

# Meccanismi di protezione delle cellule miocardiche dal danno da ischemia/riperfusion e potenziali implicazioni terapeutiche

Priscilla Lamendola, Antonio Di Monaco, Lucy Barone, Chiara Pisanello, Gaetano A. Lanza, Filippo Crea

Istituto di Cardiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

**Key words:**  
Apoptosis;  
Ischemic preconditioning;  
Myocardial ischemia;  
Myocardial protection;  
Postconditioning;  
Reperfusion damage.

Myocardial cell damage caused by myocardial ischemia results from several factors that include the duration of ischemia, oxygen demand by cardiomyocytes at the time of ischemia, and the presence and entity of collateral blood flow to the ischemic area. Importantly, myocardial cell injury may derive not only from ischemia itself but also from detrimental phenomena occurring during the restoration of myocardial blood flow after the ischemic episode (reperfusion damage). In the last decades a lot of studies have demonstrated that cardiomyocytes have several mechanisms that provide them protection against the damage deriving from ischemia-reperfusion, also allowing a prolongation of survival in the most severe cases. In this article we review some of these mechanisms, also discussing their present and/or potential therapeutic applications in the clinical setting. The topics include the interventions aimed at reducing cardiac work through a reduction of oxygen demand by myocardial cells or at optimizing the utilization of energetic resources by myocardial cells in situations of ischemia, the importance of phenomena such as ischemic preconditioning (early and delayed) and postconditioning of myocardial cells, and, finally, the theoretic possibility of interventions aimed at preventing cell death consequent to apoptosis.

(G Ital Cardiol 2009; 10 (1): 28-36)

© 2009 AIM Publishing Srl

Ricevuto il 7 dicembre 2007; nuova stesura il 7 maggio 2008; accettato il 13 maggio 2008.

Per la corrispondenza:

Dr. Gaetano A. Lanza

Istituto di Cardiologia  
Università Cattolica  
del Sacro Cuore

Policlinico A. Gemelli  
Largo A. Gemelli, 8  
00168 Roma

E-mail:

g.a.lanza@rm.unicatt.it

## Introduzione

Il continuo apporto miocardico di ossigeno è fondamentale per la funzione e l'integrità dei miocardiociti, a causa del loro metabolismo prevalentemente aerobio. L'assenza o la carenza di ossigeno, infatti, porta ad una rapida sofferenza delle cellule miocardiche<sup>1</sup>.

Dal punto di vista clinico, la più frequente causa di ipossia delle cellule miocardiche è un aumento della domanda di ossigeno che non può essere soddisfatta da un proporzionale aumento del flusso ematico, a causa della presenza di una stenosi coronarica in grado di limitare la riserva di flusso. D'altro canto, l'ischemia miocardica è spesso il risultato di una primitiva riduzione del flusso arterioso, secondaria ad aumento acuto del tono vascolare coronarico (vasocostrizione, spasmo) o ad ostruzione coronarica acuta (stenosi o trombosi). Le conseguenze di un'improvvisa grave riduzione, o di una totale interruzione, del flusso coronarico ai miocardiociti dipendono soprattutto dalla sua durata e variano da una sofferenza totalmente reversibile alla morte cellulare. La presenza e il grado di sviluppo di circoli collaterali, tuttavia, condizionano in modo rilevante le conseguenze di un'ischemia acuta in una regione del miocardio, potendo garantire un flusso ematico più o meno soddisfacente all'area ischemica<sup>2</sup>.

È inoltre da sottolineare che, soprattutto dopo un'ischemia prolungata, il danno delle cellule miocardiche può derivare non solo dall'ischemia in sé, ma anche da fenomeni deleteri che si realizzano nella fase di riperfusione (danno da riperfusione), con alterazioni strutturali e funzionali che, oltre alle cellule miocardiche, coinvolgono, in particolare, anche il microcircolo coronarico<sup>3-5</sup>.

Negli ultimi decenni, tuttavia, numerosi studi hanno dimostrato come le cellule miocardiche posseggono diversi meccanismi di adattamento che consentono loro di prolungare la sopravvivenza in corso di grave o totale assenza di ossigeno e di proteggersi anche dal danno da riperfusione. La conoscenza di questi meccanismi ha consentito di far ipotizzare alcuni tipi di interventi terapeutici finalizzati a migliorare la resistenza miocardica in queste condizioni. In questo articolo esamineremo alcuni di questi meccanismi (Tabella 1) e discuteremo brevemente delle attuali e/o potenziali implicazioni terapeutiche che essi comportano.

## Riduzione del consumo miocardico di ossigeno

Il metodo più semplice per prevenire gli effetti dannosi dell'ischemia è la riduzione del con-

### Chiave di Lettura

**Ragionevoli certezze.** Il danno delle cellule miocardiche può derivare non solo dall'ischemia, ma anche da fenomeni deleteri che si realizzano nella fase di riperfusione (danno da riperfusione). Negli ultimi decenni numerosi studi hanno dimostrato come le cellule miocardiche posseggano diversi meccanismi per proteggersi dai danni derivanti dall'ischemia, e quindi dalla carenza di ossigeno, e dalla riperfusione. Variazioni del metabolismo cellulare finalizzate ad una riduzione del fabbisogno miocardico di ossigeno, nonché alcuni meccanismi particolari di protezione, quali il preconditionamento ischemico ed il postcondizionamento, rientrano tra questi. Attualmente, mentre un ripristino adeguato e precoce del flusso coronarico rimane l'obiettivo terapeutico principale per il salvataggio del miocardio dal danno da ischemia/riperfusion, l'unica modalità di protezione specifica delle cellule miocardiche da questo danno dimostrata applicabile con successo nella pratica clinica è la riduzione miocardica del consumo di ossigeno, ottenibile principalmente con l'uso di betabloccanti.

**Questioni aperte.** I meccanismi cellulari che sono alla base di alcuni fenomeni di protezione delle cellule miocardiche dal danno da ischemia/riperfusion (come il preconditionamento e il postcondizionamento) rimangono ancora da chiarire in modo adeguato, ma essi sono verosimilmente molteplici. È ancora da dimostrare se interventi farmacologici in grado di migliorare il metabolismo cellulare miocardico verso un'utilizzazione più efficiente dell'ossigeno e delle riserve energetiche possa aiutare a proteggere il miocardio in condizioni di ischemia. Anche la possibilità di utilizzare farmaci in grado di simulare il fenomeno del preconditionamento o del postcondizionamento, l'applicazione *in vivo* di episodi ischemici postcondizionanti e la possibilità di prevenire, con interventi farmacologici, la morte cellulare per apoptosi, costituiscono altre affascinanti possibilità di protezione tuttora in via di valutazione.

**Le ipotesi.** Interventi terapeutici alternativi in grado di ridurre il lavoro miocardico, ridurre la captazione degli acidi grassi liberi e favorire il metabolismo glucidico in condizioni di ischemia, indurre il fenomeno del preconditionamento o postcondizionamento ischemico o ridurre l'apoptosi, potrebbero essere potenzialmente utili nella riduzione del danno miocardico ipossico e da riperfusion.

**Tabella 1.** Potenziali meccanismi ed interventi per contrastare la carenza di ossigeno alle cellule miocardiche.

Riduzione del consumo miocardico di ossigeno
Miglioramento dell'utilizzo dell'ossigeno
Meccanismi endogeni di protezione dall'ischemia/riperfusion
Precondizionamento
Postcondizionamento
Inibizione dell'apoptosi

sumo di ossigeno attraverso una riduzione del lavoro miocardico. Questo porterà ad una prolungata sopravvivenza grazie al risparmio energetico da parte delle cellule miocardiche e ad una riduzione della produzione di cataboliti. Dal momento che la frequenza cardiaca è il principale fattore determinante il consumo miocardico di ossigeno (che si dimezza con il dimezzarsi del numero di battiti cardiaci), la sua riduzione è una modalità cruciale di protezione dall'ischemia miocardica<sup>6</sup>.

Dal punto di vista clinico questo approccio trova la sua principale applicazione nel trattamento con farmaci beta-bloccanti, che riducono il lavoro miocardico, riducendo anche la pressione arteriosa (postcarico) e la contrattilità. Inoltre, è stato dimostrato, tanto in studi sperimentali quanto nella pratica clinica<sup>7</sup>, che i betabloccanti riducono l'estensione dell'area di necrosi conseguente ad un'occlusione coronarica acuta e prolungata<sup>8</sup>, e questo importante effetto si traduce in un miglioramento della prognosi.

Una riduzione selettiva della frequenza cardiaca, senza agire su altri determinanti del consumo di ossigeno, può essere ottenuta anche con farmaci che inibiscono la corrente I<sub>f</sub> del nodo del seno e alcuni studi hanno evidenziato come anche essi sono efficaci nel proteggere le cellule miocardiche dall'ischemia transitoria indotta da un aumento del consumo di ossigeno in presenza di stenosi coronariche ostruttive<sup>9</sup>, oltre a poter avere, in alcuni casi, come in presenza di ipertrofia ventricolare sinistra, effetti antiaritmici<sup>10</sup>.

Dal punto di vista teorico, anche altri farmaci comunemente utilizzati nel trattamento della cardiopatia ischemica, come i calcioantagonisti e i nitrati, potrebbero comportare una preservazione del metabolismo cellulare miocardico durante ischemia, variamente riducendo, a seconda dei casi, la frequenza, l'inotropismo, il precarico o il postcarico del cuore. Tuttavia, gli studi clinici non sono stati in grado di dimostrare in modo consistente significativi benefici di questi trattamenti sull'area di necrosi nei pazienti con infarto miocardico acuto (IMA), verosimilmente per effetti collaterali emodinamicamente sfavorevoli, secondari ad attivazione adrenergica e/o ipotensione<sup>11,12</sup>.

### Miglioramento dell'utilizzo dell'ossigeno da parte del miocardio

Normalmente il substrato principale utilizzato dal cuore come fonte energetica (60-90%) è rappresentato dagli acidi grassi liberi (FFA), mentre il metabolismo del glucosio fornisce un contributo energetico minore (10-40%). In caso di ischemia il metabolismo miocardico vira verso un maggiore utilizzo del glucosio come substrato energetico. Questo cambiamento ha diversi vantaggi perché l'utilizzo del glucosio richiede un consumo minore di ossigeno (10-15%), rispetto all'ossidazione degli acidi grassi, per generare la stessa quantità di ATP. Tuttavia l'ossidazione degli acidi grassi resta la via metabolica predominante anche nel cuore ischemico. Sebbene esistano dati non sempre univoci riguardo agli effettivi effetti deleteri degli FFA<sup>13,14</sup>, si ritiene, in genere, che questa via metabolica, in condizioni di ischemia, presenti diversi svantaggi per le cellule miocardiche. Essa, infatti, oltre ad un più alto consumo di ossigeno, comporta anche l'inibizione dell'ossidazione del glucosio e un aumento della produzione di lattato e protoni, che deprimono ulteriormente la funzione miocardica nelle zone ischemiche. Inoltre, gli FFA alterano l'omeostasi ionica cellulare, portando ad un incremento del substrato aritmico. Dunque, interventi terapeutici volti ad inibire parzialmente la captazione e/o l'ossidazione degli FFA e a favorire l'utilizzo del glucosio durante l'ischemia dovrebbero avere effetti favorevoli sulle cellule miocardiche<sup>15</sup>.

Tra i farmaci che è stato suggerito possano avere effetti benefici nell'ischemia mediante un miglioramento del-

l'energetica cellulare vi è la trimetazidina, sebbene il bersaglio terapeutico molecolare di questa sostanza resti controverso<sup>16</sup>. In modelli sperimentali, la trimetazidina ha effetti inibitori significativi sull'ossidazione della palmitoilcarnitina. Il farmaco, inoltre, riduce il tasso di ossidazione degli FFA e aumenta l'ossidazione del glucosio durante l'ischemia da basso flusso attraverso l'inibizione del 3-chetoacil coenzima A tiolasi, enzima cruciale nella via della beta-ossidazione<sup>16</sup>. Quest'ultimo effetto, tuttavia, non è stato confermato da altri studi, mentre essa è stata mostrata avere anche un effetto inibitore della carnitina-palmitoiltransferasi-1<sup>17</sup>, un enzima che regola la beta-ossidazione favorendo il trasporto degli FFA attraverso la membrana mitocondriale. Questa azione, tuttavia, sembra molto debole per contribuire in modo significativo all'azione antiischemica del farmaco.

Diversi trial clinici hanno riportato alcuni benefici della trimetazidina in pazienti con angina stabile, mostrando sia un miglioramento delle anomalie della motilità regionale di parete all'ECG da stress con dobutamina, sia un miglioramento tanto dell'angina quanto delle alterazioni elettrocardiografiche ischemiche indotte dall'esercizio. Una metanalisi dei trial sulla trimetazidina nell'angina stabile, tuttavia, ha mostrato una riduzione significativa della frequenza dell'angina, ma solo una tendenza non significativa al miglioramento della tolleranza per l'esercizio<sup>18</sup>. Inoltre, un ampio trial, in cui è stata somministrata trimetazidina endovena per 48h in pazienti con IMA, non ha mostrato benefici sulla sopravvivenza<sup>19</sup>.

La ranolazina è un composto simile alla trimetazidina e probabilmente esercita effetti metabolici paragonabili. Il suo enzima bersaglio, tuttavia, non è stato ancora identificato<sup>16</sup>. Recenti dati suggeriscono che la ranolazina può agire anche attraverso l'inibizione della corrente ventricolare di afflusso tardivo del sodio. La conseguente diminuzione della concentrazione intracellulare di Na<sup>+</sup> potrebbe ridurre lo scambio Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> e, quindi, le concentrazioni intracellulari di calcio, migliorando la disfunzione miocardica indotta dall'ischemia<sup>20</sup>. Come per la trimetazidina, tuttavia, sono stati riportati dati contrastanti nei trial clinici condotti. In un primo trial su pazienti affetti da angina stabile, la ranolazina (30-120 mg 3 volte al giorno) ha mostra-

to effetti simili al placebo sull'ischemia indotta dall'esercizio e sui sintomi anginosi<sup>21</sup>. Due studi successivi, che hanno usato dosi più alte di ranolazina (>1500 mg 2 volte al giorno) hanno, tuttavia, mostrato effetti più favorevoli. Nel trial MARISA (Monotherapy Assessment of Ranolazine in Stable Angina)<sup>22</sup>, la durata dell'esercizio e il tempo all'insorgenza dell'angina e alla comparsa del sottoslivellamento del tratto ST erano maggiori nei pazienti trattati con la ranolazina rispetto ai placebo (Figura 1A). Nel trial CARISA (Combination Assessment of Ranolazine in Stable Angina)<sup>23</sup>, che ha randomizzato 823 pazienti con angina stabile, trattati con un betabloccante o un calcioantagonista, a ranolazina (750 o 1000 mg 2 volte al giorno) o placebo, la durata complessiva dell'esercizio e il tempo all'insorgenza dell'angina e del sottoslivellamento del tratto ST erano più lunghi e gli episodi di angina tendevano ad essere ridotti nel gruppo trattato, rispetto ai placebo, in assenza di effetti collaterali significativi (Figura 1B). La ranolazina, tuttavia, in un trial recente non ha mostrato di ridurre in modo significativo l'occorrenza di eventi cardiaci maggiori in pazienti con sindrome coronarica acuta senza soprasslivellamento del tratto ST<sup>24</sup>.

Per molto tempo è stata utilizzata una soluzione di glucosio, insulina e potassio (GIK) con lo scopo di aumentare la glicolisi e ridurre la captazione di FFA e il metabolismo delle cellule miocardiche durante IMA, e anche la somministrazione della sola insulina è stata proposta con un obiettivo simile. Gli effetti della soluzione GIK (o della sola insulina) nel preservare l'integrità dei miocardiociti in questo contesto restano tuttavia controversi. Infatti, alcuni studi (ad esempio, il DIGAMI<sup>25</sup> e alcuni studi sulla GIK<sup>15</sup>) hanno mostrato effetti favorevoli sulla sopravvivenza con questo approccio, sia in pazienti diabetici sia in non diabetici, ma altri studi non sono stati in grado di confermare questi risultati<sup>26</sup>.

### Precondizionamento miocardico

Il termine preconditionamento ischemico (IPC) indica la capacità di uno o alcuni brevi periodi (circa 5 min) di ischemia miocardica di indurre protezione contro un danno miocar-

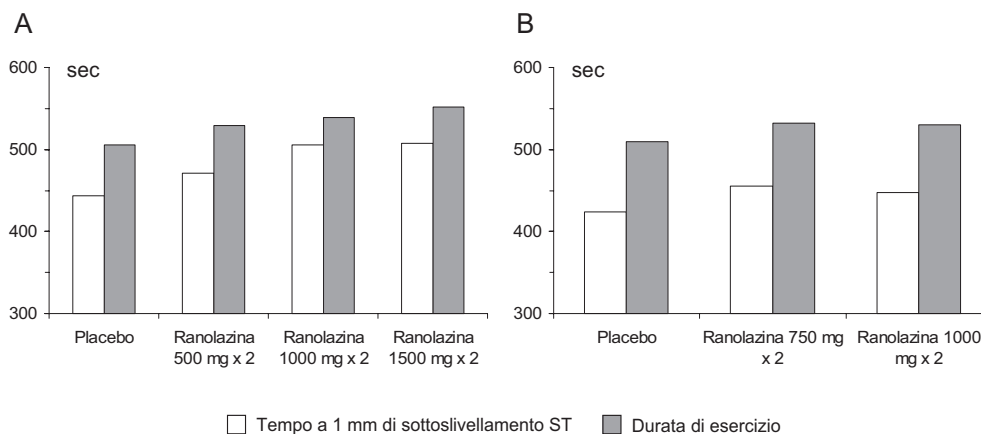


Figura 1. Tempo a 1 mm di sottoslivellamento del tratto ST e durata di esercizio con ranolazina o placebo nei trial MARISA (A) e CARISA (B). Tutte le differenze sono statisticamente significative ( $p < 0.001$ ). Da Chaitman et al.<sup>22,23</sup>, modificata.

dico conseguente ad un successivo periodo prolungato di ischemia seguito da riperfusione. L'IPC diminuisce l'area infartuata del 40-75% e il periodo di protezione generalmente dura 1-2h dopo lo stimolo preconditionante (IPC precoce) (Figura 2)<sup>27</sup>.

I meccanismi dell'IPC sono complessi e non sono stati ancora completamente chiariti. Sono tuttavia stati identificati chiaramente alcuni eventi chiave<sup>28-30</sup>. In particolare, la proteinchinasi C (PKC), e specificamente la sua isoforma PKC $\epsilon$ , sembra un mediatore centrale dell'IPC. Infatti, varie sostanze che si accumulano nell'interstizio durante l'ischemia miocardica e che sono coinvolte nell'IPC hanno in comune la capacità di attivare la PKC attraverso l'attivazione della fosfolipasi C (come adenosina, bradichinina, noradrenalina, oppioidi)<sup>31-34</sup> o attraverso altre vie, come l'attivazione della proteinchinasi G (come nel caso dell'ossido nitrico)<sup>35</sup> o della proteinchinasi A (come nel caso degli agonisti beta-adrenergici)<sup>36</sup>.

L'evento chiave finale dell'IPC, conseguente all'attivazione della PKC, sembra comunque essere l'apertura dei canali ATP-sensibili del potassio (canali KATP) sia della membrana citoplasmatica sia dei mitocondri, apertura che è mediata dalla fosforilazione delle proteine del canale da parte appunto della PKC e che causa una riduzione dell'afflusso di calcio e del dispendio energetico cellulare. L'IPC, infatti, può essere bloccato dalla glibenclamide<sup>37</sup>, un antagonista dei canali KATP, ed indotto da attivatori di questi canali (aprikalim, pinacidil, diazossido). Inoltre, in topi "knockout" per Kir6.2, privi dei canali di superficie KATP, l'effetto protettivo dell'IPC è abolito<sup>30</sup>.

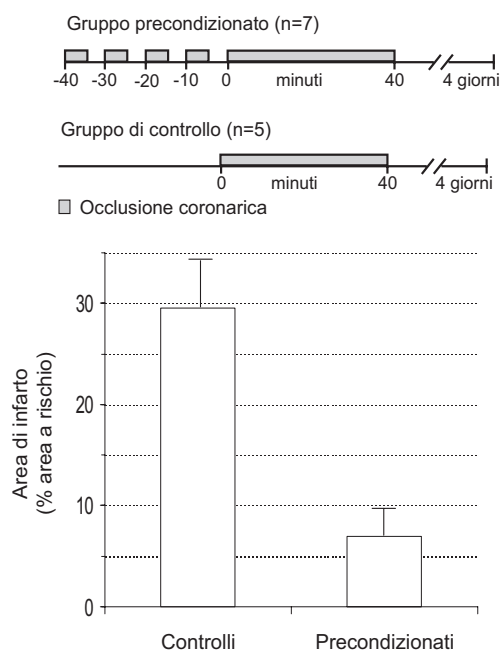
È interessante notare come è stato evidenziato da più studi come anche le specie reattive dell'ossigeno (ROS), a dispetto dei loro ben noti effetti tossici sul metabolismo cellulare<sup>38,39</sup>, sembrano essere in grado di attivare i meccani-

smi responsabili dell'IPC<sup>40</sup>. Poiché le ROS si formano durante il periodo di riperfusione che succede all'ischemia (vedere paragrafo "Postcondizionamento"), si può ipotizzare che alcuni dei meccanismi responsabili dell'IPC siano attivati durante questo periodo piuttosto che in quello ischemico<sup>41-43</sup>. La formazione di basse quantità di ROS dopo il breve periodo di ischemia, ancorché insufficienti a causare danni cellulari, può essere in grado di attivare meccanismi cellulari implicati nella cardioprotezione. Basse concentrazioni di ROS, infatti, sembrano attivare alcune vie enzimatiche implicate nell'IPC (guanilato-ciclastasi, ciclossigenasi, fattore tissutale, tirosinchinasi)<sup>40</sup>. Inoltre, alcune sostanze capaci di generare ROS (acetilcolina, bradichinina, oppioidi, anestetici volatili) sono anche noti agonisti dell'IPC<sup>32,34,44</sup>, mentre sostanze "scavenger" dei radicali liberi o antiossidanti possono bloccare l'IPC<sup>45</sup>. È da evidenziare come questi dati suggeriscono anche che i meccanismi protettivi dell'IPC sul danno cellulare miocardico possano riguardare non solo una protezione verso gli effetti deleteri dell'ischemia prolungata, ma anche verso quelli derivanti dalla riperfusione tardiva dopo l'insulto ischemico finale.

L'importanza di meccanismi che agiscono nel periodo riperfusivo della sequenza ischemia/riperfusion dell'IPC è suggerita anche dalla rilevanza che alcuni altri meccanismi, che sono tipicamente o principalmente attivati nel periodo di riperfusione, sembrano avere nell'induzione di IPC. Questi comprendono, in particolare, un esiguo (2.5-4%) rigonfiamento mitocondriale e la modulazione del "mitochondrial permeability transition pore" (MPTP), un complesso canale proteico della membrana mitocondriale interna<sup>28-30</sup>. L'apertura degli MPTP, deleteria per le cellule miocardiche, avviene nel periodo di riperfusione post-ischemica (vedere paragrafo "Postcondizionamento") come effetto dell'accumulo di ROS, ma anche di calcio<sup>46</sup>. Il meccanismo attraverso cui l'IPC inibisce l'apertura degli MPTP durante la riperfusione miocardica non è chiaro, ma studi recenti suggeriscono un ruolo per l'attivazione della cosiddetta cascata RISK ("reperfusion injury salvage kinase"), costituita da un gruppo di proteinchinasi in grado di determinare effetti di cardioprotezione<sup>47</sup>. In un recente articolo, Costa et al.<sup>48</sup> propongono un meccanismo di connessione tra i canali mitocondriali KATP, la PKC, le ROS e gli MPTP, che consiste principalmente nella capacità dell'apertura dei canali mitocondriali KATP di inibire l'apertura degli MPTP mitocondriali cardiaci attraverso reazioni biochimiche che coinvolgono le ROS e la PKC $\epsilon$ .

È stato suggerito che l'IPC sia coinvolto in diversi scenari clinici, tra cui la riduzione dell'area di necrosi miocardica e la migliore prognosi di pazienti con IMA preceduto da angina preinfartuale, rispetto a quelli con IMA senza anamnesi positiva per angina preinfartuale<sup>49</sup>, la riduzione della sofferenza ischemica durante il secondo di due successivi episodi di ischemia miocardica transitoria durante angioplastica coronarica con palloncino o un test da sforzo<sup>29</sup> e il fenomeno del "warm-up" durante test da sforzo<sup>50</sup>.

È stato, inoltre, dimostrato che diversi farmaci, tra cui gli attivatori dei canali del K<sup>+</sup> (diazossido, nicorandil), anestetici volatili (alotano, isoflurano), agonisti di recettori associati alla proteina G (adenosina, bradichinina, catecolamine, oppioidi) e bloccanti dello scambiatore Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> (cariporide, amiloride), riproducono gli effetti dell'IPC, un fenomeno noto come preconditionamento farmacologico<sup>28</sup>.



**Figura 2.** Protocollo e risultati dello studio originale sul preconditionamento ischemico, con il quale si osservava una riduzione dell'area infartuale del 75%.

Da Murry et al.<sup>27</sup>, modificata.

Rimane da stabilire se gli effetti benefici osservati in trial clinici per alcuni di questi farmaci<sup>51</sup> siano, almeno in parte, mediati dal preconditionamento miocardico.

È da sottolineare come lo stimolo preconditionante induce una seconda, tardiva "finestra di protezione". Questo IPC tardivo si verifica circa 24h dopo lo stimolo preconditionante, può persistere per circa 72h e, sebbene meno efficace dell'IPC precoce, diminuisce l'area di necrosi di circa il 25%<sup>52</sup>, e può associarsi ad una riduzione dello "stunning" miocardico postischemico<sup>53</sup>. Studi recenti, inoltre, dimostrano che i nitrati possono indurre un IPC tardivo in grado di ridurre le manifestazioni elettrocardiografiche di ischemia indotte dallo sforzo, suggerendo un nuovo favorevole meccanismo per questi tradizionali farmaci antischemici<sup>54,55</sup>.

Anche i meccanismi dell'IPC tardivo non sono completamente noti, ma essi sembrano coinvolgere l'attivazione di geni che trascrivono proteine cardioprotettive. La PKC, l'ossido nitrico-sintasi e la ciclossigenasi-2, in particolare, sembrano giocare un ruolo in questa forma di IPC<sup>28</sup>.

Dati recenti, infine, suggeriscono che un effetto preconditionante contro il danno ischemico miocardico possa essere ottenuto mediante episodi transitori di ischemia indotti in altri territori dell'organismo (ad esempio, gli arti inferiori)<sup>56</sup>, un fenomeno definito preconditionamento remoto. In modelli animali, il preconditionamento remoto si è dimostrato in grado di ridurre l'area di necrosi in maniera analoga al classico IPC<sup>57,58</sup>. Data la facilità di creare un'ischemia transitoria degli arti, le implicazioni cliniche del preconditionamento remoto possono essere molto promettenti. In studi recenti è stato dimostrato come l'ischemia transitoria di un arto superiore prima di un intervento di bypass aortocoronarico<sup>59</sup> e l'ischemia transitoria dell'arto inferiore prima di interventi di asportazione di aneurismi dell'aorta addominale<sup>60</sup> erano associati ad una riduzione dei livelli di troponina T dopo l'intervento, indicando una riduzione del danno ischemico miocardico postoperatorio. Ancora una volta, il meccanismo con cui il preconditionamento remoto protegge il miocardio non è chiaro, ma modelli animali suggeriscono che la protezione potrebbe essere dovuta a mediatori umorali, quali adenosina<sup>61</sup>, bradichinina<sup>62</sup> e oppiodi<sup>63</sup>, o a vie che coinvolgono il sistema nervoso autonomo<sup>64</sup>.

## Postcondizionamento

Una riperfusione più precoce possibile rimane il trattamento definitivo dell'ischemia miocardica. Come osservato in precedenza, tuttavia, la riperfusione, in particolare se ritardata, può avere effetti deleteri sulle cellule miocardiche, contribuendo in maniera significativa a determinare il danno delle cellule stesse (vedere paragrafo "Precondizionamento"). I meccanismi del danno da riperfusione sono complessi, ma sembrano coinvolgere la rapida e consistente generazione di ROS, l'attivazione dello scambiatore  $\text{Na}^+\text{-H}^+$ , una risposta infiammatoria alla riperfusione e l'apertura degli MPTP.

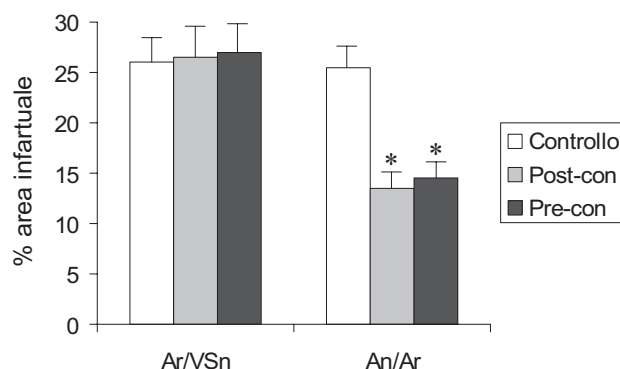
In particolare, i radicali liberi dell'ossigeno, generati durante la fase di riperfusione per effetto di varie reazioni ossidative, coinvolgenti, tra l'altro, la xantina ossidasi, la NADPH ossidasi e la mieloperossidasi leucocitaria<sup>65</sup>, esercitano effetti deleteri sulle cellule miocardiche determinan-

do una perossidazione lipidica e di proteine strutturali ed enzimatiche delle membrane cellulari. La loro importanza nel danno da riperfusione è suggerito da studi sperimentali che hanno mostrato la capacità del trattamento con antiossidanti, come la superossido dismutasi, di migliorare la funzione cardiaca in condizione di ischemia/riperfusione<sup>66</sup>. Manca, tuttavia, l'evidenza che un trattamento antiossidante migliori il danno miocardico da riperfusione nell'uomo e qualche studio non è stato in grado di confermare l'induzione di danni irreversibili da parte dei radicali liberi in pazienti sottoposti ad arresto cardioplegico e riperfusione durante intervento di bypass aortocoronarico<sup>67</sup>. Va, inoltre, notato che delle altre possibili opzioni terapeutiche proposte per prevenire il danno da riperfusione sulla base delle premesse fisiopatologiche (tra cui gli inibitori dello scambiatore  $\text{Na}^+\text{-H}^+$ , l'ipotermia regionale, gli antinfiammatori e la riperfusione graduale), nessuna è stata testata con successo nei pazienti con IMA.

Molto recentemente è stata descritta una forma endogena di protezione miocardica capace di limitare il danno da riperfusione, che è stata definita postcondizionamento<sup>68</sup>. Sebbene il postcondizionamento protegga le cellule miocardiche dal danno da riperfusione piuttosto che da quello ischemico, esso è incluso in questo articolo poiché una grave ischemia è una condizione necessaria perché il danno da riperfusione si verifichi.

Il postcondizionamento consiste in una serie di brevi episodi di occlusione coronarica applicati al momento della riperfusione dopo un periodo prolungato di ischemia miocardica. Nello studio originale<sup>68</sup>, cani sottoposti ad ischemia miocardica per 1h, tramite l'occlusione dell'arteria coronaria discendente anteriore sinistra, sono stati randomizzati a riperfusione rapida (controlli), a 3 cicli di riperfusione per 30 s e riuclusione per 30 s prima della riperfusione definitiva (postcondizionamento), o a IPC prima di un'occlusione coronarica prolungata (1h). Rispetto ai controlli, l'area infartuata era ridotta approssimativamente del 40% sia nei cani sottoposti a IPC sia in quelli sottoposti a postcondizionamento (Figura 3).

Il postcondizionamento è stato confermato da altri studi<sup>69</sup>. La durata del tempo di riperfusione/riocclusione sem-



**Figura 3.** Risultati dello studio originale sul postcondizionamento nel cane, nei quali si osservava una riduzione di entità analoga dell'area infartuata mediante preconditionamento e postcondizionamento del miocardio.

An = area di necrosi; Ar = area a rischio; VSn = ventricolo sinistro.

\* $p < 0.05$  vs controllo.

Da Zhao et al.<sup>68</sup>, modificata.

bra essere critica per la cardioprotezione. Apparentemente, episodi più brevi (ad esempio da 10 a 30 s) di ischemia/riperfusion sono più efficaci di periodi più lunghi (ad esempio 1 min), mentre il numero dei cicli di riperfusion applicati non sembra avere un impatto rilevante per raggiungere una significativa cardioprotezione da postcondizionamento. La durata degli episodi di ischemia/riperfusion, tuttavia, sembra anche essere specie-specifica (ad esempio, nell'uomo sono stati usati abitualmente episodi di 90 s<sup>70</sup>). Non è chiaro se il postcondizionamento sia correlato al breve periodo di ischemia o al breve periodo di riperfusion della sequenza.

Analogamente i meccanismi del postcondizionamento restano da chiarire. È stato suggerito che diversi sistemi coinvolti nell'IPC siano coinvolti anche nel postcondizionamento<sup>68</sup>.

L'adenosina sembra giocare un ruolo importante in questo fenomeno, che è infatti prevenuto dal blocco dei recettori adenosinici A2, in particolare A2a o A2b e A3, a seconda delle specie animali<sup>71,72</sup>. È stato ipotizzato che anche i canali KATP di superficie e mitocondriali abbiano un ruolo, dal momento che la glibenclamide e il 5-idrossidecanoato prevengono il postcondizionamento. Potrebbe essere coinvolta, inoltre, la prevenzione dell'apertura degli MPTP durante la riperfusion.

Ancora, l'ossido nitrico e la relativa attivazione cellulare del GMP ciclico sembrano giocare un ruolo nel postcondizionamento, dal momento che il blocco dell'ossido nitrico-sintasi con N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina metilestere inibisce i suoi effetti cardioprotettivi<sup>73,74</sup>. Infine, recentemente è stata posta molta attenzione sul coinvolgimento nel postcondizionamento delle "survival kinases", che già rivestono un ruolo importante nel danno da riperfusion. Alcuni studi suggeriscono che il postcondizionamento possa essere mediato dalla via "PI3-kinase-Akt pro-survival"<sup>75</sup>, sebbene questo meccanismo debba essere verificato in ulteriori studi.

In confronto con l'IPC, il postcondizionamento può essere applicato più facilmente nella pratica clinica, in particolare in pazienti con IMA sottoposti ad intervento primario di rivascolarizzazione coronarica. Alcuni dati derivanti da piccoli studi, in effetti, dimostrano la fattibilità di un tale approccio, mostrando anche effetti promettenti di protocolli di postcondizionamento (con brevi periodi di riperfusion/occlusione durante interventi coronarici primari) in pazienti con IMA, con riduzione dell'estensione dell'area di necrosi e miglioramento della perfusione miocardica distale<sup>70,76-78</sup>.

Come per l'IPC, esiste, inoltre, la possibilità teorica che alcune sostanze (ad esempio, adenosina, ossido nitrico, insulina, statine, oppioidi), che gli studi sperimentali hanno mostrato poter svolgere un ruolo nei meccanismi che determinano il postcondizionamento, possano essere impiegati per indurre effetti di postcondizionamento farmacologico in pazienti con IMA, cosa che potrebbe essere particolarmente indicata in pazienti sottoposti a rivascolarizzazione farmacologica piuttosto che meccanica.

## Inibizione dell'apoptosi

L'ischemia/riperfusion può indurre diverse forme di morte cellulare, come la morte cellulare programmata, l'oncosi, la necrosi e l'apoptosi<sup>79</sup>.

Negli ultimi anni è stato suggerito che l'apoptosi abbia un ruolo rilevante nella progressiva perdita dei miocardiociti e nel deterioramento della funzione del ventricolo sinistro nelle regioni ischemiche<sup>80</sup>. Questo può suggerire che l'inibizione dell'apoptosi potrebbe limitare la perdita dei miocardiociti indotta dall'ischemia, in particolare nel miocardio cronicamente ischemico, riducendo il rimodellamento ventricolare sinistro e migliorando la prognosi.

La via enzimatica chiave che conduce all'apoptosi è rappresentata dalla cascata delle caspasi, un gruppo di cistein-aspartato proteasi, che nelle cellule sane risiedono nel citosol come proforme inattive (pro-caspasi). Quando attivate, le caspasi clivano diverse proteine critiche per la vita della cellula<sup>81</sup>.

Nelle cellule dei mammiferi due sono le vie più importanti nell'attivazione della cascata apoptotica (Figura 4), sebbene esistano anche altre vie meno conosciute.

La via "intrinseca" è innescata dall'ischemia/riperfusion, dall'ipossia e dallo stress ossidativo, ed è mediata dai mitocondri danneggiati, che rilasciano sostanze capaci di attivare la cascata delle caspasi e di traslocarle nel nucleo dove esse inducono, direttamente ed indirettamente, la frammentazione del DNA<sup>82</sup>.

La via "estrinseca" dell'apoptosi comprende l'attivazione dei cosiddetti "recettori di morte", come i recettori del Fas e del fattore di necrosi tumorale- $\alpha$ , che innescano la formazione di complessi segnali induttori di morte cellulare, compresa l'attivazione della caspasi-8. Questa via è attivata con maggiore probabilità quando aumentano i recettori di membrana del Fas e del fattore di necrosi tumorale- $\alpha$ , come nell'insufficienza cardiaca<sup>82</sup>.

Oltre alle caspasi sono coinvolte nella modulazione (come attivatori o inibitori) dell'apoptosi diverse famiglie di proteine, come la famiglia della Bcl-2.

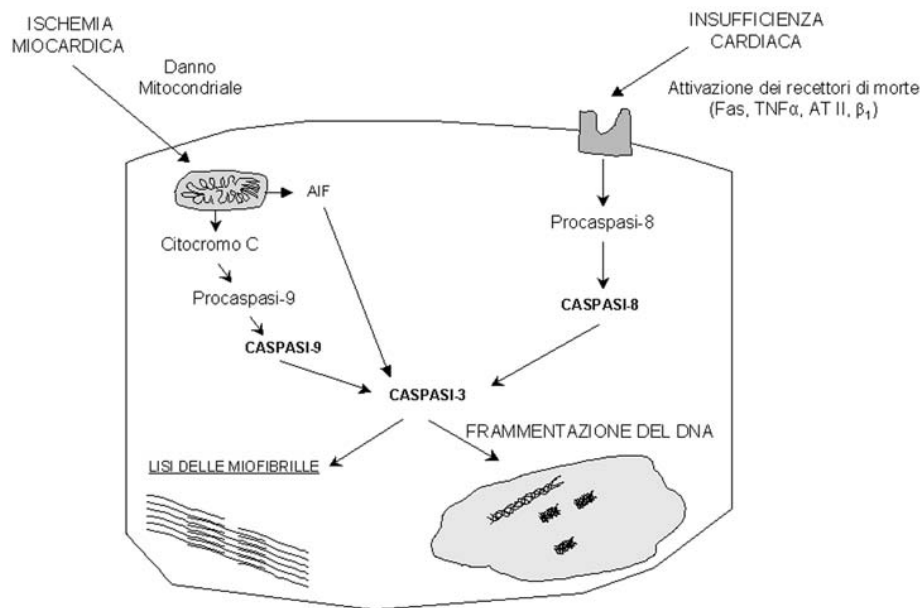
Come già osservato in precedenza, il blocco dell'apoptosi può limitare la perdita delle cellule miocardiche indotta appunto dalla morte cellulare programmata. È stato dimostrato che diversi farmaci noti per avere effetti favorevoli nella cardiomiopatia ischemica, inclusi gli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina, antagonisti dell'angiotensina II e betabloccanti, hanno effetti antiapoptotici in modelli animali, attraverso l'inibizione del sistema renina-angiotensina e del sistema nervoso simpatico effettore che, in certe condizioni, possono attivare l'apoptosi<sup>82</sup>.

Gli agenti antiossidanti possono agire da sostanze antiapoptotiche, poiché lo stress ossidativo e la generazione di ROS possono innescare la via "intrinseca" dell'apoptosi. In un modello murino di infarto, in effetti, l'antiossidante probucolo era capace di prevenire la sovraespressione di varie molecole pro-apoptotiche<sup>83</sup>.

Specifici "target" potenziali per prevenire l'apoptosi includono le caspasi e le endonucleasi. Gli inibitori di questi enzimi sono capaci di ridurre l'area infartuale e il rimodellamento del ventricolo sinistro in modelli sperimentali di danno ischemico<sup>83</sup>.

Infine, anche il fattore di crescita insulino-simile è in grado di migliorare la funzione cardiaca in modelli animali di cardiomiopatia attraverso un effetto antiapoptotico mediato dall'inibizione della caspasi-3<sup>84</sup>.

Non possono tuttavia essere trascurati alcuni potenzia-



**Figura 4.** Schema della via metabolica intrinseca (a sinistra) ed estrinseca (a destra) dell'apoptosi dei miocardiociti. Entrambe le vie convergono sulle caspasi esecutrici (come la caspasi-3).

AIF = apoptosis-inducing factor; AT II = angiotensina II; TNF = fattore di necrosi tumorale.

li limiti dell'applicazione di strategie terapeutiche finalizzate all'inibizione dell'apoptosi nella pratica clinica, soprattutto in riferimento al potenziale cancerogeno di tale intervento. Inoltre, mentre nei modelli animali il tempo e le dosi dei farmaci antiapoptotici sono ben controllati, non esistono dati ben definiti in riferimento alla loro applicazione nella pratica clinica.

## Riassunto

Il danno delle cellule miocardiche conseguente ad un'ischemia miocardica dipende da vari fattori, che includono la durata dell'ischemia, il fabbisogno di ossigeno da parte delle cellule miocardiche al momento dell'ischemia e la possibilità di garantire un certo flusso all'area ischemica tramite circolo collaterale. Oltre che dall'ischemia in sé, inoltre, il danno cellulare miocardico può derivare anche da fenomeni deleteri che si realizzano nella fase di ripristino del flusso coronarico dopo l'ischemia (danno da ri-perfusione). Negli ultimi decenni numerosi studi hanno dimostrato che le cellule miocardiche posseggono diversi meccanismi di adattamento finalizzati a limitare i danni dell'ischemia/ri-perfusione, consentendo un prolungamento della sopravvivenza nei casi più gravi. In questo articolo vengono discussi alcuni di questi meccanismi, analizzando, in particolare, le attuali e/o potenziali applicazioni terapeutiche che essi comportano o potrebbero comportare nella pratica clinica. Gli argomenti comprendono le possibilità di intervento finalizzati a ridurre il lavoro miocardico mediante riduzione del consumo miocardico di ossigeno o a migliorare l'utilizzazione dei substrati energetici in condizioni di carenza di ossigeno, l'importanza dei fenomeni di preconditionamento ischemico (precoce e tardivo) e di postcondizionamento delle cellule miocardiche e, infine, la possibilità teorica di interventi finalizzati a prevenire la morte cellulare legata per apoptosi.

**Parole chiave:** Apoptosi; Danno da ri-perfusione; Ischemia miocardica; Postcondizionamento; Precondizionamento ischemico; Protezione miocardica.

## Bibliografia

1. Maseri A. Ischemic heart disease. New York, NY: Churchill Livingstone, 1995.
2. Berry C, Balachandran KP, L'Allier PL, Lespeérance J, Bonan R, Oldroyd KG. Importance of collateral circulation in coronary heart disease. *Eur Heart J* 2007; 28: 278-91.
3. Gross GJ, Auchampach JA. Reperfusion injury: does it exist? *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42: 12-8.
4. Ambrosio G, Weisman HF, Mannisi JA, Becker LC. Progressive impairment of regional myocardial perfusion after initial restoration of postischemic blood flow. *Circulation* 1989; 80: 1846-61.  
**Uno dei lavori di base più importanti nella dimostrazione del microcircolo coronarico durante la ri-perfusione miocardica.**
5. Dumitrescu C, Biondi R, Xia Y, et al. Myocardial ischemia results in tetrahydrobiopterin (BH4) oxidation with impaired endothelial function ameliorated by BH4. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15081-6.
6. Lanza GA, Fox K, Crea F. Heart rate: a risk factor for cardiac diseases and outcomes? Pathophysiology of cardiac diseases and the potential role of heart rate slowing. *Adv Cardiol* 2006; 43: 1-16.  
**Una revisione sintetica delle attuali conoscenze sul potenziale ruolo fisiopatologico e terapeutico della frequenza cardiaca.**
7. Steingart RM, Matthews R, Gambino A, Kantrowitz N, Katz S. Effects of intravenous metoprolol on global and regional left ventricular function after coronary arterial reperfusion in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1989; 63: 767-71.
8. Vatner SF, Baig H, Manders TW, Ochs H, Pagani M. Effects of propranolol on regional myocardial function, electrograms, and blood flow in conscious dogs with myocardial ischemia. *J Clin Invest* 1977; 60: 353-60.
9. Tardif JC, Ford I, Tendera M, Bourassa MG, Fox K, for the INITIATIVE Investigators. Efficacy of ivabradine, a new selective I<sub>f</sub> inhibitor, compared with atenolol in patients with chronic stable angina. *Eur Heart J* 2005; 26: 2529-36.
10. Stillitano F, Sartiani L, DePaoli P, Mugelli A, Cerbai E. Expression of the hyperpolarization-activated current, I<sub>h</sub>, in cultured

- adult rat ventricular cardiomyocytes and its modulation by hypertrophic factors. *Pharmacol Res* 2008; 57: 100-9.
11. Pizzetti G, Mailhac A, Li Volsi L, et al. Beneficial effects of diltiazem during myocardial reperfusion: a randomized trial in acute myocardial infarction. *Ital Heart J* 2001; 2: 757-65.
  12. Morris JL, Zaman AG, Smyllie JH, Cowan JC. Nitrates in myocardial infarction: influence on infarct size, reperfusion, and ventricular remodelling. *Br Heart J* 1995; 73: 310-9.
  13. Okere IC, Chess DJ, McElfresh TA, et al. High-fat diet prevents cardiac hypertrophy and improves contractile function in the hypertensive Dahl salt-sensitive rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005; 32: 825-31.
  14. Schwartz GG, Greyson C, Wisneski JA, Garcia J. Inhibition of fatty acid metabolism alters myocardial high-energy phosphates in vivo. *Am J Physiol* 1994; 267 (1 Pt 2): H224-H231.
  15. Opie LH. Metabolic management of acute myocardial infarction comes to the fore and extends beyond control of hyperglycemia. *Circulation* 2008; 117: 2172-7.
  16. Lee L, Horowitz J, Frenneaux M. **Metabolic manipulation in ischaemic heart disease, a novel approach to treatment.** *Eur Heart J* 2004; 25: 634-41.  
**Una revisione completa dei possibili interventi finalizzati a migliorare il metabolismo cardiaco, e quindi la protezione miocardica, in condizioni di ischemia.**
  17. Hamdan M, Urien S, Le Louet H, Tillement JP, Morin D. Inhibition of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase-1 by a trimetazidine derivative, S-15176. *Pharmacol Res* 2001; 44: 99-104.
  18. Marzilli M, Klein WW. Efficacy and tolerability of trimetazidine in stable angina: a meta-analysis of randomized, double-blind, controlled trials. *Coron Artery Dis* 2003; 14: 171-9.
  19. The EMIP-FR Group. European Myocardial Infarction Project - Free Radicals. Effect of 48-h intravenous trimetazidine on short- and long-term outcomes of patients with acute myocardial infarction, with and without thrombolytic therapy. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Eur Heart J* 2000; 21: 1537-46.
  20. Antzelevitch C, Belardinelli L, Zygmunt AC, et al. Electrophysiological effects of ranolazine, a novel antianginal agent with antiarrhythmic properties. *Circulation* 2004; 110: 904-10.
  21. Pepine CJ, Wolff AA. A controlled trial with a novel anti-ischemic agent, ranolazine, in chronic stable angina pectoris that is responsive to conventional antianginal agents. Ranolazine Study Group. *Am J Cardiol* 1999; 84: 46-50.
  22. Chaitman BR, Skettino SL, Parker JO, et al, for the MARISA Investigators. Anti-ischemic effects and long-term survival during ranolazine monotherapy in patients with chronic severe angina. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1375-82.
  23. Chaitman BR, Pepine CJ, Parker JO, et al, for the Combination Assessment of Ranolazine in Stable Angina (CARISA) Investigators. Effects of ranolazine with atenolol, amlodipine, or diltiazem on exercise tolerance and angina frequency in patients with severe chronic angina: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 309-16.
  24. Morrow DA, Scirica BM, Karwatowska-Prokopczuk E, et al, for the MERLIN-TIMI 36 Trial Investigators. Effects of ranolazine on recurrent cardiovascular events in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: the MERLIN-TIMI 36 randomized trial. *JAMA* 2007; 297: 1775-83.
  25. Malmberg K, Rydén L, Efendic S, et al. Randomized trial of insulin-glucose infusion followed by subcutaneous insulin treatment in diabetic patients with acute myocardial infarction (DIGAMI study): effects on mortality at 1 year. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 57-65.
  26. 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.
  27. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36.
  28. Rixen NP, Smits P, Rongen GA. Ischaemic preconditioning: from molecular characterisation to clinical application - part I. *Ned J Med* 2004; 62: 353-63.
  29. Tomai F, Crea F, Chiariello L, Giffredi PA. **Ischemic preconditioning in humans: models, mediators, and clinical relevance.** *Circulation* 1999; 100: 559-63.  
**Un'efficace messa a punto dei meccanismi e delle implicazioni fisiopatologiche e cliniche del preconditionamento ischemico cardiaco.**
  30. Hanley PJ, Daut J.  $K_{ATP}$  channels and preconditioning: a re-examination of the role of mitochondrial  $K_{ATP}$  channels and an overview of alternative mechanisms. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 39: 17-50.
  31. Cohen MV, Downey JM. Adenosine: trigger and mediator of cardioprotection. *Basic Res Cardiol* 2008; 103: 203-15.
  32. Critz SD, Cohen MV, Downey JM. Mechanisms of acetylcholine- and bradykinin-induced preconditioning. *Vascul Pharmacol* 2005; 42: 201-9.
  33. Musters RJ, van der Meulen ET, Zuidwijk M, et al. PKC-dependent preconditioning with norepinephrine protects sarcoplasmic reticulum function in rat trabeculae following metabolic inhibition. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 1083-94.
  34. McPherson BC, Yao Z. Morphine mimics preconditioning via free radical signals and mitochondrial  $K_{ATP}$  channels in myocytes. *Circulation* 2001; 103: 290-5.
  35. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. Nitric oxide is a preconditioning mimetic and cardioprotectant and is the basis of many available infarct-sparing strategies. *Cardiovasc Res* 2006; 70: 231-9.
  36. Spear JF, Prabu SK, Galati D, Raza H, Anandatheerthavarada HK, Avadhani NG. Beta1-adrenoreceptor activation contributes to ischemia-reperfusion damage as well as playing a role in ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292: H2459-H2466.
  37. Cleveland JC, Meldrum DR, Cain BS, Banerjee A, Harken AH. Oral sulfonylurea hypoglycemic agents prevent ischemic preconditioning in human myocardium. Two paradoxes revisited. *Circulation* 1997; 96: 29-32.
  38. Ambrosio G, Becker LC, Hutchins GM, Weisman HF, Weisfeldt ML. Reduction in experimental infarct size by recombinant human superoxide dismutase: insights into the pathophysiology of reperfusion injury. *Circulation* 1986; 74: 1424-33.
  39. Ambrosio G, Weisfeldt ML, Jacobus WE, Flaherty JT. Evidence for a reversible oxygen radical-mediated component of reperfusion injury: reduction by recombinant human superoxide dismutase administered at the time of reflow. *Circulation* 1987; 75: 282-91.
  40. Tritto I, D'Andrea D, Eramo N, et al. Oxygen radicals can induce preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 1997; 80: 743-8.
  41. Dost T, Cohen MV, Downey JM. Redox signaling triggers protection during the reperfusion rather than the ischemic phase of preconditioning. *Basic Res Cardiol*, in press.
  42. Liu Y, Yang XM, Iliodromitis EK, et al. Redox signaling at reperfusion is required for protection from ischemic preconditioning but not from a direct PKC activator. *Basic Res Cardiol* 2008; 103: 54-9.
  43. Hausenloy DJ, Wynne AM, Yellon DM. Ischemic preconditioning targets the reperfusion phase. *Basic Res Cardiol* 2007; 102: 445-52.
  44. Müllenheim J, Ebel D, Frässdorf J, Preckel B, Thamer V, Schlack W. Isoflurane preconditions myocardium against infarction via release of free radicals. *Anesthesiology* 2002; 96: 934-40.
  45. Tang XL, Takano H, Rizvi A, et al. Oxidant species trigger late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H281-H291.
  46. Di Lisa F, Bernardi P. Mitochondria and ischemia-reperfusion injury of the heart: fixing a hole. *Cardiovasc Res* 2006; 70: 191-9.
  47. Davidson SM, Hausenloy D, Duchon MR, Yellon DM. Signalling via the reperfusion injury signalling kinase (RISK)



- pathway links closure of the mitochondrial permeability transition pore to cardioprotection. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 414-9.
48. Costa AD, Jakob R, Costa CL, Andrukhiv K, West IC, Garlid KD. The mechanism by which the mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel opening and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inhibit the mitochondrial permeability transition. *J Biol Chem* 2006; 281: 20801-8.
  49. Napoli C, Liguori A, Chiariello M, Di Ieso N, Condorelli M, Ambrosio G. New-onset angina preceding acute myocardial infarction is associated with improved contractile recovery after thrombolysis. *Eur Heart J* 1998; 19: 411-9.
  50. Tomai F, Crea F, Danesi A, et al. Mechanisms of the warm-up phenomenon. *Eur Heart J* 1996; 17: 1022-7.
  51. Baxter GF, Goma FM, Yellon DM. Characterisation of the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: time course and dose-dependency studies in rabbit myocardium. *Basic Res Cardiol* 1997; 92: 159-67.
  52. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993; 88: 1264-72.
  53. Kristo G, Yoshimura Y, Keith BJ, et al. Adenosine A1/A2a receptor agonist AMP-579 induces acute and delayed preconditioning against in vivo myocardial stunning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H2746-H2753.
  54. Jneid H, Chandra M, Alshaher M, et al. Delayed preconditioning-mimetic actions of nitroglycerin in patients undergoing exercise tolerance tests. *Circulation* 2005; 111: 2565-71.
  55. Crisafulli A, Melis F, Tocco F, et al. Exercise-induced and nitroglycerin-induced myocardial preconditioning improves hemodynamics in patients with angina. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H235-H242.
  56. 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.
  57. Birnbaum Y, Hale SL, Kloner RA. Ischemic preconditioning at a distance: reduction of myocardial infarct size by partial reduction of blood supply combined with rapid stimulation of the gastrocnemius muscle in the rabbit. *Circulation* 1997; 96: 1641-6.
  58. Kharbanda RK, Li J, Konstantinov IE, et al. Remote ischaemic preconditioning protects against cardiopulmonary bypass-induced tissue injury: a preclinical study. *Heart* 2006; 92: 1506-11.
  59. Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370: 575-9.
  60. Ali ZA, Callaghan CJ, Lim E, et al. Remote ischemic preconditioning reduces myocardial and renal injury after elective abdominal aortic aneurysm repair: a randomized controlled trial. *Circulation* 2007; 116 (11 Suppl): I98-I105.
  61. Pell TJ, Baxter GF, Yellon DM, Drew GM. Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol* 1998; 275 (5 Pt 2): H1542-H1547.
  62. Schoemaker RG, van Heijningen CL. Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278: H1571-H1576.
  63. Patel HH, Moore J, Hsu AK, Gross GJ. Cardioprotection at a distance: mesenteric artery occlusion protects the myocardium via an opioid sensitive mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34: 1317-23.
  64. Loukogeorgakis SP, Panagiotidou AT, Broadhead MW, Donald A, Deanfield JE, MacAllister RJ. Remote ischemic preconditioning provides early and late protection against endothelial ischemia-reperfusion injury in humans: role of the autonomic nervous system. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 450-6.
  65. Ambrosio G, Zweier JL, Duilio C, et al. 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: 18532-41.
  66. Ambrosio G, Flaherty JT, Duilio C, et al. Oxygen radicals generated at reflow induce peroxidation of membrane lipids in reperfused hearts. *J Clin Invest* 1991; 87: 2056-66.
  67. Milei J, Forcada P, Fraga CG, et al. Relationship between oxidative stress, lipid peroxidation, and ultrastructural damage in patients with coronary artery disease undergoing cardioplegic arrest/reperfusion. *Cardiovasc Res* 2007; 73: 710-9.
  68. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. **Inhibition of myocardial injury by ischemic post-conditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003; 285: H579-H588.**  
**Il lavoro fondamentale nella dimostrazione del postcondizionamento miocardico.**
  69. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, Yellon DM. Postconditioning: a form of "modified reperfusion" protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res* 2004; 95: 230-2.
  70. Staat P, Rioufol G, Piot C, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005; 112: 2143-8.
  71. Philipp S, Yang XM, Cui L, Davis AM, Downey JM, Cohen MV. Postconditioning protects rabbit hearts through a protein kinase C-adenosine A2b receptor cascade. *Cardiovasc Res* 2006; 70: 308-14.
  72. Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, et al. Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res* 2005; 67: 124-33.
  73. Penna C, Cappello S, Mancardi D, et al. Post-conditioning reduces infarct size in the isolated rat heart: role of coronary flow and pressure and the nitric oxide/cGMP pathway. *Basic Res Cardiol* 2006; 101: 168-79.
  74. Penna C, Mancardi D, Rastaldo R, Losano G, Pagliaro P. Intermittent activation of bradykinin B2 receptors and mitochondrial KATP channels trigger cardiac postconditioning through redox signaling. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 168-77.
  75. Olivetti G, Quaini F, Sala R, et al. Acute myocardial infarction in humans is associated with activation of programmed myocyte cell death in the surviving portion of the heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 2005-16.
  76. Thibault H, Piot C, Staat P, et al. Long-term benefit of postconditioning. *Circulation* 2008; 117: 1037-44.
  77. Darling CE, Solari PB, Smith CS, Furman MI, Przyklen K. "Postconditioning" the human heart: multiple balloon inflations during primary angioplasty may confer cardioprotection. *Basic Res Cardiol* 2007; 102: 274-8.
  78. Yang XC, Liu Y, Wang LF, et al. Reduction in myocardial infarct size by postconditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J Invasive Cardiol* 2007; 19: 424-30.
  79. Takemura G, Fujiwara H. **Morphological aspects of apoptosis in heart diseases. J Cell Mol Med 2006; 10: 56-75.**  
**Una revisione approfondita dei meccanismi e delle implicazioni dell'apoptosi nella morte cellulare miocardica.**
  80. Wolf BB, Green DR. Suicidal tendencies: apoptotic cell death by caspase family proteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 20049-52.
  81. Van Empel VP, Bertrand AT, Hofstra L, Crijns HJ, Doevendans PA, De Windt LJ. Myocyte apoptosis in heart failure. *Cardiovasc Res* 2005; 67: 21-9.
  82. Oskarsson HJ, Coppey L, Weiss RM, Li WG. Antioxidants attenuate myocyte apoptosis in the remote non-infarcted myocardium following large myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 679-87.
  83. Yaoita H, Ogawa K, Maehara K, Maruyama Y. Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by a caspase inhibitor. *Circulation* 1998; 97: 276-81.
  84. Li Q, Ren J. Influence of cardiac-specific overexpression of insulin-like growth factor 1 on lifespan and aging-associated changes in cardiac intracellular Ca<sup>2+</sup> homeostasis, protein damage and apoptotic protein expression. *Aging Cell* 2007; 6: 799-806.