vil ligandbinding på vekstfaktorreseptorer, resultere i aktivering av reseptorens tyrosinkinase som så aktiverer PI3K-Akt og ERK 1/2 signalkaskadene [49].

Insulin

Kombinasjonen insulin, glukose og kalium (GIK-terapi) er vist å gi beskyttelse av myokard etter iskemi [56]. Kliniske studier har også vist redusert mortalitet hos pasienter som får GIK-terapi ved reperfusjon etter AMI [57]. Etter hvert har det vist seg at administrasjon av insulin alene på reperfusjonstidspunktet også gir beskyttende effekt mot reperfusjonsskade [58]. Insulin har vært vist å virke via aktivering av PI3k-Akt delen av RISK signalveien [59] som igjen fosforilerer andre enzymesystemer som p70s6, BAD [58] og eNOS [60]

Erythropoietin

Erythropoietin (EPO) er et hormon som i hovedsak produseres i de juxtatubulære cellene i nyrene og som lenge har vært anvendt klinisk for behandling av tilstander som gir alvorlig anemi. Flere studier har vist at EPO også har en beskyttende effekt på

hjertet ved iskemi. Fordi EPO er sentralt i dannelsen av erytrocytter, antok man lenge at den gunstige effekten på iskemisk hjertemuskel skyldtes bedret oksygenering. Senere studier har man imidlertid utelukket at effekten skyldes økt oksygenering, både ved å kontrollere konstante hematokritnivåer [61] og i studier av celler der oksygenivået har blitt holdt konstant [62]. EPO har også vært vist å aktivere deler av RISK som PI3K-Akt [63, 64] og ERK 1/2 [65]. EPO kan være anvendelig i en klinisk reperfusjonssituasjon enten som et tillegg til farmakologisk trombolytisk behandling eller under angioplastikk [66]

G-Proteinkoblede reseptorer

G-protein koblede reseptorer (GPCR) er den største gruppen av reseptorer i kroppen. Signaloverføringen fra GPCR formidles av de intracellulære signalmolekylene G-proteiner som igjen utløser en signalkaskadereaksjon. GPCR er sentrale i en rekke av kroppens fysiologiske prosesser. Ligandbinding på GPCR gir transaktivering av reseptorens tyrosin kinase, som igjen fører til aktivering av PI3K-Akt og ERK 1/2 signalkaskadene [49]

Adenosin

Adenosin består av den nitrogenholdige basen Adenin bundet til Ribose, og er sentral for energiomsetningen i kroppens celler. I dyreforsøk har det gjennom bruk av ulike Adenosinreseptorantagonister, blitt påvist at Adenosin kan beskytte hjertet mot reperfusjonsskade [47, 67]. Store kliniske studier har også vist at Adenosin gitt ved reperfusjon kan redusere infarktstørrelsen hos AMI pasienter [68, 69]. Ytterligere studier er imidlertid påkrevet for å vise noen endring i klinisk endepunkt for pasientene med tanke på utvikling av hjertesvikt [69].

Glukagonlignende Peptid 1

Glukagonlignende peptid 1 (GLP-1) er et hormon i gruppen inkretiner som produseres av enteroendokrine celler. GLP-1 frigjøres fra tarmen til blodbanen i løpet av minutter etter matinntak og nedbrytes raskt av enzymet dipeptidyl-peptidase 4 (DPP-4). Enzymet fasiliterer glukoseindusert insulinsekresjon og reduserer glukagonfrisetting. At effekten er glukoseavhengig innebærer at inkretinene kun virker ved økede nivåer

av blodglukose. GLP-1-reseptoren er G-proteinkoblet og uttrykkes i en rekke organer, deriblant i hjertet [70]. Videre har det blitt vist at GLP-1 aktiverer "overlevelseskinasen" PI3K i betaceller [71], noe som er interessant i et kardioprotektivt øyemed ettersom disse kinasene har blitt bekreftet å ha en kardiobeskyttende effekt. På bakgrunn av dette har forsøk på isolerte og intakte rottehjerter vist at GLP-1 beskytter mot iskemi- så vel som reperfusjonsskade [72].

GLP-1 har også blitt utprøvd på mennesker i behandling av iskemisk hjertesykdom. På pasienter med AMI og alvorlig systolisk dysfunksjon har man sett at GLP-1 infusjon etter PCI gir bedret venstre ventrikkelfunksjon sammenlignet med de som kun ble behandlet med PCI [73].

Ikke reseptormediert

Noen medikamenter aktiverer deler av den intracellulære RISK-signalkaskaden uten at effekten medieres av en reseptor. Denne gruppen omfatter for eksempel statiner.

Statiner/Atorvastatin

Atorvastatin tilhører en gruppe medikamenter som lenge har vært benyttet i forebyggende behandling av iskemisk hjertesykdom. Atorvastatin har blitt brukt en del i forsøk som har med intervensjon mot reperfusjonsskade å gjøre. Statiner virker hemmende på enzymet HMG-CoA reductase som er et sentralt ledd i syntesen av kolesterol. Etterhvert har studier vist mulige gunstige effekter av statiner utover kolesterolsenkende virkning. Blant annet har forsøk på rottehjerter vist at statiner kan redusere skadevirkningen av reperfusjon etter iskemi [74]. Denne beskyttelsen mot reperfusjonsskade har senere vært vist å kunne skyldes en direkte effekt på myokard mediert av signalkaskadene PI3K, Akt og eNOS [75]. På menneske har man vist at atorvastatin gitt i høy dose innen 24 timer etter PCI, har gitt bedret klinisk utfall [76]. For å knytte statiner til beskyttelse av reperfusjonsskade direkte, må flere studier gjøres der statiner gis samtidig som reperfusjon.

Andre agens som virker på RISK

Stadig nye medikamenter viser seg å kunne beskytte hjertemuskelceller mot

reperfusjonsskade. I tabellen under har vi nevnt flere agens som har vist seg å kunne aktivere RISK-signalveien men som vi ikke drøfte i detalj.

CYTOKINER/VEKSTFAKTORER	G-PROTEINKOBLEDE RESEPTORER	IKKE-RESEPTOR MEDIERT
TGF- β 1	Urocortin	Isofluran
IGF-1	Bradykinin	Metformin
CT-1	Opioider	
FGF-2	Adrenomedullin	
C-GSF		
Leptin		
Apelin		
Visfatin		

Tabell 2: Tabellen er modifisert etter Hausenloy og Yellon 2007 [49]. Hensikten er å gi en oversikt over stoffer som har vist effekt på reperfusjonsskade, men som det er utenfor rekkevidden av dette arbeidet å gå nærmere inn på.

OPPSUMMERING OG KONKLUSJON

Vi begynte med å se på antatte mekanismer for reperfusjonsskade. Reperfusjonsskade er omtalt i litteraturen siden begrepet ble lansert av Braunwald i 1985. Mange forskjellige mekanismer er lansert som hovedansvarlige og medvirkende for reperfusjonsskade. Studier av reperfusjonsskader har fått ny interesse etter lanseringen av postkondisjonering i 2003. Man kan se postkondisjonering som en manipulasjon med reperfusjonen etter koronarokklusjon, enten gjennom re-okklusjon (iskemisk) eller med medikamenter.

Det synes sannsynlig at postkondisjonering virker på de samme mekanismene som gir reperfusjonsskade og som kulminerer i åpning av mPTP. Postkondisjonering er da også vist av Lim og medarbeidere å hemme åpning av mPTP. Man antar at dette skjer gjennom aktivering av ”overlevelseskinaser” (RISK), og siden dette er en del av det cellulære anti-apoptose systemet, er det naturlig å anta at mesteparten av reperfusjonsskaden skjer ved celledød gjennom apoptose. Et av de største forskningsmessige problemene på feltet har vært å påvise den faktiske eksistensen av

reperfusjonsskade. For å studere fenomenet er det nødvendig å først ha en iskemisk tilstand, og denne vil alltid skade cellen. Når man nå kan påvise virkningsmekanismen for postkondisjonering, har man langt på vei løst dette problemet. Postkondisjonering skjer etter iskemien, og man må derfor anta at den skaden iskemisk postkondisjonering hindrer ville oppstått etter iskemien.

Postkondisjonering kan altså sees som en bekreftelse på reperfusjonsskadens eksistens, og er samtidig et fenomen som effektivt og signifikant reduserer infarktstørrelsen etter reperfusjon hos forsøksdyr. Det finnes kun to publiserte studier der iskemisk postkondisjonering er anvendt på mennesker. Begge viste effekt av postkondisjonering på graden av skade i myokard etter reperfusjon med PCI hos pasienter med STEMI. Siden effekten av både iskemisk og farmakologisk postkondisjonering nå er grundig dokumentert i forsøksdyr, og det ikke er vist noen bivirkninger, er det ønskelig med flere kliniske studier av effekten hos mennesker. På det cellulære plan gjenstår det å finne de nøyaktige mekanismene for involvering av RISK, slik at intervensjonen kan bli mest mulig effektiv.

Referanser

- [1] Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest.* 1985;76:1713-9.
- [2] Weir RA, McMurray JJ. Epidemiology of heart failure and left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction. *Curr Heart Fail Rep.* 2006; 3:175-80.
- [3] Marber M, Walker D, Yellon D. Ischaemic preconditioning. *BMJ.* 1994 ;308:1-2
- [4] Kuzuya T, Hoshida S, Yamashita N, Fuji H, Oe H, Hori M, Kamada T, Tada M. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res.* 1993;72:1293-9.
- [5] Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation.* 1993;8:893-9.
- [6] Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H579-88.
- [7] Kerendi F, Kin H, Halkos ME, Jiang R, Zatta AJ, Zhao ZQ, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Remote postconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors. *Basic Res Cardiol.* 2005;100:404-12.
- [8] Piper HM, Garcia-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 1998;38:291-300.
- [9] Gottlieb RA, Burlison KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest* 1994;94:1621-1628.
- [10] Freude B, Masters TN, Robicsek F et al Apoptosis is initiated by myocardial ischemia and executed during reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 200;32:197-208.
- [11] Zhao ZQ, Morris CD, Budde JM et al. Inhibition of myocardial apoptosis reduces infarct size and improves regional contractile dysfunction during reperfusion. *Cardiovasc Res* 2003;59:132-142.
- [12] Lim SY, Davidson SM, Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: the essential role of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res* 2007;75:530-5.
- [13] Argaud L, Gateau-Roesch O, Raïsky O, Loufouat J, Robert D, Ovize M. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* 2005;111:194-7.
- [14] Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* 2003;75:S644-8.
- [15] Schafer C, Ladilov YV, Siegmund B, Piper HM. Importance of bicarbonate transport for protection of cardiomyocytes against reoxygenation injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;278:H1457-63.
- [16] Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Zatta AJ, Kin H, Halkos ME, Kerendi F. Postconditioning-A new link in nature's armor against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol.* 2005;100:295-310.
- [17] Siegmund B, Kliez T, Schwartz P, Piper HM. Temporary contractile blockage prevents hypercontracture in anoxic-reoxygenated cardiomyocytes. *Am J Physiol* 1991;260:H426-35.
- [18] Garcia-Dorado D, Theroux P, Duran JM, Solares J, Alonso J, Sanz E et al. Selective inhibition of the contractile apparatus. A new approach to modification of infarct size, infarct composition, and infarct geometry during coronary artery occlusion and reperfusion. *Circulation.* 1992;85:1160-74.

- [19] Inerte J, Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Padilla F, Barrabes JA, Pina P. Effect of inhibition of Na(+)/Ca(2+) exchanger at the time of myocardial reperfusion on hypercontracture and cell death. *Cardiovasc Res.* 2002;55:739-48.
- [20] Klein HH, Pich S, Bohle RM, Lindert-Heimberg S, Nebendahl K. Na(+)/H(+) exchange inhibitor cariporide attenuates cell injury predominantly during ischemia and not at onset of reperfusion in porcine hearts with low residual blood flow. *Circulation.* 2000;102:1977-82.
- [21] Zeymer U, Suryapranata H, Monassier JP, Opolski G, Davies J, Rasmanis G, Linszen G, Tebbe U, Schroder R, Tiemann R, Machnig T, Neuhaus KL; ESCAMI Investigators. The Na(+)/H(+) exchange inhibitor eniporide as an adjunct to early reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Results of the evaluation of the safety and cardioprotective effects of eniporide in acute myocardial infarction (ESCAMI) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38:1644-50.
- [22] Padilla F, Garcia-Dorado D, Agullo L, Inerte J, Paniagua A, Mirabet S, Barrabes JA, Ruiz-Meana M, Soler-Soler J. L-Arginine administration prevents reperfusion-induced cardiomyocyte hypercontracture and reduces infarct size in the pig. *Cardiovasc Res.* 2000;46:412-20.
- [23] Segawa D, Sjoquist PO, Wang QD, Gonon A, Ryden L. Time-dependent cardioprotection with calcium antagonism and experimental studies with clevidipine in ischemic-reperfused pig hearts: part II. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2002;40:339-45.
- [24] Bolli R. Oxygen-derived free radicals and myocardial reperfusion injury: an overview. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1991;5:249-68.
- [25] Venardos KM, Kaye DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. *Curr Med Chem.* 2007;14:1539-49.
- [26] Ambrosio G, Flaherty JT, Duilio C, Tritto I, Santoro G, Elia PP, et al. Oxygen radicals generated at reflow induce peroxidation of membrane lipids in reperfused hearts. *J Clin Invest.* 1991;87:2056-66.
- [27] Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2006;70:181-90.
- [28] Seal JB, Gewertz BL. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann Vasc Surg.* 2005 Jul;19(4):572-84.
- [29] DeFily DV. Control of microvascular resistance in physiological conditions and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol.* 1998 Dec;30(12):2547-54.
- [30] Kevil CG, Ohno N, Gute DC, Okayama N, Robinson SA, Chaney E, Alexander JS. Role of cadherin internalization in hydrogen peroxide-mediated endothelial permeability. *Free Radic Biol Med.* 1998 Apr;24(6):1015-22.
- [31] Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull.* 2004 Oct 19;70:71-86. Print 2004. Review. Erratum in: *Br Med Bull.* 2005;73-74:139.
- [32] Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation--the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *Int J Cardiol.* 2002;86:41-59.
- [33] Khalil AA, Aziz FA, Hall JC. Reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117:1024-33.
- [34] Monson KM, Dowlatshahi S, Crockett ET. CXC-chemokine regulation and neutrophil trafficking in hepatic ischemia-reperfusion injury in P-selectin/ICAM-1 deficient mice. *J Inflamm (Lond).* 2007;4:11.
- [35] Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* 2003;75:S644-8.
- [36] Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME et al. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res.* 2004;62:74-85.
- [37] Piper HM, Siegmund B, Ladilov YuV, Schlüter KD. Calcium and sodium control in hypoxic-reoxygenated cardiomyocytes. *Basic Res Cardiol.* 1993;88:471-82.
- [38] Sjaastad I, Grund F, Ilebekk A. Effects on infarct size and on arrhythmias by controlling

reflow after myocardial ischaemia in pigs. *Acta Physiol Scand* 200;169:195-201

- [39] Yamazaki et al (1986)
- [40] Hori M, Kitakaze M, Sato H, Takashima S, Iwakura K, Inoue M et al. Staged reperfusion attenuates myocardial stunning in dogs. Role of transient acidosis during early reperfusion. *Circulation* 1991;84:2135-45.
- [41] Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion--a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004;61:372-85.
- [42] Baines CP The mitochondrial permeability transition pore as a target of cardioprotective signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H903-4.
- [43] Kokoszka JE, Waymire KG, Levy SE, Sligh JE, Cai J, Jones DP, MacGregor GR, Wallace DC. The ADP/ATP translocator is not essential for the mitochondrial permeability transition pore. *Nature.* 2004;427:461-5.
- [44] Krolkowski 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;101:1590-6.
- [45] Halestrap AP, Doran E, Gillespie JP, O'Toole A. Mitochondria and cell death. *Biochem Soc Trans.* 2000;28:170-7.
- [46] Hausenloy DJ, Yellon DM. Survival kinases in ischemic preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006;70:240-253.
- [47] Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovasc Res* 2004 61:448-460
- [48] Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu M, Yellon DM. Ischemic Preconditioning Protects by activating Pro-Survival Kinases at Reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288:H971-H976.
- [49] Hausenloy DJ, Yellon DM. Reperfusion injury salvage kinase signalling: taking a RISK for cardioprotection. *Heart Fail Rev* 2007;12:217-234.
- [50] Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: United at reperfusion. *Pharmacol Ther* 2007; doi:10.1016/j.pharmthera.2007.06.005.
- [51] Yellon DM, Hausenloy DJ. Realizing the clinical potential of ischemic preconditioning and postconditioning. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005;2:568-75.
- [52] Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I et al. Postconditioning the human heart. *Circulation.* 2005;112:2143-8.
- [53] van 't Hof AW, Liem A, Suryapranata H, Hoorntje JC, de Boer MJ, Zijlstra F. Angiographic assessment of myocardial reperfusion in patients treated with primary angioplasty for acute myocardial infarction: myocardial blush grade. Zwolle Myocardial Infarction Study Group. *Circulation.* 1998;97:2302-6.
- [54] Schroder R. Prognostic impact of early ST-segment resolution in acute ST-elevation myocardial infarction. *Circulation.* 2004;110:e506-10.
- [55] Laskey WK. Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2005;65:361-7.
- [56] Jonassen AK, Aasum E, Riersma RA, Mjos OD, Larsen TS. Glucose-insulin-potassium reduces infarct size when administered during reperfusion. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2000;14:615-23.
- [57] Fath-Ordoubadi F, Beatt KJ. Glucose-insulin-potassium therapy for treatment of acute myocardial infarction: an overview of randomized placebo-controlled trials. *Circulation.* 1997;96:1152-6.
- [58] Jonassen AK, Sack MN, Mjos OD, Yellon DM. Myocardial protection by insulin at

- reperfusion requires early administration and is mediated via Akt and p70s6 kinase cell-survival signaling. *Circ Res.* 2001;89:1191-8.
- [59] Baines CP, Wang L, Cohen MV, Downey JM. Myocardial protection by insulin is dependent on phosphatidylinositol 3-kinase but not protein kinase C or KATP channels in the isolated rabbit heart. *Basic Res Cardiol.* 1999;94:188-98.
- [60] Gao F, Gao E, Yue TL, Ohlstein EH, Lopez BL, Christopher TA et al. Nitric oxide mediates the antiapoptotic effect of insulin in myocardial ischemia-reperfusion: the roles of PI3K-kinase, Akt, and endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. *Circulation* 2002;105:1497-502
- [61] Moon C, Krawczyk M, Ahn D, Ahmet I, Paik D, Lakatta EG, Talan MI. Erythropoietin reduces myocardial infarction and left ventricular functional decline after coronary artery ligation in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:11612-7.
- [62] Tramontano AF, Muniyappa R, Black AD, Blendea MC, Cohen I, Deng L et al. Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;308:990-4.
- [63] Hirata A, Minamino T, Asanuma H, Sanada S, Fujita M, Tsukamoto O et al. Erythropoietin just before reperfusion reduces both lethal arrhythmias and infarct size via the phosphatidylinositol-3 kinase dependent pathway in canine hearts. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2005;19:33-40.
- [64] Hanlon PR, Fu P, Wright GL, Steenbergen C, Arcasoy MO, Murphy E. Mechanisms of erythropoietin-mediated cardioprotection during ischemia-reperfusion injury: role of protein kinase C and phosphatidylinositol 3-kinase signalling. *FASEB J* 2005;19:1323-5.
- [65] Parsa CJ, Kim J, Riel RU, Pascal LS, Thompson RB, Petrofski JA et al. Cardioprotective effects of erythropoietin in the reperfused ischemic heart: a potential role for cardiac fibroblasts. *J Biol Chem* 2004;279:20655-62.
- [66] Bullard AJ, Govewalla P, Yellon DM. Erythropoietin protects the myocardium against reperfusion injury in vitro and in vivo. *Basic Res Cardiol* 2005;100:397-493.
- [67] Xu Z, Yang XM, Cohen MV, Neuman T, Heusch G, Downey JM et al. Limitation of infarct size in rabbit hearts by the novel adenosine receptor agonist AMP 579 administered at reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32:2339-47.
- [68] Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NA, DiCarli MF, Leeser MA, Browne KF. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the Acute Myocardial Infarction Study of Adenosine (AMISTAD) trial. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:1711-20
- [69] Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, Kloner RA, Alexander RW; AMISTAD-II Investigators. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:1775-80.
- [70] Wei Y, Mojsov S. Distribution of GLP-1 and PACAP receptors in human tissues. *Acta Physiol Scand* 1996;157:355-7
- [71] Buteau J, Rduit R, Susini S, Prentki M. Glucagon-like peptide-1 promotes DNA synthesis, activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factor pancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-1) DNA binding activity in beta (INS-1)-cells. *Diabetologia* 1999;42:856-64
- [72] Bose AK, Mocanu MM, Carr RD, Brand CL, Yellon DM. Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury. *Diabetes* 2005;54:146-51.
- [73] Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D, Shannon RP. Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation* 2004;109:962-5.
- [74] Di Napoli P, Antonio Taccardi A, Grilli A, Spina R, Felaco M, Barsotti A et al. Simvastatin reduces reperfusion injury by modulating nitric oxide synthase expression: an ex vivo study in isolated working rat hearts. *Cardiovasc Res.* 2001 Aug 1;51(2):283-93.

- [75] Bell RM, Yellon DM. Atorvastatin, administered at the onset of reperfusion, and independent of lipid lowering, protects the myocardium by up-regulating a pro-survival pathway. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:508-15.
- [76] Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D et al. Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering (MIRACL) Study Investigators. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001;285:1711-8.