



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Ι.Α. ΓΟΥΔΕΒΕΝΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ - ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ
ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΗΣ
ΑΡΙΣΤΕΡΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ ΜΕΤΑ ΤΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ
ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ.**

ΓΙΑΝΝΗΣ Γ. ΜΠΑΛΤΟΓΙΑΝΝΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2007



**«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα»
Ν.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος).**



Ημερομηνία αίτησης του κ. Γιάννη Μπαλτογιάννη: 16-9-2002

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 485^α/12-11-2002

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Κωλέττης Θεόφιλος Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Γουδέβενος Ιωάννης Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Καναβάρος Παναγιώτης Καθηγητής Ανατομίας που καλύπτει και την Ιστολογία – Εμβρυολογία της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 4-12-2002

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 603^α/24-4-2007

Γουδέβενος Ιωάννης	Καθηγητής Παθολογίας –Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μαλάμου –Μήτση Βασιλική	Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μιχάλης Λάμπρος	Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Καναβάρος Παναγιώτης	Καθηγητής Ανατομίας που καλύπτει και την Ιστολογία-Εμβρυολογία
Αργυροπούλου Μαρία	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ακτινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κωλέττης Θεόφιλος	Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κατσούρας Χρήστος	Λέκτορας Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 2-5-2007

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Επαμεινώνδας Τσιάνος

Καθηγητής Παθολογίας



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στην οικογένειά μου

Το βιβλίο αυτό είναι ένα υπόμνημα που έγραψα για να θυμηθώ τις οικογενειακές μου εμπειρίες, τις προτιμήσεις μου, τις στάσεις μου, τις αξίες μου. Είναι η έκφραση της αγάπης μου για την οικογένειά μου, της ευγνωμοσύνης μου για την αγάπη που μου έδειξαν, της αφοσίωσης μου για την οικογένειά μου. Είναι η έκφραση της αγάπης μου για την οικογένειά μου, της ευγνωμοσύνης μου για την αγάπη που μου έδειξαν, της αφοσίωσης μου για την οικογένειά μου. Είναι η έκφραση της αγάπης μου για την οικογένειά μου, της ευγνωμοσύνης μου για την αγάπη που μου έδειξαν, της αφοσίωσης μου για την οικογένειά μου.

Το βιβλίο αυτό είναι ένα υπόμνημα που έγραψα για να θυμηθώ τις οικογενειακές μου εμπειρίες, τις προτιμήσεις μου, τις στάσεις μου, τις αξίες μου. Είναι η έκφραση της αγάπης μου για την οικογένειά μου, της ευγνωμοσύνης μου για την αγάπη που μου έδειξαν, της αφοσίωσης μου για την οικογένειά μου. Είναι η έκφραση της αγάπης μου για την οικογένειά μου, της ευγνωμοσύνης μου για την αγάπη που μου έδειξαν, της αφοσίωσης μου για την οικογένειά μου. Είναι η έκφραση της αγάπης μου για την οικογένειά μου, της ευγνωμοσύνης μου για την αγάπη που μου έδειξαν, της αφοσίωσης μου για την οικογένειά μου.

Είναι η έκφραση της αγάπης μου για την οικογένειά μου, της ευγνωμοσύνης μου για την αγάπη που μου έδειξαν, της αφοσίωσης μου για την οικογένειά μου. Είναι η έκφραση της αγάπης μου για την οικογένειά μου, της ευγνωμοσύνης μου για την αγάπη που μου έδειξαν, της αφοσίωσης μου για την οικογένειά μου.



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου παραμένει η κυριότερη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας σε πολλές χώρες, ανάμεσα στις οποίες βρίσκεται και η Ελλάδα. Τα τελευταία χρόνια, η εφαρμογή θεραπειών επαναιμάτωσης, είτε με θρομβόλυση είτε με άμεση αγγειοπλαστική, έχει μειώσει σημαντικά την ενδονοσοκομειακή θνητότητα της νόσου. Όμως, περίπου το ένα τρίτο των ασθενών πεθαίνει τις πρώτες ώρες του οξέος εμφράγματος, πριν τη μεταφορά του σε κέντρο παροχής άμεσης ιατρικής φροντίδας, και το ποσοστό αυτό έχει παραμείνει αμετάβλητο για δεκαετίες. Η πλειονότητα αυτών των θανάτων οφείλεται σε κοιλιακές αρρυθμίες, κυρίως σε κοιλιακή μαρμαρυγή. Παρά τη βελτίωση των υπηρεσιών άμεσης βοήθειας, με την ανάπτυξη στρατηγικών ταχείας απινίδωσης, το ποσοστό επιβίωσης σε θύματα καρδιοαναπνευστικής ανακοπής παραμένει πολύ μικρό.

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για την κατανόηση των μηχανισμών πρόκλησης κακοήθων κοιλιακών αρρυθμιών κατά τη διάρκεια οξείας ισχαιμίας. Η μελέτη των ηλεκτροφυσιολογικών μεταβολών που προηγούνται της εμφάνισης κοιλιακής μαρμαρυγής, όπως η διασπορά της επαναπόλωσης, η ηλεκτρική εναλλαγή των κυμάτων T και οι πρώιμες κοιλιακές συστολές σε τρωτή περίοδο της επαναπόλωσης, δεν επαρκεί για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας της κοιλιακής μαρμαρυγής κατά τη διάρκεια του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Οι ηλεκτροφυσιολογικές αυτές μεταβολές είναι πολύπλοκες και φαίνεται να προκαλούνται από πολλούς μηχανισμούς, που πυροδοτούνται από την ισχαιμία του κοιλιακού μυοκαρδίου. Τέτοιοι μηχανισμοί είναι, ανάμεσα σε άλλους, οι διαταραχές των διαύλων ιόντων, μεταβολικές διαταραχές, όπως παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων και ελευθέρων ριζών, και νευροορμονικές διαταραχές, όπως αυξημένη συμπαθητική δραστηριότητα και αυξημένη παραγωγή ενδοθηλίνης-1.

Η ενδοθηλίνη-1 παράγεται κυρίως από τα ενδοθηλιακά, αλλά και από τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, καθώς και από τα μυοκαρδιακά κύτταρα. Πειραματικές και κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η παραγωγή ενδοθηλίνης-1 αυξάνεται κατά τη διάρκεια παρατεταμένης ισχαιμίας.



Η αυξημένη παραγωγή ενδοθληλίνης-1 είναι πιθανό να συμβάλλει στη πρόκληση κακοήθων κοιλιακών αρρυθμιών κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης του εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Όμως, η επίδραση της ενδοθληλίνης-1 στην εμφάνιση κακοήθων κοιλιακών αρρυθμιών δεν είναι καλά διευκρινισμένη και υπάρχουν πολλά αντικρουόμενα δεδομένα.

Έτσι, η επίδραση της χορήγησης ενδοθληλίνης-1 στις κοιλιακές αρρυθμίες, σε πειραματικό μοντέλο απόφραξης της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας σε επίμυες αποτέλεσε και το κύριο αντικείμενο μελέτης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Οι επίμυες αποτελούν το πειραματόζωο εκλογής για τέτοιου είδους μελέτες, καθώς εμφανίζουν κοινά ηλεκτροφυσιολογικά χαρακτηριστικά με τον άνθρωπο. Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Καρδιολογίας του Πειραματικού Εργαστηρίου του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους τους συναδέλφους μου στο Πειραματικό Εργαστήριο Καρδιολογίας, με τη βοήθεια των οποίων έγινε δυνατή η ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής. Συγκεκριμένα, στην Αγαθόκλεια Μήτση, τον Δημήτριο Ελαιόπουλο, την Μαρία Αγγελάκη, τον Παναγιώτη Λέκκα, τον Κωνσταντίνο Χατζηστέργο και την Αναστασία Αλεβιζάτου που συνετέλεσαν αποφασιστικά στην ολοκλήρωση των πειραμάτων.

Επίσης, καθοριστική ήταν η προσφορά του Δημήτριου Τσαλικάκη στην ψηφιοποίηση και ανάλυση των σημάτων των μονοφασικών δυναμικών ενέργειας, καθώς και στην ανάλυση της Μεταβλητότητας της Καρδιακής Συχνότητας (Heart Rate Variability) σε συνεργασία με τον Αλέξανδρο Τζάλλα. Κυρίως, όμως, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον Επίκουρο Καθηγητή Καρδιολογίας Θεόφιλο Κωλέττη για την καθοδήγηση του σε όλες τις φάσεις εκπόνησης της παρούσας διατριβής, την αμέριστη συμπαράστασή του σε όλες τις δυσκολίες που προέκυψαν κατά τη διάρκειά της, καθώς και για την μετάδοση του πνεύματος της συνεχούς επιστημονικής αναζήτησης που τον διακρίνει.



ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ET-1: Ενδοθηλίνη-1

ET-2: Ενδοθηλίνη-2

ET-3: Ενδοθηλίνη-3

ETA: Υποδοχείς-A της ενδοθηλίνης

ET-B: Υποδοχείς-B της ενδοθηλίνης

ECE: Μετατρεπτικό ένζυμο της ET-1

ΔΔΔ: Διάρκεια Δυναμικού Ενέργειας

ΑΑΠ: Απόλυτη Ανερέθιστη Περίοδος

NO: Οξείδιο του αζώτου

TNF: Tumor Necrosis Factor

ΜΔΕ: Μονοφασικά Δυναμικά Ενέργειας

ΔΜΔΕ: Διαμεμβρανικά Μονοφασικά Δυναμικά Ενέργειας



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

σελ. 1

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1°

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗΣ

1

1.1 Γενικά

1

1.2 Η ενδοθηλίνη σε μοριακό επίπεδο

2

1.3 Σύνθεση και κάθαρση της ενδοθηλίνης

3

1.4 Υποδοχείς της ενδοθηλίνης

6

1.5 Φυσιολογικές ιδιότητες της ενδοθηλίνης

10

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2°

Η ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ ΩΣ ΜΕΣΟ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

17

2.1 Ενδοθηλίνη και πνευμονική υπέρταση

17

2.1.1 Κατάταξη της πνευμονικής υπέρτασης

18

2.2 Ανταγωνιστές των υποδοχέων της ενδοθηλίνης και πνευμονική υπέρταση

21

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3°

ΝΕΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

3.1 Αρτηριακή Υπέρταση

23

23



3.2 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια	24
3.3 Αθηροσκλήρυνση- Στεφανιαία νόσος	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4°	
ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΖΗΤΗΜΑΤΑ-ΛΟΓΟΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗΣ ΧΡΗΣΗΣ	27
4.1 Δοσολογία	27
4.2 Είδος υποδοχέων	28
4.3 Η ξεχωριστή φύση των διαφορετικών παθήσεων	28
4.4 Τερατογένεση	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5°	
ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	31
5.1 Ενδοθηλίνη και Καρδιακή ανεπάρκεια	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6°	
ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΦΑΣΗ ΤΟΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ	35
6.1 Ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές- Κοιλιακές αρρυθμίες	35
6.2 Αρρυθμίες μετά το OEM	39
6.2.1. Φάση I	39
6.2.2 Φάση II	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7°	
ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ ΚΑΙ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ	43
7.1 Εισαγωγή	43
7.2 Ενδοθηλίνη στην καρδιά	46
7.3 Ενδοθηλίνη και έμφραγμα	47
7.4 Αναδιαμόρφωση αριστεράς κοιλίας	52



7.4.1 Οξεία φάση	53
7.4.2 Χρόνια φάση	54
7.5 Αναδιαμόρφωση των καρδιακών μυοκυττάρων κατά το OEM	56

Β) ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	59
---------------------------	-----------

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8°

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	61
--------------------------	-----------

8.1 Επιλογή είδους πειραματόζωου	61
----------------------------------	----

8.2 Ανατομία των στεφανιαίων αγγείων στον επίμυ	63
---	----

8.3 Πειραματικό πρότυπο	64
-------------------------	----

8.3.1 Αναισθησία	64
------------------	----

8.3.2 Πρόκληση OEM	68
--------------------	----

8.3.3 Εμφύτευση συστήματος Holter	70
-----------------------------------	----

8.3.4 Λήψη ΗΚΓ	71
----------------	----

8.3.5 Ανάλυση αρρυθμιών	72
-------------------------	----

8.3.6 Μέτρηση καρδιακής συχνότητας	75
------------------------------------	----

8.3.7 Μέτρηση μονοφασικού δυναμικού ενεργείας	75
---	----

8.3.7.1 Τεχνική	75
-----------------	----

8.3.7.2 Συσχέτιση ΜΔΕ και ΔΜΔΕ	79
--------------------------------	----

8.3.8 Μέτρηση μεγέθους εμφράγματος	83
------------------------------------	----

8.3.9 Ανάλυση της μεταβλητότητας της Καρδιακής Συχνότητας	85
---	----



Στατιστική ανάλυση	88
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9^ο	
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
<i>Πρώτο μέρος</i>	89
9.1 θνητότητα	89
9.2 Καρδιακή συχνότητα	90
9.3 Μέγεθος εμφράγματος	90
9.4 Κοιλιακές αρρυθμίες	91
9.5 Μονοφασικά δυναμικά ενεργείας	92
<i>Δεύτερο μέρος</i>	96
9.6 Μέγεθος εμφράγματος	96
9.7 Καρδιακή συχνότητα	97
9.8 Αριθμός και διάρκεια των επεισοδίων ΚΤ/ΚΜ	98
9.9 Ωριαία διάρκεια των ΚΤ/ΚΜ κατά τη διάρκεια των Φάσεων Ι και ΙΙ	98
9.10 Κατανομή της ωριαίας διάρκειας των κοιλιακών ταχυαρρυθμιών	99
9.11 Διάρκεια των μονοφασικών δυναμικών	101
9.12 Επίπεδα κατεχολαμινών	102
9.13 Heart rate variability	102
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10^ο	
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	105
Α) ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ	112
Β) ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ	
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	117
	125



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

127

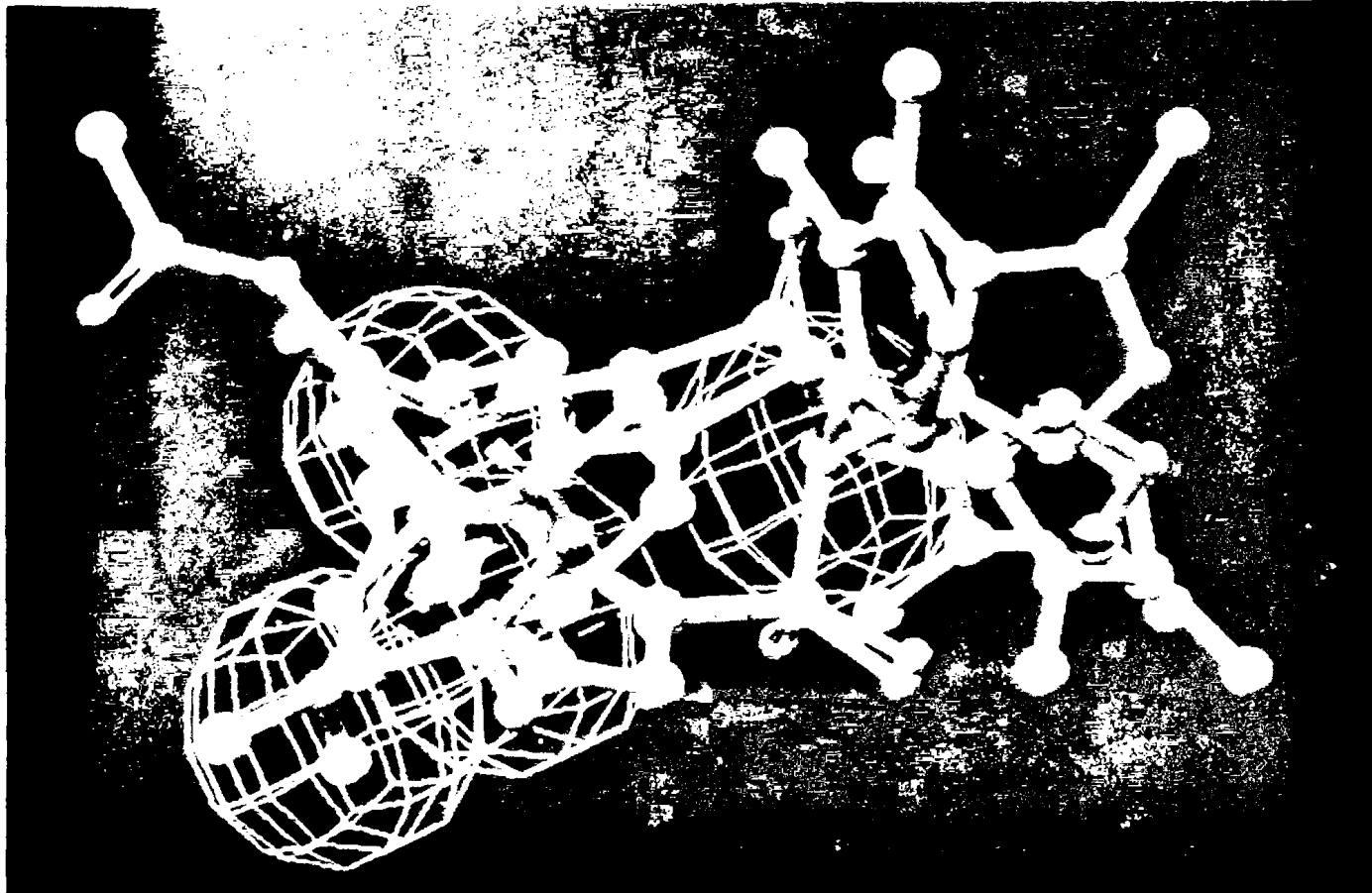
ABSTRACT

129

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

131





Εικ. 1 Χημική δομή του μορίου της ενδοθηλίνης σε τρισδιάστατη απεικόνιση.

αποτέλεσε σταθμό στο πεδίο της καρδιαγγειακής έρευνας. Φαρμακολογικές και μοριακές προσεγγίσεις αποκάλυψαν ότι η ενδοθηλίνη ήταν ο πιο ισχυρός αγγειοσυσπαστικός παράγοντας που είχε ποτέ περιγραφεί στα βιολογικά

συστήματα.

Από την ανακάλυψή της, έχουν καταβληθεί πολλές προσπάθειες για την κατανόηση του ρόλου που διαδραματίζει αυτό το πεπτίδιο, φυσιολογικά και παθοφυσιολογικά, ιδιαίτερα όσον αφορά το καρδιαγγειακό σύστημα.

1.2 Η Ενδοθηλίνη σε μοριακό επίπεδο

Η ενδοθηλίνη εκφράζεται μέσω τριών ισομορφών: την ET-1, την ET-2, και την ET-3. Και οι τρεις μορφές είναι πεπτίδια που αποτελούνται από 21 αμινοξέα που παράγονται από ξεχωριστά γονίδια^{1,2}.

Η ET-1 είναι εκείνη που παράγεται κυρίως στο καρδιαγγειακό σύστημα, και για την οποία γνωρίζουμε τα περισσότερα. Η ET-2 παράγεται κυρίως στους νεφρούς και στο γαστρεντερικό σύστημα, ενώ η ET-3 βρίσκεται, κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα (πίνακας 1).

ET-1	ET-2	ET-3
<ul style="list-style-type: none">• Ενδοθηλιακά κύτταρα	<ul style="list-style-type: none">• Επιθηλιακά κύτταρα των νεφρών	<ul style="list-style-type: none">• Νευρώνες
<ul style="list-style-type: none">• Λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων	<ul style="list-style-type: none">• Στρωματικά κύτταρα του γαστρεντερικού	<ul style="list-style-type: none">• Γλοία
<ul style="list-style-type: none">• Επιθηλιακά κύτταρα		<ul style="list-style-type: none">• Αδρενεργικά κύτταρα
<ul style="list-style-type: none">• Ηπατοκύτταρα		<ul style="list-style-type: none">• Επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων
<ul style="list-style-type: none">• Νευρώνες		<ul style="list-style-type: none">• Στρωματικά κύτταρα του γαστρεντερικού
<ul style="list-style-type: none">• Αστροκύτταρα		<ul style="list-style-type: none">• Επιθηλιακά κύτταρα των νεφρών

Πιν. 1 Σημεία παραγωγής της ET-1, ET-2 και ET-3.

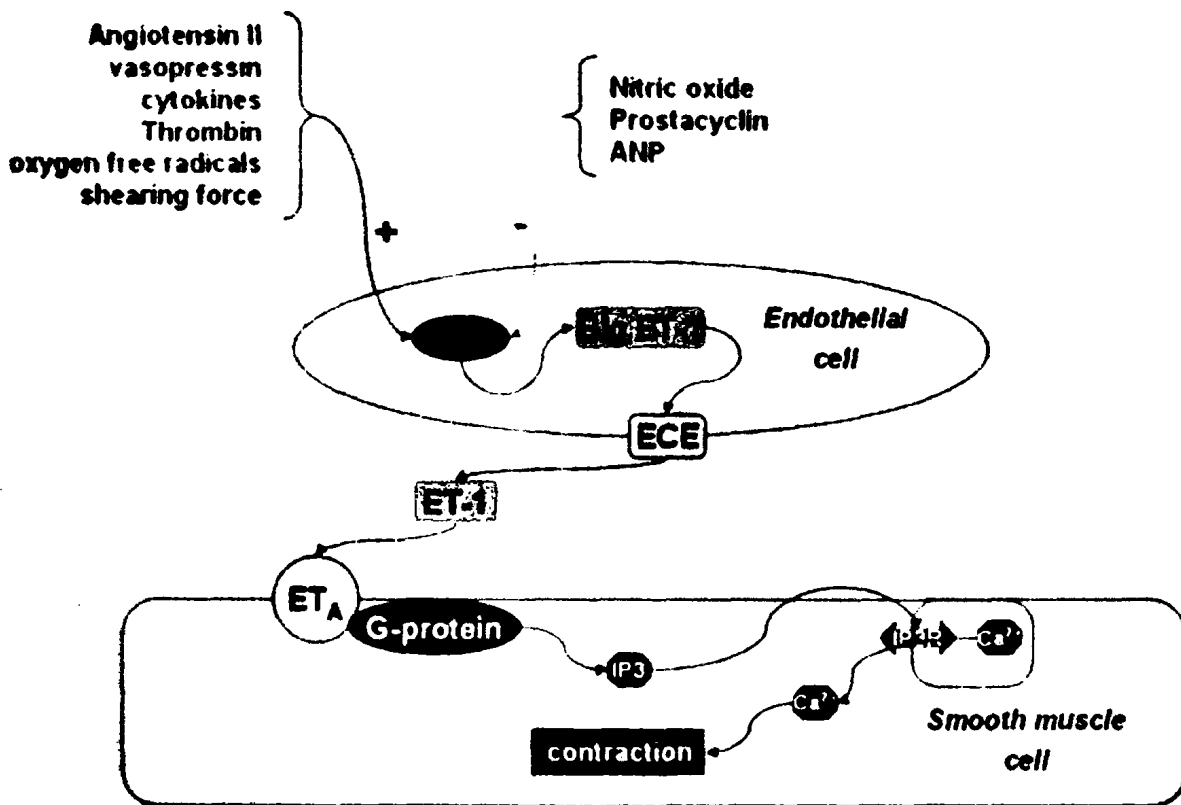
Όμως, ο ρόλος τους, εκτός από τη συμβολή τους στην εμβρυϊκή ανάπτυξη



παραμένει άγνωστος.

1.3 Σύνθεση και κάθαρση της ET-1.

Η ET-1 παράγεται μετά από επίδραση ενός μεγάλου εύρους ερεθισμάτων, που διαφέρει από ιστό σε ιστό ².



Εικ. 2 Διάφορα ερεθίσματα προάγουν ή αναστέλλουν την παραγωγή της ET-1. Για παράδειγμα η αγγειοτενσίνη II, η βαζοπρεσσίνη, οι κυτοκίνες, η θρομβίνη, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και το τοιχωματικό stress αποτελούν παράγοντες που ενισχύουν την παραγωγή της ET-1. Αντίθετα, το NO, η προστακυκλίνη και το νατριουρητικό πεπτίδιο των κόλπων (ANP) είναι ουσίες που μειώνουν την σύνθεση της ET-1.

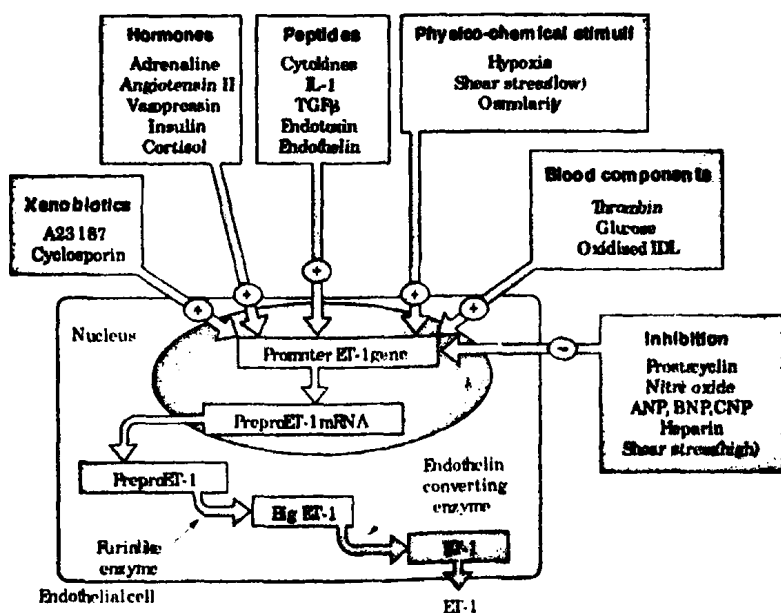
Η ET-1 παράγεται κυρίως στον πυρήνα των ενδοθηλιακών κυττάρων των



αγγείων και χρειάζεται συγκεκριμένα βήματα πριν φτάσει στην οριστική της μορφή.

Έτσι, όπως φαίνεται και στην εικόνα 3 υπάρχουν ορμόνες, πεπτίδια, συστατικά του αίματος φυσικά και χημικά ερεθίσματα, καθώς και άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν θετικά στην διέγερση του γονιδίου της ET-1, γεγονός που οδηγεί στην αύξηση της σύνθεσης της ET-1. Μερικά από αυτά τα ερεθίσματα είναι η αδρεναλίνη, η αγγειοτενσίνη II, η βαζοπρεσίνη, οι ορμόνες του stress δηλαδή γενικότερα, η υποξία, το τοιχωματικό stress (shear stress), η θρομβίνη, η οξειδωμένη μορφή της LDL χοληστερόλης κ.α.

Αντίθετα, άλλοι παράγοντες, όπως η προστακυκλίνη, το NO, η ηπαρίνη, το υψηλό τοιχωματικό stress, η ηπαρίνη, το κοιλιακό νατριουρητικό πεπτιδίδιο κ.α. δρουν ανασταλτικά στο γονίδιο της ET-1.



Εικ. 3 Παράγοντες που καθορίζουν τη σύνθεση της ET-1 καθώς και σχηματική αναπαράσταση της παραγωγής της

ANP: Atrial Natriuretic Peptide

BNP: Brain Natriuretic Peptide

CNP: C-type Natriuretic Peptide



IL-1: Interleukin- 1

LDL: Low Density Lipoprotein

TGF: Tissue Growth Factor

Περιληπτικά, η παραγωγή της ET-1 περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- 1) Διέγερση του γονιδίου της ET-1, που βρίσκεται στον πυρήνα του ενδοθηλιακού κυττάρου.
- 2) Δημιουργία του mRNA της preproET-1, μιας πρόδρομης μορφής της.
- 3) Σύνθεση της preproET-1 στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου.
- 4) Με την κατάλυση της preproET-1 από ένα ένζυμο δημιουργείται η Big ET-1.
- 5) Η τελευταία, ένα αμινοπεπτίδιο από 38 αμινοξέα, διαχωρίζεται σε ET-1 μέσω του μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1 (ECE-1), μιας υπερεκλεκτικής μεταλλοπρωτεϊνάσης.

Η ET-1 έχει παρακρινή και ενδοκρινή δράση. Γι αυτό ο διαχωρισμός μεταξύ big ET-1 και ET-1 χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή. Ιδιαίτερα τα ερεθίσματα που επιδρούν στην κάθαρση και λιγότερο στη σύνθεση του μορίου είναι από τους πιο σημαντικούς δείκτες της συγκέντρωσής του στο πλάσμα.

Παρά το γεγονός ότι οι βιολογικές επιδράσεις της ET-1 διαρκούν για πολύ μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, ο χρόνος ημίσειας ζωής της είναι λιγότερο από δύο λεπτά. Αυτό οφείλεται στην απέκκριση της από το πνευμονικό και νεφρικό αγγειακό δίκτυο. Αυτή η απέκκριση περιλαμβάνει δέσμευση της ουσίας από Β-υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια του κυττάρου, απορρόφηση και αποδόμησή της στα λυσοσώματα. Τα μόρια της ενδοθελίνης αποδομούνται επίσης από ενδοπεπτιδάσες που βρίσκονται στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο στους νεφρούς.

1.4 Υποδοχείς της ET-1

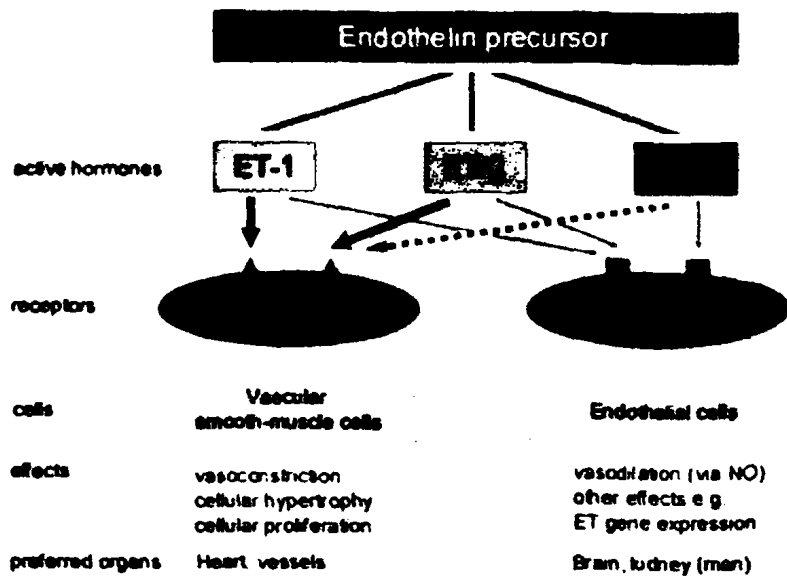


Η ET-1 ασκεί τη δράση της μέσω της σύνδεσής της με δύο ειδικούς υποδοχείς, τους υποδοχείς-A (ETA) και τους υποδοχείς-B (ETB). Και οι δύο είναι πρωτεϊνικής φύσεως και βρίσκονται στη μεμβράνη των κυττάρων. Έχουν, όμως διαφορετική μοριακή δομή και ξεχωριστές φαρμακολογικές ιδιότητες και λειτουργίες που βασίζονται κυρίως στην θέση τους (Πιν.2, Εικ.4).

	ET _A	ET _B
• Δραστικότητα των αγωνιστών	ET-1>ET-2>>ET-3	ET-1 = ET-2 = ET-3
• Εκλεκτικότητα των αγωνιστών	Καμία	Endothelin-3, sarafotoxin-6c, BQ3020, IRL1620
• Κύριες δράσεις	Αγγειοσύσπαση	Αγγειοδιαστολή
	Μιτογένεση	Αγγειοσύσπαση
	Αγγειογένεση	Νατριούρηση
	Δημιουργία επιθηλιακού ιστού στα κύτταρα	Κάθαρση της ενδοθηλίνης

Πιν.2 Ταξινόμηση των υποδοχέων της ενδοθηλίνης.





Εικ. 4 Οι υποδοχείς της ενδοθηλίνης A και B παράγονται σε διαφορετικά σημεία. Οι A υποδοχείς κυρίως στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, ενώ οι B στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Έτσι, εξηγούνται εν μέρει και οι διαφορετικές τους δράσεις. Οι υποδοχείς A προκαλούν αγγειοσύσπαση, κυτταρική υπερτροφία και κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Οι B μπορεί να προκαλέσουν αγγειοδιαστολή, έκφραση του γονιδίου της ενδοθηλίνης κ.α. Χαρακτηριστικό είναι επίσης ότι έχουν διαφορετική συγκέντρωση στα διάφορα όργανα (π.χ. οι υποδοχείς-A βρίσκονται κυρίως στην καρδιά και τα αγγεία, ενώ οι υποδοχείς-B απαντούν κυρίως στον εγκέφαλο και στους νεφρούς).

Η σύνδεση της ET-1 με τους υποδοχείς αυτούς οδηγεί σε ενεργοποίηση του μονοπατιού της φωσφατιδυλικής ινοσιτόλης φωσφολιπάσης C και στην πυροδότηση ενδοκυττάρων διεργασιών, με βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα αποτελέσματα. Τέτοια είναι η ραγδαία αύξηση των ενδοκυττάρων επιπέδων ασβεστίου, η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C και πυρηνικοί μηχανισμοί σήμανσης.



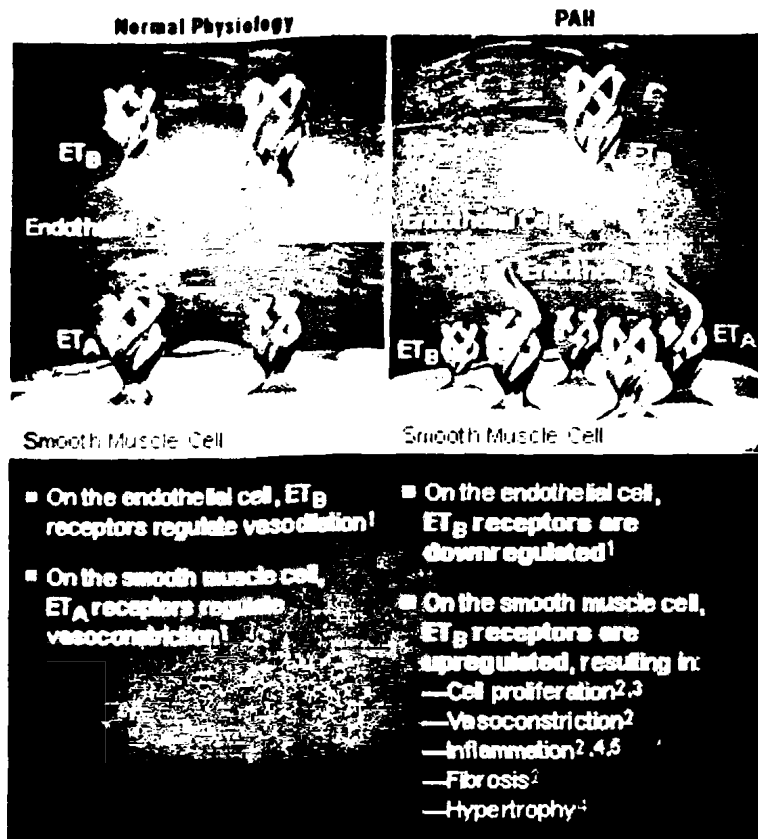
Οι υποδοχείς ETA της ET-1 εκφράζονται, κυρίως, στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και στα μυοκαρδιακά κύτταρα. Η αλληλεπίδρασή τους με την ET-1 οδηγεί σε αγγειοσύσπαση, ενώ έχουν και αυξητικές ιδιότητες.

Αντίθετα, οι ETB υποδοχείς βρίσκονται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, όπου είναι συνδεδεμένοι με μια ανασταλτική G πρωτεΐνη. Η ενεργοποίηση τους καταλήγει σε απελευθέρωση NO και προστακυκλίνης, που με τη σειρά τους οδηγούν σε αγγειοδιαστολή. Αυτού του τύπου οι υποδοχείς βρίσκονται, σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις, στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, όπου συμβάλλουν σε αγγειοσύσπαση. Επιπλέον, οι ETB υποδοχείς διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην κάθαρση της ET-1 στο πνευμονικό και νεφρικό αγγειακό δίκτυο.

Έτσι, σε φυσιολογικές συνθήκες, απουσία δηλαδή ασθενειών, οι δράσεις της ET-1 οδηγούν σε διατήρηση του αγγειακού τόνου, σε διαφοροποίηση των ιστών και σε πολλαπλασιασμό των κυττάρων μέσω των ιδιοτήτων των ETA και ETB υποδοχέων της.

Αντίθετα, σε παθολογικές καταστάσεις οι υποδοχείς της ET-1 έχουν διαφορετική δράση με αστάθμητα αποτελέσματα που οδηγούν κυρίως σε αγγειοσύσπαση, καθώς και σε αυξητικές ιδιότητες ²⁻⁵ (Εικ.5).





Εικ. 5 Στην εικόνα αυτή καταδεικνύεται η διαφορετική δράση των υποδοχέων υπό φυσιολογικές συνθήκες και σε παθολογικές καταστάσεις. Αριστερά φαίνεται ότι σε φυσιολογικές συνθήκες οι B-υποδοχείς στα ενδοθηλιακά κύτταρα προάγουν την αγγειοδιαστολή. Στα λεία μυϊκά κύτταρα οι A-υποδοχείς ρυθμίζουν την αγγειοσύσπαση διατηρώντας τον τόνο των αγγείων. Δεξιά, όμως, και σε συνθήκες πνευμονικής υπέρτασης οι υποδοχείς-B μειώνονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και αυξάνουν στα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλώντας πολλαπλασιασμό κυττάρων, αγγειοσύσπαση, φλεγμονή, ίνωση και υπερτροφία.

1.5 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗΣ-1

Η κατανόηση του ρόλου της ET-1 στην ανθρώπινη φυσιολογία προέρχεται, κυρίως από τη δημιουργία αγωνιστών, ουσιών δηλαδή που ευοδώνουν την δράση της, αλλά κυρίως ανταγωνιστών.

α) αγωνιστές της ET-1:

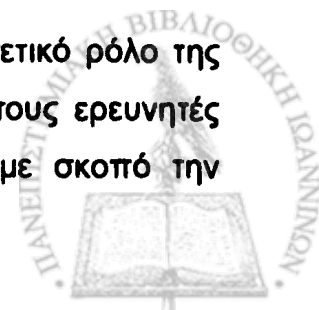
Μέχρι σήμερα δεν έχει ανακαλυφθεί ένας εξειδικευμένος αγωνιστής για τους ETA υποδοχείς. Όσον αφορά τους ETB υποδοχείς έχουν χρησιμοποιηθεί ως αγωνιστές η σαραφοτοξίνη, που βρίσκεται σε δηλητήριο φιδιού και η ET-3, που έχει βρεθεί ότι έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με τους ETB από τους ETA υποδοχείς.

Στον άνθρωπο η ET-1 προκαλεί μια βραδεία δοσοεξαρτώμενη αγγειοσύσπασση που διατηρείται περίπου για δύο ώρες ⁶. Αυτή η απάντηση μετριάζεται από την έγχυση ενός ανταγωνιστή των υποδοχέων ETA ⁷, γεγονός που δείχνει ότι η αγγειοσύσπασση που προκαλεί η ET-1 γίνεται, κυρίως μέσω των ETA υποδοχέων. Αυτή η δράση ακολουθείται από αγγειοδιαστολή που πιθανώς ευοδώνεται από τους ETB υποδοχείς που βρίσκονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων.

Επιπλέον, η ενδοφλέβια έγχυση ET-1 και big ET-1 προκαλεί δοσοεξαρτώμενη μείωση της πίεσης και της καρδιακής συχνότητας ⁸. Οι συστηματικές αυτές δράσεις συσχετίζονται με μείωση της αιματικής ροής στα στεφανιαία αγγεία και στον κορεσμό του οξυγόνου στο στεφανιαίο κόλπο. Το γεγονός αυτό δείχνει τον πιθανό ρόλο της ET-1 στη διατήρηση του στεφανιαίου αγγειακού τόνου.

β) ανταγωνιστές της ενδοθηλίνης:

Προκλινικές και κλινικές μελέτες υποστηρίζουν τον παθογενετικό ρόλο της ET-1 σε μια πληθώρα παθήσεων. Το γεγονός αυτό ώθησε τους ερευνητές προς την κατεύθυνση ανεύρεσης ανταγωνιστών της ET-1 με σκοπό την



αποκόμιση πιθανόν θετικών αποτελεσμάτων από τη χρήση τους σε κλινικό επίπεδο.

Οι ανταγωνιστές της ET-1 χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες:

- ι) στους αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1 και
- ii) στους ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1.

ι) αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1

Η αναστολή του μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1 (ECE) αποτρέπει τη μετατροπή της bigET-1 σε ET-1 και συνδέεται με αγγειοδιαστολή και υπόταση⁷. Οι περισσότεροι αναστολείς του ECE που βρίσκονται σε εξέλιξη, αναστέλλουν επίσης και τις ενδοπεπτιδάσες, με αποτέλεσμα να αναστέλλουν τόσο την παραγωγή ET-1 όσο και το μεταβολισμό των αγγειοδιασταλτικών μεσολαβητών που πιθανόν αποδομούνται από τις ενδοπεπτιδάσες. Τέτοιοι μεσολαβητές είναι το κολπικό νατριουρητικό πεπτιδίδιο και η βραδυκινίνη (πίνακας 3).



Εκλεκτικοί αναστολείς ECE	Διπλοί αναστολείς ECE/NEP	Τριπλοί αναστολείς ECE/NEP/ACE
• Φυσικά προϊόντα	• NEP>ECE	• Ισχυροί
FR 901532 (WS 79089B)	Phosphoramidon	SCH 54470
B90063	CGS 26303	
WS 75624B	SLV 306	
• Συνθετικά προϊόντα	• ECE>NEP	• Μέτριοι
SM 19712	CGS 34043	SA 6817
PD 069185		CGS26582
CGS 35066		
ACE, angiotensin converting enzyme (μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης) ECE, endothelin converting enzyme (μετατρεπτικό ένζυμο της ενδοθηλίνης) NEP, neutral endopeptidase (ουδέτερη ενδοπεπτιδάση).		

Πιν. 3 Κατηγοριοποίηση των αναστολέων των μετατρεπτικών ενζύμων της ενδοθηλίνης.

Σε αυτή την αναστολή μπορεί να προστεθεί και η αναστολή του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE), με πιθανά θετικά αποτελέσματα σε παθολογικές καταστάσεις όπως η καρδιακή ανεπάρκεια και η νεφρική δυσλειτουργία^{9,10}. Επιπλέον, αναστέλλοντας τη σύνθεση της ET-1, οι αναστολείς του ECE δρουν ως μικτοί ανταγωνιστές των υποδοχέων ETA και ETB της ET-1, αφήνοντας μάλιστα ανεπηρέαστη την κάθαρση της ET-1. Παρά το γεγονός αυτό η πρόοδος που έχει επιτευχθεί μέχρι σήμερα για τους αναστολείς του ECE είναι σημαντικά μικρότερη σε σύγκριση με αυτή που έχει γίνει με τους ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1.

ii) ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1.

Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1 διαχωρίζονται σε εκλεκτικούς ETA

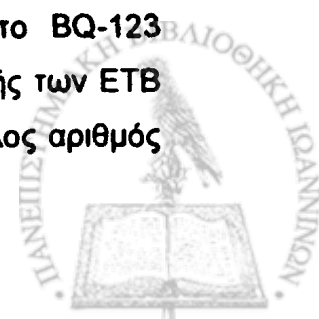


ή εκλεκτικούς ET_B, ανάλογα με τη συγγένειά τους προς κάποιο τύπο υποδοχέα, ή σε μικτούς ET_A/B ανταγωνιστές όταν δεν παρουσιάζουν κάποια ιδιαίτερη συγγένεια (πίνακας 4).

Εκλεκτικότητα των υποδοχέων της ET-1†		
ET _A	ET _B	ET _A /ET _B
Πεπτιδικοί ανταγωνιστές		
BQ123	IRL2500	TAK044
BQ485	RES7011	PD142893
BQ153	BQ788	PD145065
BQ610		
FR139317		
PD151242		
Μη πεπτιδικοί ανταγωνιστές υπό κλινική ανάπτυξη		
Darusentan (περίπου 150-φορές πιο εκλεκτικός για τους ET _A από τους ET _B)		Enrasentan
		Tezosentan (iv)
Ambriasantan (περίπου 260-φορές πιο εκλεκτικός για τους ET _A από τους ET _B)		
Atrasentan (περίπου 1860-φορές πιο εκλεκτικός για τους ET _A από τους ET _B)		Bosentan
Sitaxsentan (περίπου 6500-φορές πιο εκλεκτικός για τους ET _A από τους ET _B)		
<p>*Τα πεπτιδικά παράγωγα που είχαν αρχικά αναπτυχθεί υπόκειντο σε υδρόλυση και επακόλουθη απενεργοποίηση από πεπτιδάσες στο γαστρεντερικό και κυκλοφορικό σύστημα. Για το λόγο αυτό από του στόματος χορηγούμενοι μη πεπτιδικοί ανταγωνιστές είναι η κύρια επιδίωξη της κλινικής έρευνας.</p> <p>† Η εκλεκτικότητα για τους ET_A υποδοχείς είναι γενικά αποδεκτή >100-φορές σε σχέση με τους ET_B υποδοχείς και η εκλεκτικότητα για τους ET_B 10–100-φορές σε σχέση με τους ET_A υποδοχείς.</p> <p>Davenport AP. International Union of Pharmacology. XXIX. Update on endothelin receptor nomenclature. Pharmacol Rev 2002;54:219–6.</p>		

Πιν. 4 Πεπτιδικοί και μη πεπτιδικοί ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1*

Οι δύο περισσότερο χρησιμοποιημένοι ανταγωνιστές είναι το BQ-123 (ανταγωνιστής των ET_A υποδοχέων) και το BQ-788 (ανταγωνιστής των ET_B υποδοχέων). Όσον αφορά τους μικτούς ανταγωνιστές ένας μεγάλος αριθμός

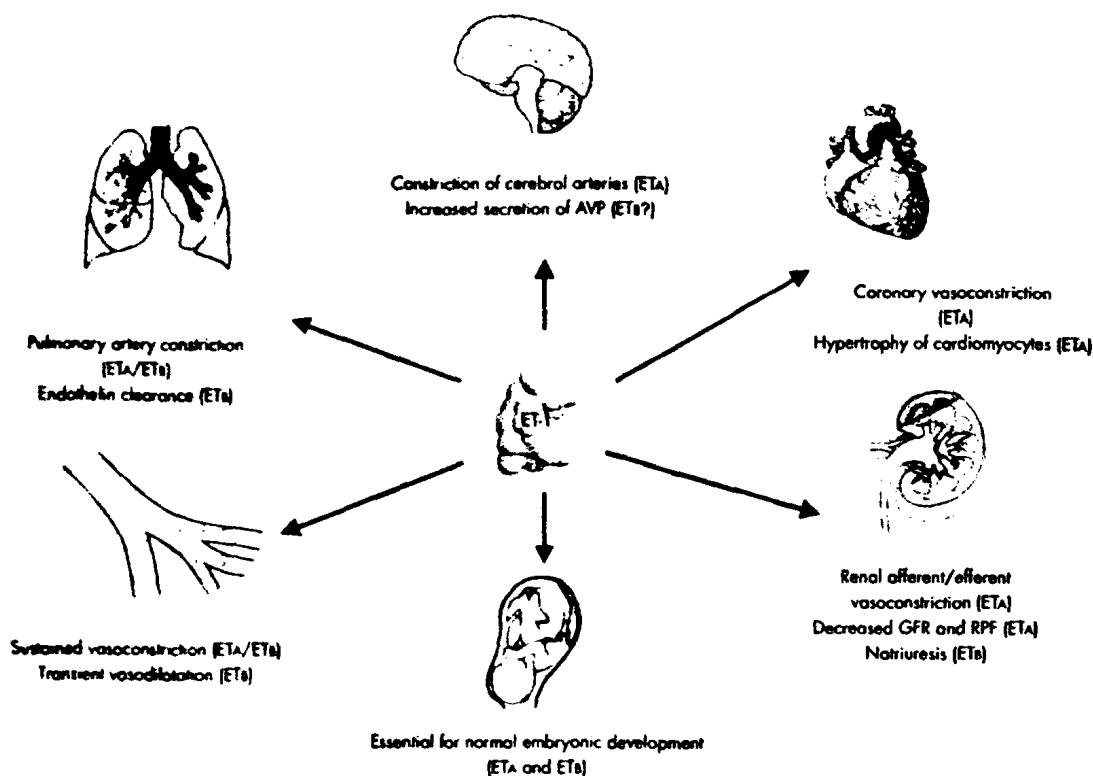


ουσιών έχει χρησιμοποιηθεί σε πειραματικές μελέτες, αλλά το Bosentan, ένας μη πεπτιδικός ανταγωνιστής που λαμβάνεται από του στόματος, ήταν το πρώτο της κατηγορίας αυτής που πήρε έγκριση για κλινική εφαρμογή από το Food and Drug Administration (FDA), καθώς και από την Europe's European Medicines Agency (EMA) για τη θεραπεία της πνευμονικής υπέρτασης.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η διάκριση μεταξύ εκλεκτικών και μικτών ανταγωνιστών δεν είναι καλά διευκρινισμένη. Συγκεκριμένα, οι μικτοί ανταγωνιστές έχουν μεγαλύτερη συγγένεια στους ETA υποδοχείς, ενώ οι εκλεκτικοί ETA υποδοχείς όταν χρησιμοποιούνται σε σχετικά μεγάλες δόσεις μπορούν να δράσουν και στους δύο υποδοχείς ¹¹. Η χορήγηση ανταγωνιστών των ETA υποδοχέων σε υγιείς εθελοντές προκαλεί αγγειοδιαστολή ⁷. Όταν χορηγήθηκε συστηματικά ο εκλεκτικός ανταγωνιστής των ETA υποδοχέων BQ-123 προκάλεσε μια δόσοεξαρτώμενη μείωση της αρτηριακής πίεσης και των αγγειακών αντιστάσεων ¹². Το γεγονός αυτό δείχνει ότι η ET-1 συμβάλλει στη διατήρηση του αγγειακού τόνου και της αρτηριακής πίεσης μέσω των ETA υποδοχέων.

Αντίθετα, η χορήγηση του εκλεκτικού ETB ανταγωνιστή BQ-788 προκάλεσε μια ήπια αγγειοσύσπαση, καθώς και μικρή αύξηση της αρτηριακής πίεσης ^{13,14}. Τούτο υποδηλώνει ότι οι ETB υποδοχείς, που σχετίζονται με τη σύνθεση NO, διαδραματίζουν φυσιολογικά κάποιο αντισταθμιστικό ρόλο στους ETA υποδοχείς για τη διατήρηση του αγγειακού τόνου. Πράγματι, η χορήγηση μικτού ανταγωνιστή των ETA/B υποδοχέων προκαλεί μικρότερη αγγειοδιαστολή και μικρότερη μείωση της αρτηριακής πίεσης ¹⁵. Έχει επίσης δειχθεί ότι οι ETB ανταγωνιστές αυξάνουν τη συγκέντρωση της ET-1 στο πλάσμα σε τρωκτικά και ανθρώπους, πιθανώς μειώνοντας την κάθαρσή της ^{13,16}. Επιπρόσθετα των αγγειακών της δράσεων μέσω των ETA και ETB υποδοχέων η ET-1 έχει και άλλες φυσιολογικές ιδιότητες (εικόνα 6).





Εικ. 6 Σχηματική απεικόνιση των δράσεων της ET-1.

Ειδικότερα, οι ETB υποδοχείς εκτός από την παρουσία τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα όπου προκαλούν αγγειοδιαστολή, έχουν υψηλή έκφραση στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων. Εκεί οι ETB υποδοχείς φαίνεται να ανταποκρίνονται στην ενδονεφρική παραγωγή ET-1 αποτρέποντας τις δράσεις της βαζοπρεσίνης και αναστέλλοντας την Na/K ATPάση που οδηγεί σε απώλεια άλατος και νερού¹⁷. Αυτή η υπόθεση επιβεβαιώνεται από την παρατήρηση ότι σε ποντίκια που έλειπε το γονίδιο για τους ETB υποδοχείς (knock out mice) παρατηρήθηκε αλατοευαίσθητη υπέρταση¹⁸. Επιπρόσθετα, συλλογή ET-1 από τους νεφρούς έχει δείχθει ότι είναι ένας φυσιολογικός ρυθμιστής της έκκρισης νατρίου¹⁹. Τέλος η ET-1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμβρυϊκή ανάπτυξη μέσω τόσο των ETA όσο και των ETB υποδοχέων²⁰.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2°

Η ενδοθηλίνη ως μέσο θεραπευτικής παρέμβασης

Οι πειραματικές και προκλινικές μελέτες που απέδειξαν τις ισχυρές αγγειοσυσπαστικές, αυξητικές και προφλεγμονώδεις ιδιότητες της ET-1, ανέδειξαν τον πιθανό θεραπευτικό ρόλο των ανταγωνιστών της σε μια πληθώρα καρδιαγγειακών και μη παθήσεων. Ιδιαίτερα, ασθενείς που πάσχουν από παθήσεις όπως η πνευμονική υπέρταση, η καρδιακή ανεπάρκεια, η αρτηριακή υπέρταση, η νεφρική δυσλειτουργία, η αθηροσκλήρυνση είναι δυνατό να επωφεληθούν από μια τέτοια παρέμβαση.

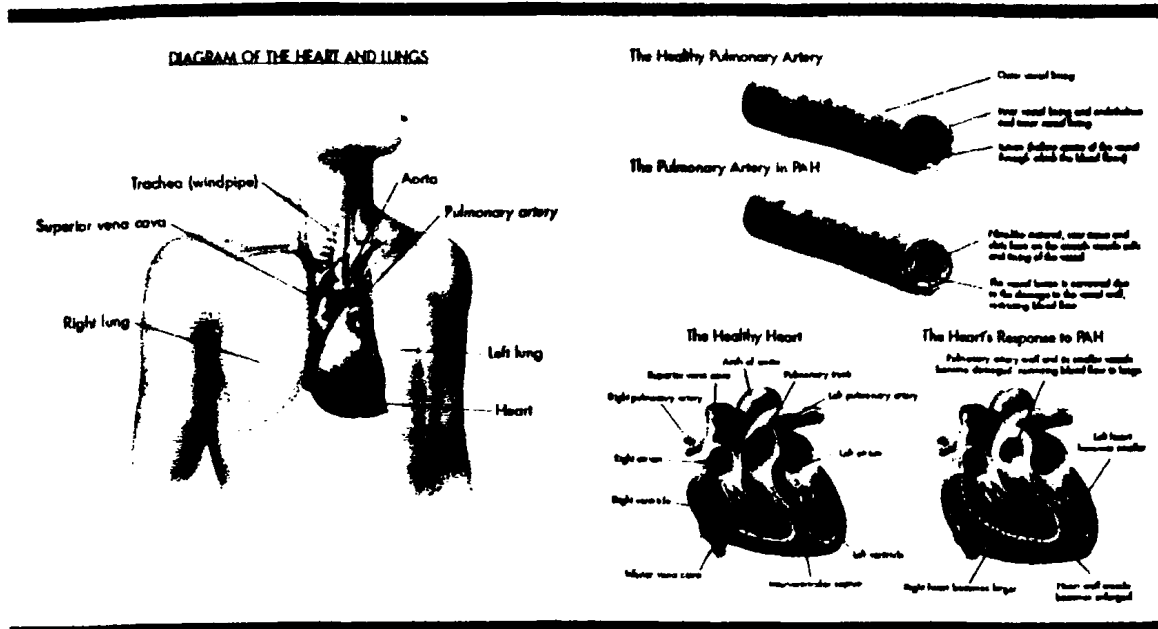
2.1. ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ ΚΑΙ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ

Η πνευμονική υπέρταση είναι μια παθολογική κατάσταση που χαρακτηρίζεται από παρατεταμένη αύξηση της πίεσης στην πνευμονική αρτηρία και ορίζεται ως η αύξηση της μέσης πνευμονικής πίεσης πάνω από 25mmHg σε ηρεμία ή πάνω 30mmHg στην άσκηση.

Προκαλείται από προοδευτική εξάλειψη του πνευμονικού αγγειακού στρώματος. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε αυξανόμενη δύσπνοια προσπαθείας, αίσθημα κοπώσεως, και τελικά στη δημιουργία δεξιάς καρδιακής ανεπάρκειας²¹.

Η πνευμονική υπέρταση ταξινομείται σύμφωνα με ανατομικά ή αιτιολογικά κριτήρια. Η ταξινόμηση αυτή βοηθά στην καλύτερη επιλογή της θεραπείας.





Εικ. 7 Διάγραμμα που απεικονίζει τις αλλαγές που υφίστανται η καρδιά και η πνευμονική αρτηρία στην πνευμονική υπέρταση.

2.1.1. ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ-ΒΕΝΕΤΙΑ 2003.

1. ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

1.1 Ιδιοπαθής

1.2 Οικογενής

1.3 Σχετιζόμενη με

1.3.1 Παθήσεις του συνδετικού ιστού

1.3.2 Διαφυγή αίματος από τη συστηματική προς τη μικρή κυκλοφορία

1.3.3 Πυλαία υπέρταση

1.3.4 Λοίμωξη από HIV



- 1.3.5 Φάρμακα και τοξίνες
- 1.3.6 Άλλες αιτίες (δυσλειτουργία του θυρεοειδούς, σπληνεκτομή, κληρονομική αιμορραγική τηλαγγειεκτασία, νόσος του Gaucher, παθήσεις του μυελού, διαταραχές στην αποθήκευση του γλυκογόνου, αιμοσφαιρινοπάθειες
- 1.4 Σχετιζόμενη με σημαντική συμμετοχή φλεβών ή τριχοειδών
 - 1.4.1 Αποφρακτική φλεβική πνευμονοπάθεια
 - 1.4.2 Πνευμονικά τριχοειδικά αιμαγγειώματα
- 1.5 Εμμένουσα πνευμονική υπέρταση των νεογνών
- 2 Πνευμονική υπέρταση σχετιζόμενη με παθήσεις της αριστερής καρδιάς
 - 2.1 Παθήσεις των αριστερών κοιλοτήτων της καρδιάς
 - 2.2 Παθήσεις των βαλβίδων της αριστερής καρδιάς
- 3 Πνευμονική υπέρταση σχετιζόμενη με πνευμονικές αναπνευστικές παθήσεις ή/και υποξία
 - 3.1 Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια
 - 3.2 Διάμεση πνευμονοπάθεια
 - 3.3 Σύνδρομο άπνοιας ύπνου
 - 3.4 Παθήσεις των κυψελίδων
 - 3.5 Χρόνια έκθεση σε υψηλό υψόμετρο
 - 3.6 Ανωμαλίες ανάπτυξης
- 4 Πνευμονική υπέρταση από χρόνια θρομβοεμβολική νόσο
 - 4.1 Θρομβοεμβολική απόφραξη των εγγύς πνευμονικών αρτηριών
 - 4.2 Θρομβοεμβολική απόφραξη των άπω πνευμονικών αρτηριών
 - 4.3 Μη θρομβωτική πνευμονική εμβολή (από όγκο, παρασιτικές κύστεις, ξένο σώμα)
- 5 Διάφορες
 - Σαρκοείδωση, Ιστιοκύτωση Χ, Λεμφαγγειωμάτωση, Συμπύση των πνευμονικών αγγείων (λεμφαδενοπάθεια, όγκος, ίνωση του διαφράγματος)

Τα συμπτώματα της πνευμονικής υπέρτασης είναι μη ειδικά με ποιο συχνό τη δύσπνοια, ακόμα και κατά την εκτέλεση καθημερινών δραστηριοτήτων.

Οι βλάβες της πνευμονικής υπέρτασης έχουν κοινά χαρακτηριστικά τόσο



στην πρωτοπαθή όσο και στις δευτεροπαθείς μορφές της.

Συγκεκριμένα, όλες περιλαμβάνουν *in situ* θρόμβωση, υπερτροφία των λείων μυϊκών ινών και χαρακτηριστικές βλάβες *plexiform*.

Η βλάβη *plexiform* δημιουργείται από μια αγγειακή βλάβη που προκαλείται από τη θρομβοξάνη και την ενδοθηλίνη, καθώς και από την απουσία ικανών NO και προστακυκλίνης²¹.

Η αγγειακή βλάβη είναι το αποτέλεσμα μιας προϋπάρχουσας παθολογικής κατάστασης ή και μιας γενετικής προδιάθεσης όπως μια μετάλλαξη στο γονίδιο *BMPR2*.

Η Doppler ηχοκαρδιογραφία, σε συνδυασμό με την κλινική εκτίμηση, την απλή ακτινογραφία θώρακος, θέτουν την κλινική υποψία, η επιβεβαίωση, όμως, της διάγνωσης τίθεται με την απ'ευθείας μέτρηση της πίεσης της πνευμονικής αρτηρίας με δεξιό καθετηριασμό.

Η πνευμονική υπέρταση είναι μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται από φτωχή πρόγνωση, παρά την εφαρμοζόμενη θεραπεία με οξυγόνο, διουρητικά, διγοξίνη και αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες. Μέχρι πρόσφατα, ο μόνος παράγοντας που είχε λάβει έγκριση για την θεραπεία της σοβαρής πνευμονικής υπέρτασης (στάδιο III και IV) ήταν η εποπροστενόλη, η οποία χορηγείται με συνεχή ενδοφλέβια έγχυση μέσω ενός ενσωματωμένου καθετήρα. Κατά συνέπεια, η χορήγησή της σχετίζεται με κινδύνους σοβαρών επιπλοκών (λοιμώξεις ή θρομβώσεις που σχετίζονται με τον καθετήρα).



2.2. Ανταγωνιστές της ενδοθηλίνης και πνευμονική υπέρταση

Η πνευμονική υπέρταση σχετίζεται με δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ικανότητας αγγειοδιαστολής, την παρατεταμένη αγγειοσύσπασση και την ενεργοποίηση του συστήματος της ενδοθηλίνης ²². Ο ρόλος της ET-1 στην παθοφυσιολογία της πνευμονικής υπέρτασης υποστηρίζεται από πολλές μελέτες ^{23,24} και αυτά τα ευρήματα οδήγησαν στην εύλογη χρησιμοποίηση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 στη θεραπεία της.

Το 2001 μια πρώιμη τυχαιοποιημένη μελέτη εξέτασε τις επιδράσεις του Bosentan στην ικανότητα άσκησης, στις καρδιοπνευμονικές αιμοδυναμικές παραμέτρους, καθώς και στην ασφάλεια και ανεκτικότητα του φαρμάκου σε 32 ασθενείς. Το Bosentan βελτίωσε την ικανότητα άσκησης, όπως φάνηκε από τη αύξηση της απόστασης που κάλυπταν οι ασθενείς σε διάρκεια 6 λεπτών (six minute walking distance). Επιπλέον, εννιά από τους 21 ασθενείς που έλαβαν το φάρμακο βελτίωσαν το λειτουργικό στάδιο κατά WHO από III σε II, ενώ στην ομάδα ελέγχου μόλις ένας από τους 11 ασθενείς κατάφερε κάτι ανάλογο ²⁵.

Η διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη BREATHE-1 (Bosentan Randomised trial of Endothelin receptor Antagonist Therapy for pulmonary Hypertension) που ακολούθησε επιβεβαίωσε τα πρώτα ενθαρρυντικά αποτελέσματα ²⁶. Σε αυτή τη μελέτη συμμετείχαν 213 ασθενείς με πνευμονική υπέρταση οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν στη λήψη Bosentan δύο φορές ημερησίως σε δόσεις των 125 ή 250 mg. Το Bosentan βελτίωσε την ικανότητα άσκησης και το στάδιο κατά WHO, ενώ παρέτεινε και το χρόνο μέχρι την επιδείνωση της ασθένειας. Όμως παρά το γεγονός ότι ήταν καλά ανεκτό οδήγησε σε αύξηση των ηπατικών ενζύμων κατά 5% στην ομάδα των 125 mg και κατά 14% σε αυτή των 250mg.

Με κριτήριο τα αποτελέσματα των δύο προηγούμενων μελετών το Bosentan έλαβε έγκριση για τη θεραπεία ασθενών με πνευμονική υπέρταση σταδίου III κατά WHO. Επιπλέον, μια follow-up μελέτη ενός χρόνου δείχνει παρατεταμένα οφέλη στην ικανότητα άσκησης και τις αιμοδυναμικές παραμέτρους ²⁷.

Τελευταία δοκιμάζεται ένας εκλεκτικός ανταγωνιστής των υποδοχέων A της ET-1, το sitaxsentan για τη θεραπεία της πνευμονικής υπέρτασης, μετά τα πρώτα ενθαρρυντικά αποτελέσματα από τη μελέτη STRIDE-1 (sitaxsentan to relieve impaired exercise in pulmonary arterial hypertension) ²⁸



Παρενέργειες:

Η χρησιμοποίηση του Bosentan στην κλινική πράξη εγείρει κάποια ζητήματα σχετικά με την ασφάλειά του. Η πιο σοβαρή παρενέργειά του είναι μια δοσοεξαρτώμενη ηπατοτοξικότητα. Συμβαίνει με αύξηση των αμινοτρανσφερασών, δεν παρουσιάζει συμπτώματα και παρατηρείται, συνήθως όταν χρησιμοποιούνται οι υψηλότερες δόσεις του φαρμάκου.

Η χορήγησή του αντενδείκνυται όταν σε ασθενείς που λαμβάνουν γλιβενκλαμίδα και κυκλοσπορίνη Α. Άλλες παρενέργειες είναι η κεφαλαλγία, το ερύθημα του προσώπου (flushing) και η υπόταση και είναι, συνήθως ήπιας έως μέτριας βαρύτητας. Έχει, επίσης αναφερθεί μείωση της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης. Επιπλέον, πειραματικές μελέτες έδειξαν κάποια τοξικότητα στο αναπαραγωγικό σύστημα, που περιλαμβάνει τερατογένεση και εμβρυοτοξικότητα. Για τους λόγους αυτούς η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ελέγχου των Φαρμάκων συνιστά συνεχείς ελέγχους.

Παρά τα ζητήματα που προκύπτουν σχετικά με την ασφάλεια του φαρμάκου, τα οφέλη που προκύπτουν από τις κλινικές μελέτες, σε συνδυασμό με την ευκολία λήψης του φαρμάκου (125mg δύο φορές ημερησίως από του στόματος) οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το Bosentan είναι μια πολύ χρήσιμη θεραπευτική επιλογή για την κατηγορία III κατά WHO της πνευμονικής υπέρτασης, συγκριτικά καλύτερη από την ενδοφλέβια χορήγηση εποπροστενόλης.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3°

ΝΕΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η πνευμονική υπέρταση δεν είναι το μόνο πεδίο στο οποίο μελετήθηκαν οι ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1.

Σήμερα, υπάρχουν ενδιαφέρουσες προοπτικές για ενδεχόμενα οφέλη από τη χρησιμοποίηση των ουσιών αυτών στην αρτηριακή υπέρταση και τη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Ακόμη, μελέτες σε πειραματόζωα δείχνουν ότι οι ανταγωνιστές της ενδοθηλίνης έχουν θέση και στη θεραπεία της αθηροσκλήρυνσης.

3.1. ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Ο ρόλος της ενδοθηλίνης στην αρτηριακή υπέρταση έχει εξετασθεί από ένα μεγάλο αριθμό μελετών. Διάφορα πειραματικά πρότυπα συσχετίζονται με αυξημένη δραστηριότητα της ET-1 στην αρτηριακή υπέρταση, ιδιαίτερα δε αυτά της αλατοεξαρτώμενης (salt-sensitive) και της μειωμένης ρενίνης²⁹.

Στοιχεία από διάφορες ομάδες υπερτασικών δείχνουν αυξημένη δραστηριότητα ενδοθηλίνης, όπως φαίνεται από τη μεγαλύτερη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας μετά από έγχυση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ενδοθηλίνης σε υπερτασικούς ασθενείς σε σύγκριση με υγιείς εθελοντές^{30,31}.

Επίσης, οι μαύροι υπερτασικοί, που χαρακτηρίζονται από χαμηλά επίπεδα ρενίνης, έχει δειχθεί ότι έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις ET-1 στο πλάσμα σε σύγκριση με λευκούς υπερτασικούς. Μάλιστα, έχουν αγγειοσυσπαστικότητα που εξαρτάται περισσότερο από την αλληλεπίδραση της ενδοθηλίνης με τους ETA υποδοχείς^{32,33}



Μια από τις πρώτες μελέτες για την εκτίμηση της επίδρασης της συστηματικής ενδοθηλίνης δημοσιεύθηκε το 1998: σε 293 ασθενείς με υπέρταση συγκρίθηκαν οι δράσεις του Bosentan και της εναλαπρίλης.

Το Bosentan μείωσε σημαντικά τη διαστολική πίεση και οι δράσεις του ήταν συγκρίσιμες με της εναλαπρίλης. Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκε αναπηδῶσα ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης ή του συμπαθητικού νευρικού συστήματος³⁴.

Σε μια άλλη μελέτη που διεξήχθη με τον εκλεκτικό ανταγωνιστή των ETA υποδοχέων darusentan, μειώθηκε τόσο η συστολική όσο και η διαστολική πίεση των ασθενών σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου³⁵.

Πρόσφατα, ένας νέος ανταγωνιστής, που αναστέλλει τη δράση τόσο την αγγειοτενσίνη (AT1) όσο και των ETA υποδοχέων της ET-1, μείωσε την αρτηριακή πίεση σε πειραματικό πρότυπο υπέρτασης³⁶.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα και παρά το γεγονός ότι ο ανταγωνισμός των υποδοχέων της ενδοθηλίνης είναι απίθανο να θεωρηθεί θεραπεία πρώτης εκλογής, θα μπορούσε να έχει σημαντικό ρόλο στο μέλλον στη θεραπεία υψηλού κινδύνου ασθενών, όπως οι μαύροι υπερτασικοί ή ασθενείς με εμμένουσα υπέρταση, μετά από ακριβή εκτίμηση του κινδύνου και της ωφέλειας μετά από μια τέτοια θεραπεία.

3.2. ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Ένας μεγάλος αριθμός πειραματικών μελετών έχει δείξει την συσχέτιση της ET-1 στην παθοφυσιολογία της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων φαίνεται ότι βελτιώνουν τη νεφρική λειτουργία σε πειραματικά πρότυπα νεφρικής νόσου^{3,37}.

Τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης τυχαιοποιημένης μελέτης σε υπερτασικούς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια ανέδειξε τα πιθανά οφέλη που μπορούν να επιτευχθούν από τη χρήση των ανταγωνιστών των υποδοχέων



της ET-1.

Η μελέτη αυτή συνέκρινε τις συνέπειες από τη χρήση ανταγωνιστών ETA, ETB, καθώς και μικτών ETA/ETB των υποδοχέων της ET-1 σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και σε υγιείς εθελοντές.

Στους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια ο εκλεκτικός ανταγωνιστής των υποδοχέων ETA της ET-1, BQ-123 μείωσε τη συστηματική αρτηριακή πίεση πάνω από 10 mmHg σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, αύξησε τη νεφρική αιματική ροή και μείωσε τις νεφρικές αγγειακές αντιστάσεις ¹⁵.

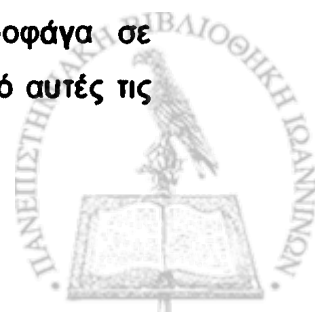
Ένα άλλο πιθανό όφελος από τη χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 στη νεφρική ανεπάρκεια σχετίζεται με την πιθανή συμβολή της ET-1 στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων των παραθυρεοειδών *in vivo*, που μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού. Στοιχεία από πειραματικές μελέτες δείχνουν ότι το Bosentan είναι ικανό να αναστείλει την τον πολλαπλασιασμό των παραθυρεοειδών κυττάρων σε επίμυες ³⁸.

Δεδομένης της ανάγκης για καλύτερες και περισσότερο αποτελεσματικές στρατηγικές για την πρόληψη των συνεπειών του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, όπως της νεφρικής οστεοδυστροφίας, ο ανταγωνισμός του συστήματος της ενδοθηλίνης μπορεί να προσφέρει πρόσθετα οφέλη σε αυτή την κατηγορία ασθενών. Επιπλέον, η τερατογένεση μάλλον δεν αποτελεί πρόβλημα σε αυτή την κατηγορία των ασθενών.

3.3. ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ-ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ

Η ET-1 φαίνεται να λαμβάνει μέρος από τα πρώτα στάδια της αθηροσκλήρυνσης. Έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα ET-1 στο πλάσμα σε ασθενείς με καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου όπως η υπερχοληστερολαιμία, η υπέρταση και ο σακχαρώδης διαβήτης ³⁹.

Ακόμη, βρέθηκε αυξημένη έκφραση ET-1 και μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1 σε ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα και μακροφάγα σε διαφορετικά στάδια της εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας ⁴⁰. Υπό αυτές τις συνθήκες η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου εμφανίζεται από νωρίς.



Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία χαρακτηρίζεται από μια ανισόρροπη σχέση μεταξύ αγγειοσυσπαστικών (προφλεγμονωδών) και αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, που οδηγεί σε πολλαπλασιασμό των κυττάρων, φλεγμονή και τελικά σε αγγειακή αναδιαμόρφωση. Πιστεύεται ότι αποτελεί το πρώτο βήμα στην πρόοδο της αθηροσκλήρυνσης.

Σε ασθενείς με εγκατεστημένη αθηροσκλήρυνση έχει βρεθεί ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων της ET-1 στο πλάσμα και τον αριθμό των αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων. Μάλιστα, τόσο οι ETA όσο και οι ETB υποδοχείς έχουν υψηλή έκφραση στα λεία μυϊκά και στα αφρώδη κύτταρα των αθηροσκληρυντικών πλακών ^{41,42}.

Σε πειραματικά πρότυπα υπερχοληστερολαιμίας και αθηροσκλήρυνσης βρέθηκε ότι η χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 αυξάνει τη συγκέντρωση της συνθάσης του NO και βελτιώνει την αγγειοδιαστολή από το NO, ενώ μειώνει την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας ^{43,44}.

Τα σημερινά στοιχεία σε ασθενείς με αθηρωμάτωση δείχνουν αυξημένο αγγειακό τόνο από τη δράση της ET-1, ενώ η χρήση μικτών ETA/ETB ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 προκαλεί παρατεταμένη αγγειοδιαστολή ⁴⁵.

Έχει επίσης αποδειχθεί ότι η δράση της ET-1 μέσω των ETA υποδοχέων συμβάλλει στη διατήρηση του βασικού αγγειοσυσπαστικού τόνου στα στεφανιαία αγγεία και συμβάλλει στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου ⁴⁶.

Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν τον ρόλο που πιθανά διαδραματίζει η ET-1 στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και την πρόοδο της αθηροσκλήρυνσης και καταδεικνύουν μια πιθανή θεραπευτική δράση των ανταγωνιστών της ET-1.



ΚΕΦΑΛΑΙΟΙ 4°

ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΖΗΤΗΜΑΤΑ-ΛΟΓΟΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗΣ ΧΡΗΣΗΣ

Αμέσως μετά την ανακάλυψή της έγινε φανερό ότι η ET-1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε ένα σημαντικό αριθμό καρδιαγγειακών παθήσεων και για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ένας σημαντικός αριθμός κλινικών δοκιμών.

Παρά το γεγονός αυτό, αρκετά χρόνια μετά, η χρήση της ομάδας αυτής των φαρμάκων περιορίζεται στο Bosentan για την πνευμονική υπέρταση.

Ποιοι είναι οι λόγοι για αυτή την περιορισμένη χρήση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1;

4.1. ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ

Θα πρέπει να εστιάσουμε σε δύο σημεία: τη *δραστικότητα* και την *ασφάλεια*.

Αρχικά, με την ελπίδα καλύτερων αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν σχετικά υψηλές δόσεις ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1. Το γεγονός αυτό αποτέλεσε σημείο αντιπαράθεσης για το αν οι υψηλές δόσεις οδήγησαν σε χειρότερα αποτελέσματα.

Πράγματι, οι υψηλές δόσεις συνδέθηκαν με ποσοστό ανεπιθύμητων ενεργειών, όπως η ηπατική τοξικότητα και η τάση για κατακράτηση υγρών με τη χρήση του Bosentan.

Πιθανολογείται ότι η πρόβλεψη αυτών των παρενεργειών θα μπορούσε να οδηγήσει σε καλύτερη κλινική αντιμετώπιση (δηλαδή επιθετικότερη διουρητική θεραπεία) και κατά συνέπεια ασφαλέστερη και καλύτερη χρήση του φαρμάκου.



4.2. ΕΙΔΟΣ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

Η χρησιμοποίηση εκλεκτικών ανταγωνιστών για τους ETA υποδοχείς μόνο ή χρήση μικτών ETA/ETB ανταγωνιστών αποτέλεσε και αποτελεί μέγιστο σημείο αντιπαράθεσης.

Οι διαφορετικές δράσεις της ET-1 μέσω των ETA και ETB υποδοχέων στα αγγεία και ο ρόλος που φαίνεται να διαδραματίζουν οι ETB υποδοχείς στην ισορροπία άλατος και ύδατος, στην ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, και στην κάθαρση της ET-1, δείχνουν ότι η χρήση εκλεκτικών A ανταγωνιστών είναι ίσως η καλύτερη προσέγγιση.

Όμως σε διαφορετικές παθολογικές καταστάσεις αυτοί οι δύο τύποι υποδοχέων φαίνεται να ρυθμίζονται και να εκφράζονται διαφορετικά, όπως φαίνεται από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε αριστερή κοιλιακή δυσλειτουργία και αθηρωμάτωση^{47,48}.

Συνυπολογίζοντας τις παραπάνω ενδείξεις φαίνεται η πολυπλοκότητα του ρόλου που διαδραματίζει η ET-1 στο καρδιαγγειακό σύστημα, και καταδεικνύουν τη δυσκολία που αντιμετωπίζουμε ως προς το σε ποιον υποδοχέα να στοχεύσουμε.

Έτσι, γίνεται φανερό ότι χρειάζονται περισσότερες μελέτες για την ανάδειξη των ακριβών ρόλων που διαδραματίζουν οι υποδοχείς της ET-1.

4.3. Η ΞΕΧΩΡΙΣΤΗ ΦΥΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ:

Ο ανταγωνισμός των υποδοχέων της ET-1 είναι αποτελεσματικός στην πνευμονική υπέρταση, μια σοβαρή αλλά σπάνια ασθένεια, ενώ η συνολική επίδραση του σε πιο κοινές καρδιαγγειακές ασθένειες είναι μέτρια, παρά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα πειραματικών μελετών.



Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι οι αιμοδυναμικές παράμετροι δεν συνεπάγονται κλινική βελτίωση και πραγματικά οφέλη για τους ασθενείς. Ενώ ότι ξέρουμε για μια ασθένεια δεν μεταφράζεται αυτόματα σε μια άλλη.

Πράγματι τα φτωχά αποτελέσματα που παρατηρούνται στη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια δε σημαίνει ότι δε θα προκύψουν οφέλη από τη χρήση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 σε άλλες ασθένειες.

4.4. ΤΕΡΑΤΟΓΕΝΕΣΗ:

Παρά το γεγονός ότι τα περισσότερα στοιχεία αφορούν το Bosentan, είναι πολύ πιθανό να αποτελεί παρενέργεια όλης της κατηγορίας.

Μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι η τερατογένεση είναι ευθέως ανάλογη με τη δόση που χρησιμοποιείται και αφορά δυσμορφίες του κεφαλιού, του στόματος, του προσώπου, των μεγάλων αγγείων, και παρατηρούνται, κυρίως, κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης.

Η παρενέργεια αυτή μειώνει την κλινική ισχύ των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 και απαιτεί προσεκτική παρακολούθηση της θεραπείας.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5°

ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

5.1. ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΚΑΙ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ

Η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια είναι μια πολύ σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας όσον αφορά τις παθήσεις του καρδιαγγειακού. Στις περισσότερες περιπτώσεις χαρακτηρίζεται από χαμηλή καρδιακή παροχή, που οδηγεί προοδευτικά σε αιμοδυναμικές και νευροορμονικές προσαρμογές, όπως η περιφερική αγγειοσύσπασση, η κατακράτηση άλατος και ύδατος, και η ενεργοποίηση του συμπαθητικού και του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης⁴⁹.

Το σύστημα της ενδοθηλίνης ενεργοποιείται στην καρδιακή ανεπάρκεια, όπως και άλλα συστήματα. Οι συγκεντρώσεις της bigET-1 και της ET-1 στο πλάσμα έχουν συνδεθεί με κλινικές και αιμοδυναμικές μετρήσεις ιδιαίτερης σοβαρότητας για τους ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια και έχουν σχέση αντιστρόφως ανάλογη με την πρόγνωση αυτών των ασθενών⁵⁰⁻⁵³.

Επιπρόσθετα ενώ σε μια φυσιολογική καρδιά η ET-1 φαίνεται να ασκεί θετική ινότροπο δράση, σε μια καρδιά με ανεπάρκεια η χορήγηση ανταγωνιστών των υποδοχέων ETA της ET-1 έχει αναφερθεί ότι αυξάνει τη συσταλτικότητά της, δείχνοντας ότι σε μια τέτοια περίπτωση η ET-1 έχει αρνητική ινότροπο δράση⁵⁴.

Ένας μεγάλος αριθμός κλινικών μελετών για καρδιακή ανεπάρκεια κατηγορίας III κατά WHO έχουν ολοκληρωθεί τόσο για οξεία όσο και χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Ενώ λοιπόν οι πρώτες πειραματικές μελέτες και ιδιαίτερα όσες αφορούν την οξεία καρδιακή ανεπάρκεια είχαν ευνοϊκά αποτελέσματα⁵⁵⁻⁵⁷, οι έως τώρα πληροφορίες δε δείχνουν ιδιαίτερα θετικά αποτελέσματα από τη χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ενδοθηλίνης σε αυτές τις καταστάσεις.



Κλινικές μελέτες για ρξεία και χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια:

Η μελέτη RITZ (Randomized Intravenous TeZosentan) αποτελείται από μια ομάδα τεσσάρων διπλών τυφλών μελετών για την αξιολόγηση της δράσης του μικτού ανταγωνιστή των υποδοχέων ETA και ETB της ET-1 στην οξεία καρδιακή ανεπάρκεια. Εκτός από την RITZ-2 στην οποία το tezosentan σε δόση 50 mg βελτίωσε σημαντικά τους καρδιακούς δείκτες και μείωσε την πίεση στα πνευμονικά τριχοειδή με καλό προφίλ ασφαλείας ⁵⁸ οι άλλες απέτυχαν να δείξουν θετικά αποτελέσματα από τη χορήγηση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ενδοθηλίνης.

Όσον αφορά τη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια η πρώτη μελέτη φάσης III που αναφέρθηκε ήταν η ENCOR (ENrasentan Clinical Outcomes Randomised) στην οποία χρησιμοποιήθηκε ο μικτός ανταγωνιστής enrasentan. Η θεραπεία με enrasentan δε βελτίωσε την κλινική κατάσταση αυτών των ασθενών.

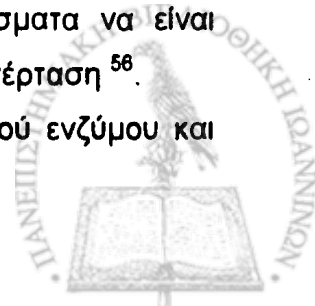
Αντίθετα συσχετίστηκε με τρεις φορές μεγαλύτερο χρόνο νοσηλείας, μια τάση για μεγαλύτερη θνητότητα, ενώ το φάρμακο δεν ήταν καλά ανεκτό.

Οι μελέτες ENABLE (Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering cardiac Events) και EARTH (Endothelin Antagonist Receptor Trial in Heart failure) που ακολούθησαν είχαν επίσης απογοητευτικά αποτελέσματα.

Κατά συνέπεια, το ενδιαφέρον για τη χρήση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ενδοθηλίνης στην καρδιακή ανεπάρκεια έχει μειωθεί. Τα θετικά αποτελέσματα της μελέτης RITZ-2 εξακολουθούν να αφήνουν υποσχέσεις για το θεραπευτικό ρόλο της ομάδας αυτής των φαρμάκων στην οξεία καρδιακή ανεπάρκεια όταν αποσαφηνιστεί α) η επιλογή της καταλληλότερης χρονικά στιγμής για παρέμβαση και β) η κατάλληλη δόση.

Μελέτες σε πειραματόζωα δείχνουν ότι η πρώιμη χορήγηση μικτού ανταγωνιστή των υποδοχέων της ET-1 μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου οδηγεί σε αντίθετα και φτωχά αποτελέσματα ⁵⁹. Μάλιστα, πρόσφατες μελέτες σε πειραματικά πρότυπα χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας όπου χορηγήθηκε ανταγωνιστής των υποδοχέων ETA οδήγησε σε περαιτέρω ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης, με αποτέλεσμα κατακράτηση νατρίου, χωρίς να προσφέρει αληθινά κέρδη ⁶⁰. Ίσως τα αποτελέσματα να είναι καλύτερα με την επιλογή ασθενών με βαρύτερη πνευμονική υπέρταση ⁵⁸.

Εάν η ταυτόχρονη χορήγηση αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου και



αναστολέων των ενδοπεπτιδασών προσφέρουν καλύτερα αποτελέσματα είναι κάτι που απομένει να αποδειχθεί.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εμφάνιση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 προσέφερε μια καινούρια και ενδιαφέρουσα πιθανή θεραπευτική επιλογή για ασθενείς με καρδιαγγειακές παθήσεις.

Η ομάδα αυτή των φαρμάκων εκπλήρωσε τις υποσχέσεις της όσον αφορά τη θεραπεία της πνευμονικής υπέρτασης, αλλά απέτυχε να κάνει το ίδιο και για τους ασθενείς που πάσχουν από καρδιακή ανεπάρκεια.

- Εάν η συμπληρωματική θεραπεία με αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου (ACE) και αναστολείς των ενδοπεπτιδασών της ενδοθηλίνης θα είναι πιο αποτελεσματική μένει να αποδειχθεί.

Αναμφίβολα, όμως, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, η υπέρταση, και η αθηρωμάτωση αποτελούν νέα ερευνητικά πεδία για μελλοντικές έρευνες.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6°

ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΦΑΣΗ ΤΟΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

6.1. ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΙ ΠΟΛΥΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

Η διακοπή της κυκλοφορίας του αίματος σε ένα στεφανιαίο αγγείο συνεπάγεται μέσα σε 2 με 3 λεπτά τη μετατόπιση του δυναμικού ηρεμίας των μυοκαρδιακών κυττάρων που ισχαιμούν από τα -85 mV στα -60 mV. Η αρχική αυτή πτώση στο διαστολικό δυναμικό συνοδεύεται από μικρή αύξηση στη διεγερσιμότητα των κυττάρων. Με την περαιτέρω πτώση και την παράλληλη αύξηση του εξωκυττάρου καλίου $[K^+]_o$, το μέγεθος και ο μέγιστος ρυθμός της εκπόλωσης κατά τη διάρκεια του δυναμικού ενεργείας μειώνονται, και η διεγερσιμότητα πέφτει. Έτσι, μετά από 2 λεπτά ισχαιμίας, η ταχύτητα αγωγής μειώνεται ⁶¹. Η ενεργοποίηση των κοιλιών, η οποία φυσιολογικά ολοκληρώνεται σε 80 με 100 ms, απαιτεί τώρα 200 με 300 ms.

Η καθυστέρηση στην αγωγή είναι ιδιαίτερα εμφανής στις επικαρδιακές περιοχές, ενώ η ενεργοποίηση των υπενδοκαρδιακών περιοχών παραμένει σχετικά φυσιολογική. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε μια σχετικά υψηλότερη μερική τάση οξυγόνου υπενδοκάρδια, χάρη στην άμεση διάχυση από την καρδιακή κοιλότητα ⁶².

Αρχικά, η διάρκεια του δυναμικού ενεργείας (ΔΔΕ) είναι ελαφρά παρατεταμένη ^{63,64}, αλλά γρήγορα βραχύνεται. Τυπική για την ισχαιμία είναι η μεγάλη απόλυτη ανερέθιστη περίοδος (ΑΑΠ), που ακολουθεί τη μειωμένη ΔΔΕ. Έτσι, η ΑΑΠ και η ΔΔΕ μεταβάλλονται προς αντίθετες κατευθύνσεις. Ακολουθεί Πλήρης ανερεθιστότητα. Εντούτοις, μετά από 15 με 20 λεπτά, κύτταρα στο μέσον του εμφράγματος μπορεί να ανακτήσουν προσωρινά τη διεγερσιμότητά τους, αν και η ταχύτητα μεγιστοποίησης και το μέγεθος του δυναμικού ενεργείας (ΔΕ) παραμένουν ελαττωμένα. Αυτές οι αλλαγές σχετίζονται με μια μαζική απελευθέρωση κατεχολαμινών ⁶⁵, με το άνοιγμα της



παράπλευρης κυκλοφορίας, και με μια μικρή μείωση του $[K^+]_o$. Μετά από 30 λεπτά ισχαιμίας, τα κύτταρα εκπολώνονται περαιτέρω και η αγωγή αναστέλλεται πλήρως⁶¹. Ωστόσο υπάρχουν άλλες μελέτες που αναφέρουν ότι η σημαντική επιμήκυνση του ΔΔΕ της αριστεράς κοιλίας είναι ενδεικτική ισχαιμίας του μυοκαρδίου^{66,67}. Επιπλέον της ΔΔΕ, μια σημαντική διαφοροποίηση στη διακύμανση κάθε παλμού (beat-to-beat variability) είναι προαρρυθμική. Αυτές οι εναλλαγές στη διάρκεια των Μονοφασικών Δυναμικών Ενέργειας είναι τυπική ισχαιμίας και έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη ισχαιμικών ταχυαρρυθμιών^{66,68,69}.

Όλες αυτές οι μεταβολές δεν συμβαίνουν ομοιογενώς στο κοιλιακό μυοκάρδιο, και η ανομοιογένεια είναι ιδιαίτερα εμφανής στην περιεμφραγματική ζώνη (borderzone). Αυτή η ζώνη περιορίζει το έμφρακτο προς όλες τις κατευθύνσεις, δηλαδή τόσο επιφανειακά όσο και διατοιχωματικά. Η ύπαρξη διαφορών είναι αναμενόμενη: διαφορές στη ΔΔΕ υπάρχουν και σε φυσιολογικές συνθήκες, μεταξύ επι- ενδοκαρδίου⁷⁰, μεταξύ κορυφής, ελεύθερου τοιχώματος και μεσοκοιλιακού διαφράγματος⁷¹, και μεταξύ αριστερής και δεξιάς κοιλίας⁷². Ο διαχωρισμός μεταξύ ΔΔΕ και ΑΑΠ είναι λιγότερο σημαντικός ή και απών στην περι-εμφραγματική περιοχή: εδώ και οι δύο μειώνονται. Και στις δύο πλευρές του borderzone η διεγερσιμότητα μπορεί να αυξηθεί. Ο ουδός πυροδότησης μειώνεται στην ισχαιμική πλευρά εξαιτίας της αύξησης του $[K^+]_o$, και στη μη ισχαιμική εξαιτίας της εκπόλωσης που προκαλείται από το ρεύμα βλάβης^{61,73}. Στο ενδοκαρδιακό borderzone, το ρεύμα βλάβης μπορεί να επηρεάσει το σύστημα Purkinje με τέτοιο τρόπο, ώστε ο προηγουμένως κεκαλυμμένος αυτοματισμός να γίνεται τώρα εμφανής. Το μέγιστο του ρεύματος βλάβης παρατηρείται όταν η ενεργοποίηση της ισχαιμικής ζώνης συμβαίνει τη στιγμή που η φυσιολογική ζώνη ήδη επαναπολώνεται⁷³.

Στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, όταν αυτό λαμβάνεται με άμεσο και ενισχυτικό του ρεύματος ηλεκτρόδιο να κοιτά την ισχαιμική περιοχή, η πτώση του δυναμικού ηρεμίας τα πρώτα λεπτά αντανάκλαται στην αρχική πτώση του διαστήματος TQ⁷⁴. Στο κλασικό ΗΚΓ, αυτό φαίνεται ως ανύψωση του ST διαστήματος. Η ενδογενοειδής απόκλιση αυξάνεται και το QRS διευρύνεται. Μετά από 5 λεπτά, το τμήμα ST ανυψώνεται κι άλλο εξαιτίας του βραχύτερου ΔΕ στην ισχαιμική περιοχή του μυοκαρδίου. Αργότερα, όταν η ενεργοποίηση

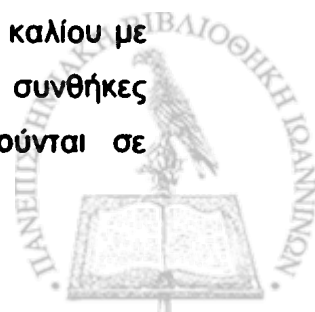


της ισχαιμικής περιοχής καθυστερείται σημαντικά, η ανύψωση του ST γίνεται ακόμη πιο έκδηλη και συνοδεύεται από ένα σημαντικά ανεστραμμένο κύμα T. Μετά από 8 με 15 λεπτά, η τοπική δραστηριότητα επανακάμπει προσωρινά και αυτό συνοδεύεται από διακυμάνσεις του κύματος T⁷⁵.

Η κύρια αιτία για την αύξηση του δυναμικού ηρεμίας στην ισχαιμία είναι η αύξηση του $[K^+]_o$ και η ταυτόχρονη ύπαρξη ενός εσώτροπου ρεύματος καλίου. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί για την αύξηση του $[K^+]_o$ περιλαμβάνουν την αυξημένη έξοδο καλίου, τη μειωμένη είσοδο καλίου και ως ένα βαθμό τη συρρίκνωση του εξωκυττάριου χώρου. Το εσώτροπο ρεύμα καλίου είναι υπεύθυνο για τη διατήρηση των συγκεντρώσεων καλίου στις δύο πλευρές της κυτταρικής μεμβράνης, και αντιπροσωπεύει την κινητήρια δύναμη για την προς τα έξω μετακίνηση καλίου.

Η ελάττωση στο μέγεθος και στην ταχύτητα επίτευξης του δυναμικού ενεργείας οφείλεται στη μείωση της προς τα μέσα μετακίνησης νατρίου και στην ταυτόχρονη αύξηση των εξωτρόπων ρευμάτων. Η αγωγιμότητα του νατρίου μειώνεται εξαιτίας της απενεργοποίησης των καναλιών νατρίου από την πτώση του δυναμικού ηρεμίας και από τη δράση στη πρωτεΐνη του διαύλου νατρίου των λιπαρών οξέων, του οξειδωτικού stress και της οξέωσης^{76,77}. Η προς τα έξω μεταφορά νατρίου μειώνεται περαιτέρω ένεκα της πτώσης της διαφοράς συγκέντρωσης, η οποία οφείλεται στην αύξηση του ενδοκυττάριου νατρίου $[Na^+]_i$, που προκαλείται από την αυξημένη παθητική εισροή και τη μειωμένη ενεργό μεταφορά προς τα έξω⁷⁸.

Οι αλλαγές στη ΔΔΕ συνίστανται σε αρχική παράταση, η οποία ακολουθείται από σημαντική βράχυνση. Η προσωρινή αρχική παράταση μπορεί εν μέρει να εξηγηθεί από την πτώση της τοπικής θερμοκρασίας ($>1^\circ\text{C}$)⁷⁹. Άλλες ερμηνείες συμπεριλαμβάνουν την αναστολή της ηλεκτρογεννητικής αντλίας ιόντων, την πτώση του I_{K1} ως συνέπεια της ενδοκυττάριας οξείδωσης, και την οξεία αναστολή του I_{to} ⁶³. Η βράχυνση της ΔΔΕ, που ακολουθεί και είναι πιο έντονη, προκαλείται από αύξηση της προς τα έξω μετακίνησης καλίου στο δυναμικό του plateau. Οι διάλυοι καλίου που εμπλέκονται δεν είναι οι διάλυοι που ενεργοποιούνται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, αλλά ειδικοί διάλυοι που παίζουν ρόλο μόνο στην ισχαιμία. Μεταφέρουν μεγάλα ποσά καλίου με τρόπο ανεξάρτητο του χρόνου και διεγείρεται η δράση τους σε συνθήκες φυσιολογικού ή αυξημένου $[K^+]_o$. Οι διάλυοι που ενεργοποιούνται σε



φυσιολογικές συνθήκες είναι σχετικά αδρανείς στην ισχαιμία. Μια δεύτερη πηγή φορτίων που προκαλεί βράχυνση της ΔΔΕ είναι οι ενεργοποιημένοι δίαυλοι χλωρίου, η δράση των οποίων προάγεται από τη διέγερση των β-υποδοχέων, το ωσμωτικό οίδημα, τη μηχανική διάταση, την προσθήκη ATP και την αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου.

Η βράχυνση της ΔΔΕ στο borderzone οφείλεται κυρίως στο ρεύμα βλάβης παρά σε μεταβολές στην αγωγιμότητα των ιόντων ⁸⁰.

Όσον αφορά στη διεγερσιμότητα κατά τη διάρκεια των πρώτων λεπτών της ισχαιμίας, αυτή αυξάνεται στο κέντρο της ισχαιμικής περιοχής. Ο ουδός πυροδότησης δε μεταβάλλεται, αλλά απαιτείται μικρότερο ρεύμα για να επιτευχθεί λόγω της εκπόλωσης της κυτταρικής μεμβράνης. Αργότερα, η διεγερσιμότητα βαθμιαία μειώνεται, εξαιτίας κυρίως της απενεργοποίησης των διαύλων νατρίου, λόγω της προαναφερθείσας εκπολώσεως. Αυτή η μείωση στη διεγερσιμότητα είναι πιο έντονη στις επικαρδιακές παρά στις ενδοκαρδιακές ίνες ⁸¹. Μερικά κύτταρα ανακτούν τη διεγερσιμότητά τους μετά από 15 λεπτά ισχαιμίας. Αυτό μπορεί να προκαλείται από υπερπόλωση, ως αποτέλεσμα της απομάκρυνσης του εξωκυττάριου καλίου από την παράπλευρη κυκλοφορία, και/ή της διέγερσης της αντλίας Na^+/K^+ λόγω της μαζικής απελευθέρωσης κατεχολαμινών ⁸² και της αύξησης του ενδοκυττάριου ασβεστίου ⁸³. Οι κατεχολαμίνες στα εκπολωμένα κύτταρα διευκολύνουν την πρόκληση δυναμικών ενεργείας μέσω ασβεστίου, αυξάνοντας την αγωγιμότητα ασβεστίου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης ⁸⁴. Η παράπλευρη κυκλοφορία δεν μπορεί να είναι ο μόνος λόγος για την ανάκτηση της διεγερσιμότητας, καθώς ο πειραματικός εμβολισμός αυτής δεν αποτρέπει την εμφάνιση του φαινομένου ⁸⁵. Άλλοι έχουν συνδέσει το φαινόμενο με μια αύξηση στην επιμήκη αντίσταση. Μετά από 30 λεπτά, μια νέα φάση απώλειας της διεγερσιμότητας ξεκινά, η οποία οφείλεται στη δευτερεύουσα αύξηση της απώλειας καλίου από τα κύτταρα, και στην ακόλουθη πτώση του ATP σε πολύ χαμηλά επίπεδα.

Σε αντίθεση με τη ΔΔΕ, η ΑΑΠ παρατείνεται στην ισχαιμική ζώνη. Αυτό οφείλεται στην καθυστέρηση ανάκαμψης από την απενεργοποίηση των διαύλων νατρίου, στην αναστολή των διαύλων νατρίου λόγω της οξειδωσης ⁷⁶, του LCAC, LPC ⁸⁶ και των ελεύθερων ριζών οξυγόνου ⁸⁷, και στην τοπική επίδραση του ανοίγματος διαύλων καλίου και χλωρίου.



Στην περιεμφραγματική περιοχή, τόσο η ΔΔΕ όσο και η ΑΑΠ βραχύνονται. Αυτό οφείλεται στην ύπαρξη του ρεύματος βλάβης. Αν και οι δίαυλοι νατρίου μπορεί να έχουν ελαφρώς ανασταλεί εξαιτίας μιας μικρής εκπόλωσης, η αύξηση στην αγωγιμότητα απουσιάζει. Η ολική διάρκεια της ΑΑΠ είναι μικρή και η επάνοδος μετά την επαναπόλωση γρήγορη ⁷³. Εντούτοις, μια έντονη ποικιλότητα στην ΑΑΠ υπάρχει σε όλο το borderzone, συνθήκη η οποία ευνοεί τις αρρυθμίες επανεισόδου. Η διέγερση του συμπαθητικού προάγει αυτήν την ποικιλότητα ⁸⁸.

Η ταχύτητα αγωγής καθορίζεται από ενεργητικές (ύψος και ταχύτητα του ΔΕ) και παθητικές ιδιότητες της μυοκαρδιακής ίνας, και πιο συγκεκριμένα την αντίσταση της κυτταρικής μεμβράνης, την επιμήκη αντίσταση του κυττάρου, την αντίσταση του εξωκυττάρου διαμερίσματος και την αρχιτεκτονική του ιστού ⁸⁹. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η αγωγή είναι ομοιόμορφα ανισοτροπική, πιο γρήγορη στην επιμήκη παρά στην εγκάρσια κατεύθυνση. Όλες αυτές οι παράμετροι αλλάζουν νωρίς κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και επιδρούν στην ταχύτητα της αγωγής αρνητικά. Σε αυτό το στάδιο, η μείωση στο μέγεθος και στην ταχύτητα ανόδου του ΔΕ μαζί με την αυξημένη αγωγιμότητα της μεμβράνης στην ηρεμία και την άνοδο της εξωκυττάριας αντίστασης (εξαιτίας της σύμπτωσης των αγγείων και του κυτταρικού οιδήματος) είναι πιο σημαντικές ⁹⁰. Σε μεταγενέστερο στάδιο (>15 λεπτά), η επιμήκης κυτταρική αντίσταση αυξάνεται δραματικά και προκαλεί σημαντική επιβράδυνση της αγωγής. Αυτή η αλλαγή οφείλεται στο κλείσιμο των χασματικών συνδέσεων, λόγω αύξησης του ενδοκυττάρου H^+ και Ca^{+} ⁹¹, επίδρασης του LCAC ⁹² και πτώσης του ATP. Οι μεταβολές στις χασματικές συνδέσεις δεν είναι ομοιόμορφες σε όλο το έμφρακτο και αποτελούν αίτιο για τη γέννηση αρρυθμιών. Ακόμη και μετά την απομόνωση ζευγών κυττάρων από ισχαιμικό μυοκάρδιο αυτή η ανομοιογένεια παραμένει ⁹³.

6.2. ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ ΜΕΤΑ ΤΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

6.2.1. ΦΑΣΗ I

Η φάση I των αρρυθμιών που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της οξείας ισχαιμίας του μυοκαρδίου περιλαμβάνει όλα τα αρρυθμιολογικά γεγονότα που



συμβαίνουν τα πρώτα 30 λεπτά της ισχαιμίας, όταν ακόμη δεν έχει επέλθει ανεπανόρθωτη κυτταρική βλάβη. Στους σκύλους, τους χοίρους, τα πρόβατα και τους επίμους η φάση αυτή μπορεί να διαιρεθεί σε φάσεις Ia και Ib. Ανάλογος διαχωρισμός και στους ανθρώπους δεν μπορεί να γίνει με απόλυτη βεβαιότητα, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι και στους ανθρώπους διακρίνεται μια πρώιμη και μια όψιμη περίοδος αυξημένης αρρυθμιογένεσης μετά το OEM⁹⁴.

Οι αρρυθμίες της φάσης Ia (2 με 10 λεπτά από την απόφραξη) είναι συνήθως του τύπου της κοιλιακής ταχυκαρδίας (VT) και σπάνια εξελίσσονται σε κοιλιακή μαρμαρυγή (VF). Μελέτες χαρτογράφησης έχουν αναδείξει ότι ο μηχανισμός δημιουργίας τους είναι η επανείσοδος⁹⁵, με το ερέθισμα να ακολουθεί μια πολύ μεγάλη διαδρομή μέσα στον ισχαιμικό ιστό, ή δύο μέτωπα να ταξιδεύουν γύρω από μια περιοχή αποκλεισμού της αγωγής σε σχήμα οκτώ. Πριν την εμφάνιση της αρρυθμίας παρατηρείται συχνά εναλλαγή των κυμάτων T και βαθιά αρνητικά κύματα T, τα οποία προκαλούνται από τις σημαντικές διαφορές στην ενεργοποίηση και επαναπόλωση των κυττάρων.

Το αρχικό ερέθισμα ξεκινά κοντά στο ισχαιμικό borderzone⁹⁶. Η φύση του εναρκτήριου ερεθίσματος έχει μελετηθεί στις γάτες και έχει βρεθεί να είναι διατοιχωματική επανείσοδος στο 76 % των περιπτώσεων και πρώιμες εκπολώσεις από το υπενδοκάρδιο ή το επικάρδιο, λόγω τοπικών μηχανισμών, στο υπόλοιπο 24 %⁹⁵. Ένας από αυτούς είναι και η διέγερση από το ρεύμα βλάβης. Αυτό ρέει στο borderzone μεταξύ ισχαιμικής και μη περιοχής κατά τη διάρκεια της διαστολής, εξαιτίας διαφορών στο δυναμικό ηρεμίας, αλλά πολύ περισσότερο κατά τη διάρκεια της συστολής, εξαιτίας διαφορών στη ΔΔΕ και καθυστερήσεις στην ενεργοποίηση. Το ρεύμα αυτό μπορεί να προκαλέσει επαναδιέγερση φυσιολογικών κυττάρων ή και αυξημένο αυτοματισμό. Κατά τη διάρκεια των βαθιών αρνητικών T, το ρεύμα βλάβης είναι πολύ μεγαλύτερο από ότι στη διαστολή. Δεν είναι απροσδόκητο το γεγονός ότι οι αρχικοί παλμοί της ταχυκαρδίας συχνά ακολουθούν βαθιά αρνητικά T.

Οι αρρυθμίες της φάσης Ib (20 με 30 λεπτά) είναι λιγότερο μελετημένες. Είναι ταυτόχρονες με μια μαζική απελευθέρωση κατεχολαμινών, την έναρξη μιας σημαντικής αύξησης της επιμήκους αντίστασης⁹⁷, την αύξηση του εξωκυττάριου καλίου και του ενδοκυττάριου ασβεστίου. Αυτές οι αλλαγές ευνοούν την επανείσοδο. Πρόκειται για μια πιο επικίνδυνη φάση καθώς σημαντικό ποσοστό των VT καταλήγει σε VF και θάνατο.



6.2.2. ΦΑΣΗ II

Οι αρρυθμίες αυτής της φάσης συμβαίνουν μετά από 90 τουλάχιστον λεπτά ισχαιμίας, όταν η νέκρωση του μυοκαρδίου ξεκινά και εξελίσσεται για τις επόμενες λίγες ώρες. Οι αρρυθμίες που συμβαίνουν στην χρόνια ισχαιμία δεν αποτελούν αντικείμενο του παρόντος συγγράμματος κι έτσι δεν θα αναφερθούν οι υπεύθυνοι για αυτές παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί.

Αν και η φάση I των μετεμφραγματικών αρρυθμιών έχει μελετηθεί αρκετά από παθοφυσιολογική και φαρμακολογική άποψη, δεν ισχύει το ίδιο και για τη φάση II. Αυτό συμβαίνει γιατί πολλές πειραματικές μελέτες χρησιμοποιούν *in vitro* μοντέλα ισχαιμίας, τα οποία δεν παρουσιάζουν την ίδια διφασικότητα, σε σχέση με τις αρρυθμίες, με αυτήν που παρατηρείται σε όλα τα είδη των ζώων *in vivo*. Ένας άλλος λόγος για την πλημμελή μελέτη της φάσης αυτής είναι η υψηλή θνητότητα της φάσης I, που καθιστά ασύμφορη και χρονοβόρο τη μελέτη της φάσης II, καθώς και η ανάγκη παρατεταμένης αναισθησίας του πειραματόζωου, η οποία επηρεάζει τις φυσιολογικές διαδικασίες και μετρήσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Η φάση II συμπίπτει με την έναρξη και ολοκλήρωση της νέκρωσης του μυοκαρδίου. Αυτή η περίοδος συνοδεύεται από αρκετές μεταβολικές, ιοντικές και ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές. Μεταβολικά χαρακτηρίζεται από χαμηλά ενδοκυττάρια επίπεδα γλυκογόνου και υψηλά γαλακτικού οξέος, με διακοπή της αναερόβιας γλυκόλυσης και μείωση του ATP και της φωσφορικής κρεατίνης στο 10 και 2 % του φυσιολογικού, αντιστοίχως ⁹⁸. Επιπλέον, η δεξαμενή νουκλεοτιδίων αδενίνης αποτελείται κυρίως από AMP και δημιουργούνται υψηλά ενδοκυττάρια επίπεδα ινοσίνης και υποξανθίνης, ως αποτέλεσμα της απαμίνωσης της αδενίνης ⁹⁸. Όσον αφορά στις ιοντικές αλλαγές, η συσσώρευση του εξωκυττάριου καλίου που ξεκινά στη φάση I συνεχίζεται και σε αυτή τη φάση. Αντιθέτως, τα ενδοκυττάρια επίπεδα καλίου ελαττώνονται. Ακόμη, παρατηρούνται υψηλές συγκεντρώσεις ενδοκυττάριου νατρίου και ασβεστίου.

Η κύρια εστία δημιουργίας αρρυθμιών σε αυτή τη φάση εικάζεται ότι είναι οι ίνες του Purkinje που επιβιώνουν αλλά δυσλειτουργούν ^{99,100}. Μετά από μία ώρα ισχαιμίας, οι επιζώσες ίνες του Purkinje και οι μυοκαρδιακές ίνες παρουσιάζουν μειωμένα δυναμικά ηρεμίας και ταχύτητα ανόδου του ΔΕ ¹⁰¹. Η



ΔΔΕ βραχύνεται στις ίνες του Purkinje, ενώ παρατείνεται στις μυοκαρδιακές ίνες ευνοώντας την επανείσοδο του ερεθίσματος ¹⁰¹.

Έτσι, ενώ η επανείσοδος και το ρεύμα βλάβης ευθύνονται για τις αρρυθμίες της φάσης I, η επανείσοδος και ο ανώμαλος αυτοματισμός (καθυστερημένες μετεκπολώσεις) φαίνεται να κυριαρχούν κατά τη διάρκεια ολοκλήρωσης του εμφράκτου. Από την άλλη, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στο ΗΚΓ και τις αιμοδυναμικές παραμέτρους που περιγράφουν τα λίγα δευτερόλεπτα που προηγούνται των κοιλιακών αρρυθμιών, είτε της μίας, είτε της άλλης φάσης ⁹⁴.

Δυσερμήνευτη επίσης είναι και η απουσία επεισοδίων αρρυθμιών μεταξύ των δύο φάσεων ¹⁰², καθώς και η διακοπή της εμφάνισής τους μετά τις 8 με 10 ώρες. Πιθανές εξηγήσεις είναι η τελική απώλεια της διεγερσιμότητας των κυττάρων στον πυρήνα της ισχαιμικής περιοχής και η ολοκλήρωση της κυτταρικής νέκρωσης παρά τη συνεχιζόμενη φλεγμονώδη αντίδραση, αντιστοίχως ¹⁰².



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7°

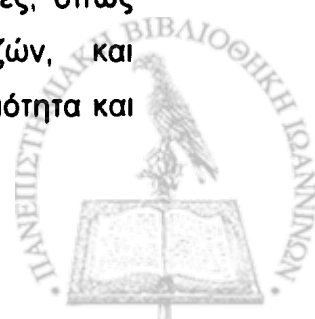
ΕΤ-1 ΚΑΙ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

7.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου παραμένει η κυριότερη αιτία νοσηρότητας

και θνητότητας σε πολλές χώρες, ανάμεσα στις οποίες βρίσκεται και η Ελλάδα ¹⁰³. Τα τελευταία χρόνια, η εφαρμογή θεραπειών επαναιμάτωσης, είτε με θρομβόλυση είτε με άμεση αγγειοπλαστική, έχει μειώσει σημαντικά την ενδονοσοκομειακή θνητότητα της νόσου ^{104 105}. Όμως, περίπου το ένα τρίτο των ασθενών πεθαίνει τις πρώτες ώρες του οξέος εμφράγματος, πριν τη μεταφορά του σε κέντρο παροχής άμεσης ιατρικής φροντίδας, και το ποσοστό αυτό έχει παραμείνει αμετάβλητο για δεκαετίες ¹⁰⁶. Η πλειονότητα αυτών των θανάτων οφείλεται σε κοιλιακές αρρυθμίες, κυρίως σε κοιλιακή μαρμαρυγή. Παρά τη βελτίωση των υπηρεσιών άμεσης βοήθειας, με την ανάπτυξη στρατηγικών ταχείας απινίδωσης, το ποσοστό επιβίωσης σε θύματα καρδιοαναπνευστικής ανακοπής παραμένει πολύ μικρό ¹⁰⁶

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για την κατανόηση των μηχανισμών πρόκλησης κακοήθων κοιλιακών αρρυθμιών κατά τη διάρκεια οξείας ισχαιμίας. Η μελέτη των ηλεκτροφυσιολογικών μεταβολών που προηγούνται της εμφάνισης κοιλιακής μαρμαρυγής, όπως η διασπορά της επαναπόλωσης, η ηλεκτρική εναλλαγή των κυμάτων T και οι πρώιμες κοιλιακές συστολές σε τρωτή περίοδο της επαναπόλωσης ^{107 108}, δεν επαρκεί για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας της κοιλιακής μαρμαρυγής κατά τη διάρκεια του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Οι ηλεκτροφυσιολογικές αυτές μεταβολές είναι πολύπλοκες και φαίνεται να προκαλούνται από πολλούς μηχανισμούς, που πυροδοτούνται από την ισχαιμία του κοιλιακού μυοκαρδίου. Τέτοιοι μηχανισμοί είναι, ανάμεσα σε άλλους, οι διαταραχές των διαύλων ιόντων, μεταβολικές διαταραχές, όπως παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων και ελευθέρων ριζών, και νευροορμονικές διαταραχές, όπως αυξημένη συμπαθητική δραστηριότητα και



αυξημένη παραγωγή ενδοθηλίνης-1^{107 108,109 110,111}. Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου προκαλεί μια απότομη απώλεια λειτουργικού κοιλιακού μυοκαρδίου. Το γεγονός αυτό εκτός του ότι είναι αρρυθμογόνο, επιβαρύνει το προφόρτιο και προκαλεί:

A) νευροορμονική απάντηση για να διατηρηθεί ικανοποιητική καρδιακή απόδοση κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης και

B) αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας, τόσο στην περιοχή του εμφράκτου όσο και στην απομακρυσμένη και ενδιάμεση περιοχή.

Η διαδικασία της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας χωρίζεται αυθαίρετα σε μια πρώιμη (<72h) και μια όψιμη περίοδο, που οδηγεί προοδευτικά στην ανάπτυξη χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας.

Η πρώιμη φάση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας ξεκινά λίγες ώρες μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και αφορά κυρίως την περιοχή της ουλής. Περιλαμβάνει, κυρίως τη λέπτυνση και διάταση της περιοχής αυτής και είναι γνωστή ως φάση επέκτασης του εμφράκτου (infarct expansion). Η διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται, συνήθως, μερικές μέρες μετά το έμφραγμα και οδηγεί σε εκτεταμένη κοιλιακή διάταση. Η επέκταση της ουλής συνοδεύεται από αλλαγή του σχήματος της καρδιάς και υπερτροφία του υπόλοιπου βιώσιμου μυοκαρδίου. Σε κλινικές μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η μέση τελοσυστολική πίεση τις πρώτες ημέρες μετά το έμφραγμα αποτελεί τον πιο ισχυρό προγνωστικό παράγοντα¹¹².

Η όψιμη φάση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας χαρακτηρίζεται από εκκεντρική υπερτροφία, ακόμη μεγαλύτερη διάταση της αριστερής κοιλίας, υπερτροφία των μυοκαρδιακών κυττάρων και μετατροπή της αριστερής κοιλίας σε ένα πιο σφαιρικό σχήμα. Επιπλέον, ανωμαλίες στη συστολή και στο μεταβολισμό του μυοκαρδίου αναπτύσσονται με τις βιοχημικές αλλαγές που συμβαίνουν στα μυοκαρδιακά κύτταρα, ως αποτέλεσμα επαναπρογραμματισμού της έκφρασης των 'μορφολογικών' γονιδίων (όπως τις βαριές αλυσίδες της μυοσίνης, τις καρδιακές τροπονίνες T και I, τους διαύλους ιόντων) και των 'λειτουργικών' γονιδίων (όπως του κολπικού, ANP, και εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου, BNP, των ATPασών του δικτυωτού σαρκοπλασματικού δικτύου, των β-αδρενεργικών υποδοχέων, του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης). Ακόμη, υπάρχει ενεργοποίηση των ινοβλαστών, ίνωση και ενεργοποίηση των



μεταλλοπρωτεϊνών^{113.114}. Οι αλλαγές αυτές είναι προοδευτικές και μπορεί να οδηγήσουν σε εκδηλωμένη καρδιακή ανεπάρκεια.

Κατά τη διάρκεια της πρώιμης φάσης του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου η νευροορμονική απάντηση διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της καρδιακής παροχής και την αιμάτωση των περιφερειακών ιστών. Παρά το γεγονός αυτό, ενδέχεται να αυξάνει την καρδιακή βλάβη τόσο με την αύξηση του τοιχωματικού stress, που οδηγεί σε αύξηση της ισχαιμίας, όσο και με την εισαγωγή αρρυθμιών.

Κατά τη διάρκεια της όψιμης φάσης, όταν η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας επιδεινώνεται και η καρδιακή ανεπάρκεια εξελίσσεται, ο ρόλος των ορμονών αυτών έχει αποδειχθεί ευρέως τόσο σε πειραματικές μελέτες όσο και σε κλινικές μελέτες καρδιακής ανεπάρκειας, ότι είναι αρνητικός. Έτσι, η αναστολή της δράσης των ορμονών αυτών, όπως του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγιοτενσίνης (α-MEA) και των β-αδρενεργικών υποδοχέων (b-blockers) έχει αποδειχθεί ότι είναι ευεργετική¹¹⁵. Όμως, η αύξηση των επιπέδων της ET-1 και η αλλαγή των χαρακτηριστικών των καρδιακών, αγγειακών και πνευμονικών υποδοχέων της ET-1 έχουν περιγραφεί με σαφήνεια σε μελέτες καρδιακής ανεπάρκειας^{116.117 118.119}. Ακόμη, τα θετικά αποτελέσματα από το συνδυασμό ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 και των αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου σε πειραματικές και κλινικές μελέτες καρδιακής ανεπάρκειας επιβεβαιώνουν το ρόλο της ET-1 στην εξέλιξη της καρδιακής υπερτροφίας και της λειτουργικής ανεπάρκειας^{120 119.121 122.123}.

Αντίθετα, παρά το γεγονός ότι όλες οι μελέτες επιβεβαιώνουν την αύξηση της ET-1 αμέσως μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, ο ρόλος της αύξησης αυτής κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης παραμένει αδιευκρίνιστος.



7.2. Το σύστημα της ενδοθηλίνης και η καρδιά

Η ET-1 έχει θετική ινότροπο και χρονότροπο δράση ^{124,125}. Όμως όταν χορηγείται σε μεγάλες δόσεις, συστηματικά, προκαλεί ισχυρή αγγειοσύσπαση των στεφανιαίων αγγείων που οδηγεί σε μείωση της καρδιακής παροχής.

Ενδοστεφανιαία χορήγηση ET-1 σε υψηλή δόση μπορεί να είναι θανατηφόρα λόγω της ισχαιμίας που προκαλεί ¹²⁶. Αντίθετα, όταν συγχορηγείται με αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες η καρδιακή παροχή αυξάνεται, πιθανώς γιατί αποκαλύπτεται η ινοτρόπος δράση της ¹²⁷. Σε φυσιολογικές καρδιές η συσταλτικότητα της καρδιάς μειώνεται όταν αναστέλλεται η δράση της ET-1 ⁵⁴. Επιπλέον, η ET-1, μέσω των υποδοχέων ETA, έχει ισχυρή επίδραση στην έκκριση του κολπικού νατριουρητικού πεπτιδίου (ANP) ^{128 129}. Επίσης, διάφορες μελέτες προτείνουν ότι η ET-1 μπορεί να έχει αντιαρρυθμικές ιδιότητες, ειδικά σε ισχαιμικές συνθήκες ^{130,131}. Υπάρχουν, όμως άλλοι που υποστηρίζουν ότι η ET-1 έχει προαρρυθμικές ιδιότητες ^{126,130}.

Η έκφραση της ET-1 σε φυσιολογική καρδιά παραμένει σε μικρά επίπεδα σε σχέση με άλλα όργανα, όπως οι νεφροί και οι πνεύμονες ¹³²⁻¹³⁴. Τα στοιχεία για τους ανθρώπους είναι λίγα και ανόμοια, όπως φαίνεται από τις υπάρχουσες μελέτες ^{118,133}, με επίπεδα που κυμαίνονται από 1000fmol/g wet weight μέχρι περισσότερο από 4000pg (δηλαδή 1600 fmol/mg protein). Η ET-2 είναι παρούσα σε πολύ μικρότερα επίπεδα, ενώ η ET-3 δεν ανιχνεύεται καθόλου ¹³³. Οι μετρήσεις αυτές υπολογίστηκαν από την έκφραση των γονιδίων τους μέσω της ποσότητας του mRNA που παράχθηκε. Σε κοιλίες επίμυων, βρέθηκαν επίπεδα ET-1 από 40 έως 100 pmol/wet weight ^{59,135-137}. Μάλιστα, στους κόλπους των πειραματόζων αυτών τα επίπεδα ήταν ακόμη υψηλότερα ¹³⁸. Η κυτταρική κατανομή της ET-1, όπως εκφράστηκε από την ανοσοϊστοχημική προσέγγιση, χαρακτηρίζεται από πολύ υψηλή έκφρασή της στο ενδοθήλιο των στεφανιαίων αρτηριών, ακολουθούμενο από τους περιαγγειακούς ιστούς και τους καρδιακούς ινοβλάστες ^{133,136}, και από σχετικά μικρή έκφραση στα μυοκαρδιακά κύτταρα. Όμως σε σχέση με την ολική μάζα τους, μεγάλο μέρος της καρδιακής ET-1 βρίσκεται στα μυοκαρδιακά κύτταρα.

Οι υποδοχείς της ET-1 βρίσκονται στο κοιλιακό μυοκάρδιο, στους κόλπους



και σε ακόμη μεγαλύτερη πυκνότητα στον κολποκοιλιακό κόμβο ¹³⁹. Στις ανθρώπινες κοιλίες η αναλογία ETA/ETB είναι 60/40 ¹³³, όμως σε απομονωμένα μυοκαρδιακά κύτταρα το ποσοστό των ETA υποδοχέων βρέθηκε >85% ¹⁴⁰. Σε φυσιολογικές καρδιές επίμυων το ποσοστό των ETA είναι >80% (^{137,141,142}).

Παρά τη μικρή τους έκφραση στις κοιλίες οι ETB υποδοχείς φαίνεται να άγουν την ινότροπο δράση της ET-1 ¹²⁷ και να ευοδώνουν τη στεφανιαία αγγειοσύσπαση υπό συνθήκες καρδιακής ανεπάρκειας ¹⁴³. Επιπλέον, οι ETB υποδοχείς φαίνεται να διαδραματίζουν ρόλο στην ίνωση του μυοκαρδίου που προκαλείται από υπερτροφία του μυοκαρδίου από υπέρταση ^{144,145}.

7.3. Ενδοθηλίνη και έμφραγμα

A) ενδοθηλίνη στο πλάσμα

Τα στοιχεία που υπάρχουν για τα επίπεδα της ET-1 στο πλάσμα μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι περιορισμένα. Ο Miyauchi και οι συν. ¹¹⁰ αναφέρουν ότι λίγες μόνο ώρες μετά το OEM τόσο τα επίπεδα της ET-1 όσο και της big ET-1 είναι ανεβασμένα. Οι Stewart και συν. ¹⁴⁶ βρήκαν μια πρώιμη αύξηση των επιπέδων της ET-1 (ακόμη πιο πρώιμη και από την κρεατινική κίνηση) που φτάνει στο μέγιστο στις 6 ώρες και επιστρέφει στο φυσιολογικό 24 ώρες μετά από ένα μη επιπλεγμένο έμφραγμα του μυοκαρδίου. Αντίθετα, σε ασθενείς με επιπλοκές, όπως το καρδιογενές shock, η επαναστένωση ή το πνευμονικό οίδημα τα επίπεδα της ET-1 στο πλάσμα παραμένουν αυξημένα για τουλάχιστον 72 ώρες μετεμφραγματικά. Μάλιστα, τα υψηλότερα επίπεδα ET-1 στο πλάσμα έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με μετεμφραγματικό καρδιογενές shock ¹³⁴.

Οι παρατηρήσεις αυτές ανέδειξαν την κλινική σημασία της ET-1 στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, η οποία ενισχύθηκε από τη μελέτη των Omiland



και συν.¹⁴⁷. Στη μελέτη αυτή τα επίπεδα της ET-1 στο πλάσμα 3 ημέρες μετά το OEM βρέθηκε ότι είναι ένας ισχυρός και ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την επιβίωση των ασθενών αυτών ένα χρόνο μετά. Επιπλέον, μελέτες για την πρόδρομη ουσία big ET-1, επιβεβαίωσαν τη σημασία του συστήματος της ET-1 στη διαστρωμάτωση κινδύνου ασθενών που έχουν υποστεί ένα οξύ καρδιακό επεισόδιο^{51,148}.

Ωστόσο, παραμένει ασαφής η προέλευση των αυξημένων επιπέδων της ET-1 στο πλάσμα. Υπάρχουν μελέτες που μας κάνουν να πιστεύουμε ότι, τουλάχιστον σε ένα μέρος της, η αύξηση αυτή προέρχεται και από την καρδιά. Συγκεκριμένα, οι Brunner και συν.¹⁴⁹ αναφέρουν ότι σε in vitro ισχαιμικές συνθήκες η καρδιά απελευθερώνει ET-1, ενώ σε πειραματικό πρότυπο εμφράγματος-επαναιμάτωσης σε επίμυες η ET-1 στο πλάσμα αυξάνει 50 λεπτά μετά την απόφραξη, και μάλιστα η αύξηση αυτή ενισχύεται μετά την επαναιμάτωση¹⁵⁰.

Θα πρέπει να σημειώσουμε ότι στη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια η κάθαρση της ET-1 από τους πνεύμονες μειώνεται γεγονός που συμβάλλει στην αύξησή της στο πλάσμα τόσο σε πειραματικά πρότυπα όσο και σε ασθενείς¹⁵¹⁻¹⁵³. Παραμένει, όμως αδιευκρίνιστο σε ποιο βαθμό συνδέονται οι παρατηρήσεις αυτές με την οξεία φάση του εμφράγματος του μυοκαρδίου.

B) καρδιακά επίπεδα ενδοθελίνης:

Σήμερα, υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις από πειραματικές μελέτες για να πιστεύουμε ότι τα επίπεδα της ET-1 που προέρχονται από την καρδιά αυξάνονται σημαντικά στην πρώιμη φάση του εμφράγματος. Στην πρώτη σχετική μελέτη οι Watanabe και συν.¹⁵⁰ ανέφεραν ότι η αναλογία της καρδιακής ET-1 αυξήθηκε σημαντικά 1 ώρα μετά την απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας.



Πειραματικές και κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η παραγωγή ενδοθηλίνης-1 αυξάνεται κατά τη διάρκεια παρατεταμένης ισχαιμίας ^{110,111}. Αυξημένη συγκέντρωση ενδοθηλίνης-1 στον ορό έχει αναφερθεί σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ¹¹⁰, όπως επίσης αυξημένη ιστική έκφραση της ενδοθηλίνης-1 έχει βρεθεί στην εμφραγματική περιοχή σε καρδιές επίμυων ¹¹¹.

Συγκεκριμένα, οι Loennechen και συν.¹¹¹ υπέθεσαν ότι το έμφραγμα του μυοκαρδίου προκαλεί αύξηση της έκφρασης των γονιδίων συγκεκριμένων ορμονών, μεταξύ των οποίων και της ET-1. Μάλιστα, αυτή η αύξηση πίστευαν ότι συνδέεται με το τοιχωματικό stress αριστερής κοιλίας.

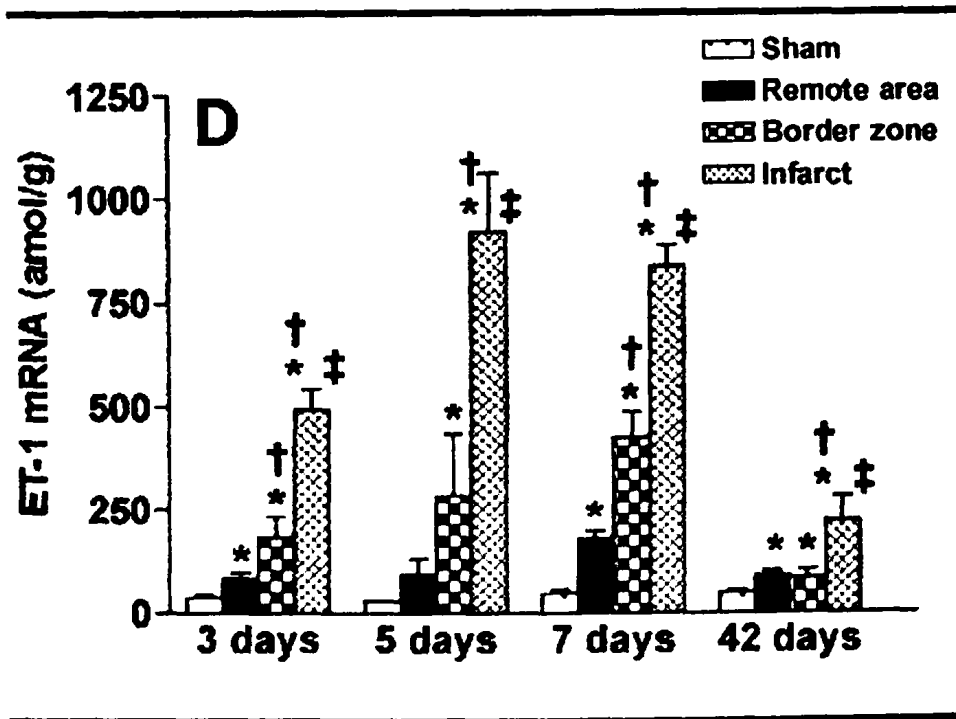
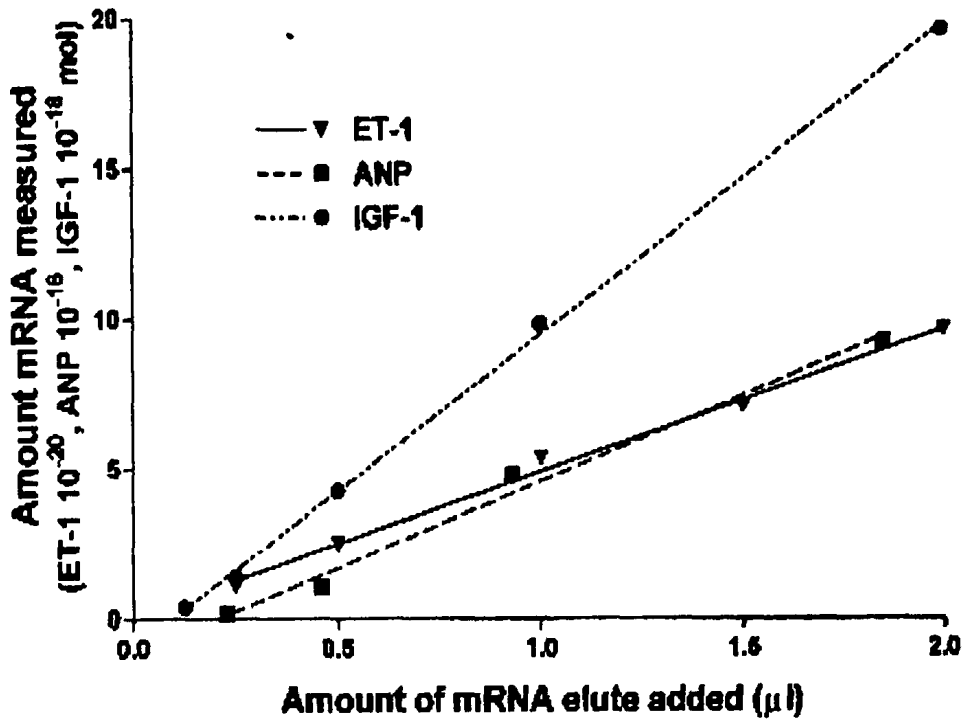
Η παραπάνω υπόθεση δοκιμάστηκε σε πειραματικό πρότυπο εμφράγματος σε επίμυες, που τυχαιοποιήθηκαν σε αυτούς που θα υπόκειντο σε απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας και στην ομάδα ελέγχου. Στη συνέχεια, τα πειραματόζωα με μεγάλα εμφράγματα θυσιάζονταν την τρίτη, έβδομη και τεσσαρακοστή ημέρα μετά, ενώ εκείνα με μικρά εμφράγματα και η ομάδα ελέγχου την έβδομη και τεσσαρακοστή ημέρα.

Λίγο πριν την ευθανασία γινόταν μέτρηση της πίεσης στην αριστερή κοιλία και υπερηχοκαρδιογράφημα. Μετά την ευθανασία ακολουθούσε υπολογισμός της έκτασης του εμφράγματος και συλλογή ιστών από τρία σημεία: i) την περιοχή του εμφράκτου ii) την απομακρυσμένη περιοχή και iii) την ενδιάμεση περιοχή. Οι ιστοί αυτοί προορίζονταν για απομόνωση των μυοκαρδιακών κυττάρων, του mRNA και στη συνέχεια την ποσοτικοποίησή του.

Η ποσοτικοποίηση του mRNA είχε ως στόχο τη μέτρηση της ιστικής έκφρασης της ET-1 στις παραπάνω περιοχές και τη συσχέτισή της με τις αιμοδυναμικές παραμέτρους.

Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής έδειξαν μια αυξημένη έκφραση της ET-1 σε όλη την αριστερή κοιλία των πειραματόζωων που είχαν υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Ειδικότερα, φάνηκε ότι η έκφραση αυτή ήταν μεγαλύτερη κυρίως στην περιοχή του εμφράκτου, αλλά και στην ενδιάμεση περιοχή με μέγιστο έκφρασης την έβδομη ημέρα. Παρουσιάζεται δηλαδή μια ισχυρή συσχέτιση της αύξησης του mRNA της ET-1 τόσο με την περιοχή λήψης του δείγματος όσο και με το χρόνο (Εικόνα 8).





Εικ. 8 Απεικονίζεται η αύξηση της ιστικής έκφρασης της ET-1 μετά το OEM, σε σχέση με τον χρόνο και την περιοχή λήψης του δείγματος.

Η μέγιστη έκφραση της ET-1 συμπίπτει με τις μέγιστες τιμές στο πλάσμα δεικτών χρόνιας φλεγμονής, όπως ο TNF- α , η ιντερλευκίνη I (IL-1) και ο TGF- β , που είναι γνωστό ότι αυξάνουν τη δράση της ET-1. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι η ET-1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή του μυοκαρδίου και στην αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου.

Επιπλέον, η αύξηση του τοιχωματικού stress και της έκφρασης της ET-1 της απομακρυσμένης περιοχής αποτελούν σημαντικό εύρημα αυτής της μελέτης. Και τούτο διότι υποδηλώνει ότι η αύξηση του τοιχωματικού stress οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της ET-1 τόσο στην οξεία όσο και στη χρόνια μετεμφραγματική καρδιακή ανεπάρκεια.

Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν και από τους Oie, Cenacek, Tonnessen ^{136.138.154.155}.

- Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι σε νεκρωτικές περιοχές που έχουν σταθεροποιηθεί 4 και 13 εβδομάδες μετά την προσβολή τα επίπεδα της ET-1 παραμένουν πολύ υψηλά ^{59.135}, σημαντικά υψηλότερα από τις γύρω βιώσιμες αλλά ανεπαρκούσες περιοχές, στις οποίες το πεπτίδιο ήταν επίσης σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με υγιείς καρδιές ^{57 59.135.136 137}.

Η δραστηριότητα του μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1 δεν έχει μελετηθεί τις πρώτες ώρες μετά το OEM. Ωστόσο, σε συνθήκες χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας τόσο σε πειραματικό πρότυπο επίμυων ¹³⁷ όσο και σε ασθενείς ¹¹⁸ δεν βρέθηκαν σημαντικές αλλαγές στη δραστηριότητα του ενζύμου.

Η δραστηριότητα των υποδοχέων ETA και ETB δεν έχει και αυτή μελετηθεί επαρκώς στην οξεία φάση του εμφράγματος. Ωστόσο, σε μελέτες καρδιακής ανεπάρκειας τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ασθενείς παρατηρήθηκε αύξηση και των δύο τύπων υποδοχέων στην καρδιά, καθώς και παράλληλη μείωση των υποδοχέων ETB στους πνεύμονες ^{118.137 142}.

Οι μηχανισμοί για την αύξηση της ET-1 αμέσως μετά το OEM παραμένουν αδιευκρίνιστοι. Το κύριο ερέθισμα φαίνεται να είναι η ισχαιμία, η οποία ενεργοποιώντας τον παράγοντα μεταγραφής 1-άλφα ¹⁵⁶, ενεργοποιεί πιθανώς την έκφραση του γονιδίου της ET-1 στα μυοκαρδιακά κύτταρα. Επιπλέον, η αγγειοτενσίνη II που αυξάνεται σε αυτές τις συνθήκες προάγει αποδεδειγμένα την αύξηση της ET-1. Η αγγειοτενσίνη II αυξάνει την έκφραση της ET-1 σε διάφορα κύτταρα ^{157.158} και τους υποδοχείς ETB στα μυοκαρδιακά κύτταρα ¹⁵⁹.



Επιπρόσθετα, έχει δειχθεί τόσο *in vitro* ^{157,158} όσο και *in vivo* ¹⁶⁰ ότι οι υπερτροφικές συνέπειες από τη δράση της αγγειοτενσίνης II στα μυοκαρδιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες, και τις μικρές αρτηρίες της συστηματικής κυκλοφορίας ευοδώνονται από την ET-1.

Θα πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι οι Kakikuma et al. ¹⁶¹ βρήκαν ότι σε πειραματικό πρότυπο OEM σε επίμυες η ET-2 μετατρέπεται σε ET-1 σε μυοκαρδιακά κύτταρα που ισχαιμούν και σε περιοχές της καρδιάς που ανεπαρκούν. Καθώς, όμως ο παθοφυσιολογικός ρόλος της ET-2 είναι άγνωστος, οι επιπτώσεις αυτής της παρατήρησης παραμένουν αδιευκρίνιστες.

7.4. ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ

Με τον όρο αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας, υποδηλώνεται η διαδικασία κατά την οποία διάφοροι μηχανικοί, νευροορμονικοί και γενετικοί παράγοντες ρυθμίζουν και προσαρμόζουν το μέγεθος, το σχήμα και τη λειτουργία της κοιλίας. Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα είτε κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής ανάπτυξης της καρδιάς, είτε έπειτα από παθολογικές καταστάσεις, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου, οι καρδιομυοπάθειες και οι παθήσεις των καρδιακών βαλβίδων ²⁷⁷. Σκοπός της αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας στις παθολογικές καταστάσεις, είναι η διατήρηση του όγκου παλμού μετά την απώλεια μυοκαρδιακής μάζας και συνίσταται σε:

1. Έκπτυξη (λέπτυνση και διάταση) της εμφραγματικής περιοχής, Με τον όρο "έκπτυξη" της περιοχής εμφράγματος, εννοούμε μια οξεία αλλά δυσανάλογη διάταση και λέπτυνσή της, η οποία ωστόσο δεν οφείλεται σε περαιτέρω νέκρωση του μυοκαρδίου, αλλά στους εξής παράγοντες:
 - a) Μετατόπιση (slippage) των μυϊκών ινών κατά μήκος του εμφράκτου, με συνέπεια τη μείωση του αριθμού των ΜΚΚ στην περιοχή αυτή
 - b) Διάρρηξη των φυσιολογικών ΜΚΚ
 - c) Απώλεια ιστού εντός της εμφραγματικής περιοχής



Ο βαθμός έκπτωσης της περιοχής εμφράγματος φαίνεται να είναι άμεσα εξαρτώμενος από το πάχος που είχαν τα τοιχώματα πριν το έμφραγμα,

2. Διάταση της μη εμφραγματικής περιοχής,
3. Διάταση της αριστεράς κοιλίας και
4. Μεταβολή του σχήματος της αριστεράς κοιλίας.

Η αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου έχει χωριστεί αυθαίρετα σε 2 κυρίως φάσεις. Την Οξεία (εντός των πρώτων 72 ωρών) και την Χρόνια (μετά από 72 ώρες) φάση²⁷⁸. Στην οξεία φάση, εξελίσσεται η έκπτωση της εμφραγματικής περιοχής, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ρήξη ή ανεύρυσμα της αριστεράς κοιλίας. Η χρόνια φάση, αφορά τη σφαιρικότητα της κοιλίας και σχετίζεται με τη διάταση, την παραμόρφωση και την υπερτροφία της. Εάν μέσα από αυτή τη διαδικασία δεν επιτευχθεί η εξομάλυνση στο αυξημένο τοιχωματικό στρές (increased wall stress), τότε η διάταση της κοιλίας συνεχίζει να εξελίσσεται με αποτέλεσμα την εξέλιξη του εμφράγματος και στην οριακή ζώνη του μυοκαρδίου και τέλος επιδείνωση της συσταλτικής του λειτουργίας.

7.4.1. Οξεία φάση

Η αποδόμηση του κολλαγόνου της μεσοκυττάριας ουσίας των καρδιακών μυοκυττάρων από σερινοπρωτεάσες, καθώς και η ενεργοποίηση των MMPs (matrix metalloproteinases) που απελευθερώνουν τα ουδετερόφιλα, έχει ως αποτέλεσμα την έκπτωση της περιοχής εμφράγματος²⁷⁹. Εντός λίγων ωρών από τη βλάβη των μυοκυττάρων, αρχίζει η λέπτυνση και διάταση των τοιχωμάτων της κοιλίας, προκαλώντας την αύξηση στη διαστολική και συστολική τάση των τοιχωμάτων της (wall stress)²⁸⁰. Το απομακρυσμένο -μη εμφραγματικό μυοκάρδιο αρχίζει να αντιδρά προσαρμοστικά, προκειμένου να μπορέσει να διατηρήσει τον όγκο παλμού. Η οριακή ζώνη καθώς και η μη εμφραγματική- απομακρυσμένη περιοχή παραμορφώνονται επηρεάζοντας τη σχέση Frank-Starling²⁸¹. Η αιμοδυναμική διαταραχή στο κυκλοφορικό, διεγείρει το συμπαθητικομιμητικό σύστημα, το οποίο προκαλεί τη σύνθεση κατεχολαμινών από τα επινεφρίδια, ενεργοποιεί το σύστημα Ρενίνης- Αγγειοτενσίνης- Αλδοστερόνης και επάγει την παραγωγή ANP (Atrial natriuretic peptide) και BNP (Brain natriuretic peptide)²⁷⁸.



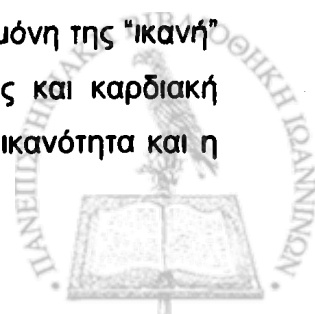
7.4.2. Χρόνια Φάση

Καθώς η αναδιαμόρφωση συνεχίζεται, η μεσοκυττάρια ουσία (extracellular matrix), αντικαθίσταται από ινώδη ιστό, με σκοπό να αντισταθμίσει τις διαστολικές δυνάμεις που αναπτύσσονται στην εμφραγματική περιοχή. Το αυξημένο τοιχωματικό στρες που προκαλείται από αυτή τη διαδικασία, τείνει να αντισταθμιστεί από την κοιλία, αναπτύσσοντας υπερτροφικά ΜΚΚ και αλλάζοντας συνολικά την αρχιτεκτονική της δομή. Η υπερτροφία αυτή γίνεται εμφανής μικροσκοπικά, αφού παρατηρείται σύνθεση σαρκομερίων από τα ΜΚΚ και οργάνωσή τους εν σειρά χωρίς μεταβολή στο μήκος τους, αυξάνοντας έτσι το πάχος των τοιχωμάτων, και αύξηση στον όγκο των μυοκυττάρων έως και 70%²⁸².

Με τη πάροδο του χρόνου, η παθολογική υπερτροφία, προκαλεί αλλαγές στη μεταβολική διαδικασία στην καρδιά. Έτσι, από μια διαδικασία με αμιγώς οξειδωτικά χαρακτηριστικά, τείνει να περάσει σε μια περισσότερο γλυκολυτική διαδικασία μεταβολισμού, η οποία είναι χαρακτηριστική της εμβρυϊκής περιόδου και συνοδεύεται από την ενεργοποίηση του εμβρυϊκού καρδιακού γονιδιακού προγράμματος (fetal cardiac gene program). Το πρόγραμμα αυτό επάγει και ρυθμίζει την έκφραση μιας σειράς γονιδίων διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων (όπως τα c-fos, c-jun, c-myc, Egr-1), νατριουρικών πεπτιδίων (ANP, BNP), σαρκομεριδιακών πρωτεϊνών (β -βαριά αλυσίδα μυοσίνης, σκελετική και λείων μυϊκών ινών α - ακτίνη, και 1α και 2α ελαφριές έλικες μυοσίνης), ενζύμων (μετατρεπτικό ένζυμο της Αγγειοτενσίνης, βARK), και αυξητικών παραγόντων (ενδοθηλίνη-1 [ET-1], αυξητικός παράγων προσομοιάζων με την ινσουλίνη-1 [IGF-1], μεταπλαστικός αυξητικός παράγων β 1 [TGF- β 1])²⁸³⁻²⁸⁵.

Η ενεργοποίηση του εμβρυϊκού καρδιακού γονιδιακού προγράμματος, η οποία προκαλεί τη γονιδιακή καταστολή στο ώριμο (adult) καρδιακό γονιδιακό πρόγραμμα, είναι άμεσα σχετιζόμενη με καρδιακή ανεπάρκεια. Γι' αυτό έχει δοθεί μεγάλη βαρύτητα στην αποκρυπτογράφηση αυτών των μονοπατιών, με σκοπό την πρόληψη ή ακόμα και την αναστολή τους για θεραπευτικούς σκοπούς^{286,287}.

Παρ' όλα αυτά, η παθολογική υπερτροφία δεν είναι από μόνη της "ικανή" συνθήκη για να οδηγήσει σε διάταση της αριστερής κοιλίας και καρδιακή ανεπάρκεια. Σημαντικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία, παίζει η ικανότητα και η

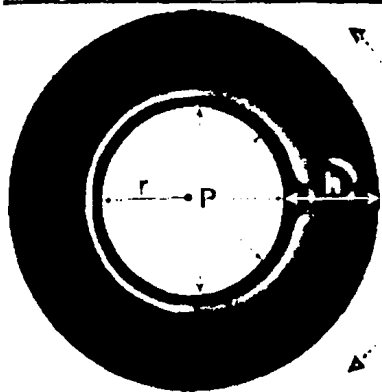


δυνατότητα που έχει η καρδιά να διατηρήσει την ισορροπία μεταξύ της κυτταρικής επιβίωσης και της απόπτωσης ^{288,289}. Η δράση των κυτοκινών μέσω των μονοπατιών που εμπλέκουν τον υποδοχέα gp130 και τους τελεστές του είναι απαραίτητη για την επιβίωση των ΜΚΚ μετά από καρδιακό στρες, καθώς έχει αποδειχθεί ότι η έλλειψή τους οδηγεί σε μαζικό αποπτωτικό θάνατο ²⁹⁰. Η ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών, για την αναστολή της αποπτωτικής διαδικασίας ταυτόχρονα με την επαγωγή της κυτταρικής επιβίωσης, είναι μείζονος σημασίας για την αντιμετώπιση της ΙΚΝ.



7.5. ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

Η διαδικασία της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας είναι ένας μηχανισμός, ο οποίος, εκτός από την περιοχή της βλάβης, επηρεάζει και την απομακρυσμένη περιοχή. Οι διάφορες μελέτες που έχουν γίνει, εστιάζονται κυρίως στα ΜΚΚ, κυρίως λόγω του ότι αυτά απαρτίζουν το μεγαλύτερο



Εξίσωση La Place

ποσοστό στη μάζα του μυοκαρδίου και ρυθμίζουν τη συσταλτικότητά του, ενώ το ερευνητικό ενδιαφέρον για τον υπόλοιπο κυτταρικό πληθυσμό, όπως τους ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά και τα λεία μυϊκά κύτταρα είναι ακόμα μειωμένο. Με την εξίσωση La Place [$T=P \times (r/h)$], περιγράφεται η αύξηση του τοιχωματικού στρες που εμφανίζεται κατά την περίοδο της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας. Σύμφωνα με την εξίσωση, το περιφερειακό τοιχωματικό στρες (T) ισούται με την διατοιχωματική διαστατική πίεση (P) επί την ακτίνα της κοιλότητας της κοιλίας (r) δια το πάχος του τοιχώματος (h). Έτσι, αύξηση της ακτίνας (r) ή/ και της πίεσης (P), οδηγεί σε αύξηση του τοιχωματικού στρες (T).

Σαν απάντηση η καρδιά, προκειμένου να εξισορροπήσει την αύξηση αυτή, αυξάνει το πάχος του τοιχώματος (h) με αποτέλεσμα την πρόκληση αντισταθμιστικής υπερτροφίας. Λόγω της χωροδιάταξης των καρδιακών μυοκυττάρων στην αριστερή κοιλία, οποιαδήποτε αλλαγή στο μήκος τους, προκαλεί αντίστοιχη μεταβολή στις διαστάσεις του (r), ενώ οποιαδήποτε μεταβολή στο πάχος τους (διάμετρος), προκαλεί μεταβολή στο (h). Συνεπώς, οποιεσδήποτε μεταβολές στο μέγεθος, το σχήμα, τη συσταλτικότητα και την πυκνότητά τους (κυτταρικός θάνατος), επηρεάζουν άμεσα την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας μέσω της εξίσωσης La Place.

Η υπερβολική ή η παρατεταμένη υπερτροφία των μυοκυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, καθώς είναι άμεσα σχετιζόμενη με μειωμένη ελαστικότητα του μυοκαρδίου, ίνωση και αρρυθμίες που μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και στο θάνατο²⁹²⁻²⁹⁴. Ωστόσο, έως σήμερα, το σημείο στο οποίο η υπερτροφία ξεπερνάει τα όρια της προσαρμοστικής

διαδικασίας και μεταπίπτει σε παθολογική κατάσταση με τα παραπάνω συμπτώματα, παραμένει ακαθόριστο.

Συνήθως, το "εναρκτήριο λάκτισμα" στην υπερτροφική διαδικασία, προέρχεται από μηχανικά αίτια, όπως η αιμοδυναμική υπερφόρτωση (hemodynamic overload), ενώ στη συνέχεια τη σκυτάλη παίρνουν διάφορες ορμόνες και κυτοκίνες²⁹⁵⁻²⁹⁷. Η μεταφορά του σήματος από τον εξωκυττάριο χώρο, στο κυτταρόπλασμα και στη συνέχεια στον πυρήνα των μυοκυττάρων γίνεται μέσω κάποιων διαμεμβρανικών υποδοχέων, που ονομάζονται Ιντεγκρίνες^{298,299}, οι οποίες ενεργοποιούν μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων στο εσωτερικό των κυττάρων, που ως αποτέλεσμα έχουν ένα γονιδιακό επαναπρογραμματισμό. Τα γονίδια που αρχίζουν να εκφράζονται, συνθέτουν διάφορες πρωτεΐνες, οι οποίες επηρεάζουν τη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου δημιουργώντας και αναδιαμορφώνοντας σαρκομερίδια με άμεση συνέπεια τη μεταβολή στο σχήμα και τη μορφολογία των ΜΚΚ^{300,301}. Στην πρώιμη φάση της υπερτροφίας, όπου δεν υπάρχει ακόμα διάταση της αριστερής κοιλίας, παρατηρείται μια αύξηση στο μήκος και στη διάμετρο των μυοκυττάρων. Όταν η υπερτροφία αρχίσει να αναπτύσσεται έκκεντρα, τότε το μήκος και η διάμετρος των κυττάρων αυξάνουν αναλογικά, δημιουργώντας μία ισορροπία μεταξύ της αύξησης του πάχους των τοιχωμάτων και του όγκου της αριστερής κοιλίας. Όταν αυτή η ισορροπία διαταραχθεί και τα μυοκύτταρα αρχίσουν να αυξάνουν δυσανάλογα το μήκος τους σε σχέση με τη διάμετρό τους, τότε και η ισορροπία μεταξύ πάχους και διάστασης (όγκου) της αριστερής κοιλίας χάνεται και αρχίζει η μετάβαση προς την καρδιακή ανεπάρκεια.

Τα παραπάνω, υποδεικνύουν ένα μηχανισμό σύμφωνα με τον οποίο τα καρδιακά μυοκύτταρα, αναδιαμορφώνουν δραστικά τα μυοϊνίδιά τους και συνθέτουν νέα σαρκομερίδια, οργανώνοντάς τα είτε παράλληλα για να αυξήσουν τη διάμετρό τους, είτε σε σειρά για να αυξήσουν το μήκος τους³⁰². Ωστόσο, ο βαθμός διάστασης της αριστερής κοιλίας, ναι μεν εξαρτάται από το ποσοστό της επιμήκυνσης των κυττάρων, αλλά η μετακίνησή τους (slippage) μαζί με τα διάμεσα (interstitial) δομικά τους στοιχεία καθώς και η εξ ολοκλήρου αναδιοργάνωση του μυϊκού ιστού φαίνεται να είναι καθοριστικής σημασίας για τη διαδικασία της αναδιαμόρφωσης.

Επιπρόσθετα, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις μέσα από πειραματικές μελέτες, για την εισαγωγή ΜΚΚ (πιθανόν ώριμα ΜΚΚ, μυοβλάστες και



παρακείμενα καρδιακά βλαστικά κύτταρα ή βλαστικά κύτταρα μέσω του κυκλοφορικού) στον κυτταρικό κύκλο μετά από OEM, καθώς η έκφραση γονιδίων όπως οι κυκλίνες E, A και B και οι αντίστοιχες κινάσες τους αυξάνονται σημαντικά, παράλληλα με μια παρατηρούμενη αύξηση στην αντιγραφή DNA, στην καρυοκίνηση και την κυτοκίνηση³⁰³. Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός λαμβάνει χώρα στην απομακρυσμένη περιοχή και την οριακή ζώνη, όπου και διατηρείται η παροχή αίματος μετά το OEM. Αρκετά από τα δεδομένα για τον πολλαπλασιασμό των MKK μετά από OEM έχουν στηριχθεί στην παραδοχή ότι τα MKK είναι μονοπύρηννα κύτταρα, οπότε μια αύξηση του αριθμού των πυρήνων θα ισοδυναμούσε με αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Το 20% όμως περίπου των MKK έχουν δυο πυρήνες, και αν λάβουμε υπ' όψιν ότι η κατανομή μονοπύρηννων MKK/ διπύρηννων MKK δεν είναι ομοιογενής, τότε αντιλαμβανόμαστε ότι θα πρέπει να γίνει διαχωρισμός μεταξύ καρυοκίνησης (karyokinesis) (όπου αυξάνεται ο αριθμός των πυρήνων αλλά όχι ο αριθμός των κυττάρων) και κυτοκίνησης (cytokinesis) (όπου αυξάνεται ο αριθμός των MKK, χωρίς να αλλάζει η αναλογία μονοπύρηννων/διπύρηννων).



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η αυξημένη παραγωγή ενδοθηλίνης-1 είναι πιθανό να συμβάλλει στη πρόκληση κακοήθων κοιλιακών αρρυθμιών κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης του εμφράγματος του μυοκαρδίου^{110,111}. Η ενδοθηλίνη-1 έχει σημαντικές ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες, παρατείνοντας τη διάρκεια του μονοφασικού δυναμικού ενέργειας σε απομονωμένα παρασκευάσματα κοιλιακού μυοκαρδίου επίμυων^{162,163}. Σε πειραματικές μελέτες in vivo, βρέθηκε ότι η ενδογενώς παραγόμενη ενδοθηλίνη-1 κατά τη διάρκεια ισχαιμίας έχει προαρρυθμική δράση, ενώ η ενδοπερικαρδιακή έγχυση ενδοθηλίνης-1 σε σκύλους προκαλούσε πολύμορφη κοιλιακή ταχυκαρδία, ανεξάρτητα από την ύπαρξη ισχαιμίας^{130,164,165}.

Όμως, η επίδραση της ενδοθηλίνης-1 στην εμφάνιση κακοήθων κοιλιακών αρρυθμιών δεν είναι καλά διευκρινισμένη και υπάρχουν πολλά αντικρουόμενα δεδομένα. Σκοπός της μελέτης μας ήταν η περαιτέρω διερεύνηση του παθοφυσιολογικού ρόλου της ενδοθηλίνης-1 στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Ειδικότερα, εξετάσαμε την επίδραση της οξείας χορήγησης ενός εκλεκτικού ανταγωνιστή των υποδοχέων ETA της ενδοθηλίνης-1 (BQ-123), και ενός μικτού ανταγωνιστή ETA/ETB (bosentan) στην αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και στις ισχαιμικές κοιλιακές αρρυθμίες, σε ένα πειραματικό πρότυπο οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου σε επίμυες. Αξίζει να σημειωθεί, ότι για την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας υπολογίστηκε το μέγεθος του εμφράγματος, που αποτελεί και τον κυριότερο δείκτη της τις πρώτες 24 ώρες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα οι υπόλοιποι δείκτες (λέπτυνση και διάταση της εμφραγματικής ζώνης), ωστόσο, η μέτρηση τέτοιων δεικτών τόσο πρώιμα όσο είναι οι 24 ώρες μετά το OEM, θα είχαν μικρή αξία για τη μελέτη μας.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8°

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

8.1. ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΙΔΟΥΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΟΥ

Το είδος του πειραματόζωου που επιλέξαμε για τον έλεγχο της επίδρασης της ενδοθηλίνης στις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες της αριστεράς κοιλίας μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι ο επίμυς του γένους Wistar.

Η πειραματική απόφραξη της στεφανιαίας κυκλοφορίας μελετήθηκε, αρχικά, μόνο σε μεγάλα ζώα, όπως ο σκύλος, ο χοίρος ή το πρόβατο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η ανατομία της καρδιάς των ζώων αυτών προσομοιάζει ιδιαίτερα σε αυτή του ανθρώπου.

Παρά το γεγονός αυτό, όμως, οι μελέτες στη φυσιολογία, στην παθολογία ή στη φαρμακολογία της στεφανιαίας κυκλοφορίας χρειάζονται ένα σημαντικό αριθμό πειραματόζωων προκειμένου να γίνουν εμφανείς στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Η χρήση, λοιπόν, μεγάλων ζώων έχει μεγάλο οικονομικό κόστος, τόσο για την απόκτησή τους ή την αναπαραγωγή τους όσο και για τη φιλοξενία τους στο πειραματικό εργαστήριο. Επιπλέον, οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι περισσότερο χρονοβόρες και δύσκολες και απαιτούν τη χρήση πολλών και ακριβών υλικών για τη διεκπεραίωσή τους.

Έτσι, η πειραματική καρδιολογία στράφηκε από πολύ νωρίς και σε άλλες λύσεις, όπως ο επίμυς, το πρότυπο που χρησιμοποιούμε και στο εργαστήριό μας. Ο επίμυς, αναπαράγεται και διατηρείται στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου μας με μικρό κόστος.

Η πρώιμη μετεμφραγματική περίοδος στους επίμυες παρουσιάζει δύο διακριτές χρονικές περιόδους που εμφανίζουν υψηλό ποσοστό επεισοδίων κοιλιακής ταχυκαρδίας και μαρμαρυγής, όπως συμβαίνει και στον άνθρωπο



Εκτός από τις ηλεκτροφυσιολογικές αυτές ομοιότητες, οι επίμυες παρέχουν ένα μοντέλο αξιόπιστο και επαναλήψιμο, με μικρές διακυμάνσεις στο προκαλούμενο μέγεθος του εμφράγματος. Για παράδειγμα, αν και οι μελέτες σε σκύλους έχουν προσφέρει πολύ στην βασική έρευνα, αυτό το μοντέλο παρουσιάζει σημαντικές διαφορές στη στεφανιαία ανατομία και το μέγεθος της παράπλευρης κυκλοφορίας, έχοντας ως αποτέλεσμα και ουσιαστικές διαφορές στη διατοιχωματικότητα και την έκταση των προκληθέντων εμφραγμάτων ^{166,167}. Αντιθέτως, στους επίμυες προκαλείται μεγάλο διατοιχωματικό έμφραγμα με σταθερό και αναπαραγώγιμο τρόπο εξαιτίας της έλλειψης σημαντικής παράπλευρης κυκλοφορίας. Ακόμη και μικρές διαφορές στην παράπλευρη κυκλοφορία προκαλούν σημαντικές διαφορές στην αρρυθμιογένεση, ασκώντας σημαντικότερη επίδραση και από το ίδιο το μέγεθος της ισχαιμικής περιοχής ¹⁶⁶.

Ένας πρόσθετος παράγοντας που καθιστά την επιλογή των επιμύων ιδανική είναι η ιδιότητά τους να εμφανίζουν συχνά κοιλιακές αρρυθμίες κατά τη διάρκεια ισχαιμίας, αλλά χωρίς αυτές να είναι σε υψηλό ποσοστό θανατηφόρες ^{102,168}. Αυτό το φαινόμενο έχει συνδεθεί με το μικρό μέγεθος της καρδιάς και τις ηλεκτροφυσιολογικές της ιδιότητες, την ηλικία του ζώου και την κατάσταση του αυτόνομου νευρικού συστήματος ¹⁶⁹. Έτσι, είναι εφικτή η μελέτη πολλών επεισοδίων κοιλιακών αρρυθμιών με μικρό αριθμό πειραματόζων, αφού τα επεισόδια αυτά αυτοτερματίζονται σε ποσοστό μέχρι και 97% ¹⁰².

Επίσης, σημαντικό ρόλο παίζει και το γένος του επίμυος. Οι Sprague-Dawley επίμυες εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερα μεγέθη εμφράγματος αλλά και ποσοστά θνητότητας, σε σχέση με τους Wistar, με αποτέλεσμα η χρήση τους να περιορίζει σημαντικά τη μελέτη της δεύτερης αρρυθμιογόνου φάσης μετά το έμφραγμα, αλλά και να απαιτεί και μεγαλύτερο αριθμό πειραματόζων ¹⁶⁸.

Επιπλέον, είναι σημαντικό να τονίσουμε ότι η τεχνική που θα περιγράψουμε είναι απλή, μικρού κόστους και παράγει επαναλαμβανόμενου μεγέθους εμφράγματα.



8.2. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΩΝ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ ΣΤΟΝ ΕΠΙΜΥ

Οι δύο στεφανιαίες αρτηρίες αμέσως μετά την έκφυσή τους από την αορτή εισχωρούν στο μυοκάρδιο και περιβάλλονται από αυτό καθ' όλη τη διαδρομή τους. Λόγω του γεγονότος αυτού και του μικρού μεγέθους τους είναι δύσκολο, αν όχι αδύνατο να διακριθούν, ακόμη και με τη χρήση μικροσκοπίου.

Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούμε συγκεκριμένα οδηγία ανατομικά σημεία για την απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας. Συγκεκριμένα, η τελευταία εκφύεται από την αορτή και ανάμεσα από την αριστερή πλευρά του πνευμονικού κώνου και το ωτίο του αριστερού κόλπου¹⁷⁰. Έτσι, η απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας σε σημείο κοντά στην έκφυσή της επιτυγχάνεται με την είσοδο μιας βελόνης στο τοίχωμα του πνευμονικού κώνου και την έξοδό της κοντά στο ωτίο του αριστερού κόλπου. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ο επίμυς δεν έχει αληθή περισπώμενο κλάδο. Η στεφανιαία κυκλοφορία γίνεται στο μεγαλύτερο ποσοστό από έναν κύριο κλάδο, ο οποίος διχάζεται κοντά στην κορυφή της καρδιάς. Υπάρχουν και αρκετοί πολύ μικροί κλάδοι που εκφύονται από την αριστερή στεφανιαία, που όμως δεν είναι αξιοσημείωτοι.

Αντίστοιχα με την αριστερή στεφανιαία αρτηρία, η δεξιά πορεύεται μεταξύ του δεξιού χείλους του πνευμονικού κώνου και το δεξιό πνευμονικό ωτίο.



8.3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ

Η μελέτη διενεργήθηκε σε 90 θηλυκούς επίμους του γένους Wistar, ηλικίας 20 ± 2 εβδομάδων και βάρους 200-250 γραμμαρίων. Τα πειραματόζωα έλαβαν την κατάλληλη φροντίδα και το πρωτόκολλο συμβαδίζει με τον οδηγό για τη φροντίδα και χρήση εργαστηριακών ζώων που έχει εκδοθεί από το US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996). Όλοι οι επίμους παρέμειναν σε ένα ελεγχόμενο περιβάλλον, με σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και 12ώρη εναλλαγή φωτός-σκότους, ενώ η πρόσβασή τους σε τροφή και νερό ήταν ελεύθερη.

Για την ασφαλέστερη εξαγωγή συμπερασμάτων από τη δράση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 η μελέτη διενεργήθηκε σε δύο μέρη.

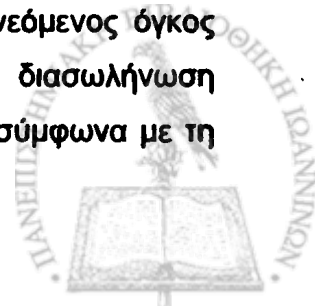
A) Στο πρώτο μέρος αναλύθηκε η επίδραση του εκλεκτικού ανταγωνιστή των υποδοχέων ETA BQ-123, ενώ

B) στο δεύτερο κομμάτι της μελέτης δοκιμάστηκε ο μικτός ανταγωνιστής των υποδοχέων ETA/ETB bosentan.

8.3.1. Αναισθησία

Οι επίμους τοποθετούνταν σε έναν κλωβό εμποτισμένο με αιθέρα, όπου παρέμεναν για δύο με τρία λεπτά. Έτσι, οι επίμους αναισθητοποιούνταν για βραχύ χρονικό διάστημα μέχρι να γίνει διασωλήνωση και εισαγωγή σε μίγμα πτητικού αναισθητικού.

Η διασωλήνωση γινόταν υπό λαρυγγοσκόπηση με εισαγωγή ενός φλεβικού καθετήρα 16G, που συνδεόταν με έναν αναπνευστήρα μικρών ζώων (Harvard Apparatus, ΗΠΑ), στις ακόλουθες ρυθμίσεις: εισπνεόμενος όγκος αέρα=3ml, συχνότητα=70 αναπνοές/λεπτό. Η ενδοτραχειακή διασωλήνωση επιβεβαιωνόταν με την έκπτυξη του θωρακικού τοιχώματος, σύμφωνα με τη



συχρότητα του αναπνευστήρα. Τα πειραματόζωα παρέμεναν υπό αναισθησία με ένα μίγμα 100% O₂ και 2% ισοφλουράνιο.



Εικ. 9 Παράδειγμα διασωληνωμένου επίμους

Το πειραματικό πρότυπο χρόνιου εμφράγματος του μυοκαρδίου (EM) με απολίνωση του προσθίου κατιόντος κλάδου σε επίμους είναι πολύ εύχρηστο και διαδεδομένο, λόγω αρκετών ομοιοτήτων στη φυσιολογία του κυκλοφορικού μεταξύ επίμους και ανθρώπου. Όμως, στη βιβλιογραφία αναφέρονται πολλές παραλλαγές. Η επιλογή του τρόπου αναισθησίας επιλέχθηκε μετά από σύγκριση διαφόρων παραλλαγών του πειραματικού αυτού προτύπου και ανακοινώθηκε από την ομάδα μας στο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο το 2003¹⁷¹.

Συγκεκριμένα, συγκρίθηκαν πέντε πειραματικά πρότυπα (πίνακας) με διαφορές ως προς τρία σημεία: (i) τον αερισμό μέσω τραχειοτομίας (TR) ή διασωλήσωσης (Δ), με ή χωρίς οξυγόνο (O_2) (ii) την αναισθησία είτε με ενδομυϊκή χορήγηση κεταμίνης με μιδαζολάμη (K-M) είτε με αέριο ισοφλουράνιο (ΙΣΟΦ), και (iii) την προσπέλαση ,μεταξύ μέσης στερνοτομής (ΜΣ) και πλάγιας θωρακοτομής (ΠΘ). Καταγραφόταν η χρονική διάρκεια και η διεγχειρητική θνητότητα από την έναρξη του πειράματος μέχρι την αφύπνιση του πειραματόζωου. Η σύγκριση έγινε με τη δοκιμασία κατά Kruskal-Wallis όπως επίσης και με ANOVA, ακολουθούμενη από τη δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων κατά Tukey.

- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: (Βλέπε Πίνακα)

Μελετήθηκαν 80 επίμους και των δύο φύλων, βάρους $240 \pm 25g$. Η διάρκεια ($p < 0.001$) και η θνητότητα ($\chi^2 = 23.9$, $p = 0.001$) ήταν σημαντικά μικρότερες στο πρότυπο 5 σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα τα οποία δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους.



- ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΑΙ ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ

ΠΡΟΤΥΠΟ	ΑΕΡΙΣ ΜΟΣ	ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	ΠΡΟΣΠΕΛΑΣΗ	N	ΔΙΑΡΚΕΙΑ (h)	ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ (%)
1	TP-ΑΕΡ	K-M	MΣ	5	-	100
2	TP-ΑΕΡ	K-M	ΠΘ	15	4+/-0.7	66
3	TP-O2	K-M	ΠΘ	20	4+/-0.9	65
4	Δ-O2	K-M	ΠΘ	20	4.3+/-0.6	70
5	Δ-O2	ΙΣΟΦ	ΠΘ	20	0.4+/-0.07	5

- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το πειραματικό πρότυπο χρόνιου εμφράγματος του μυοκαρδίου σε επίμυες, που περιλαμβάνει πλάγια θωρακοτομή, διασωλήνωση και χορήγηση μίγματος O₂ και ισοφλουρανίου είναι το πιο σύντομο και συνδυάζεται με τη μικρότερη διεγχειρητική θνητότητα. Τα ευρήματα αυτά ήταν ιδιαίτερα σημαντικά για την αξιολόγηση και την επιλογή του καλύτερου πειραματικού προτύπου.

Μάλιστα, όσον αφορά την επιλογή της αναισθησίας κατέδειξε σαφώς ότι το αέριο μίγμα O₂-Ισοφλουρανίου αποτελεί την καλύτερη επιλογή, καθώς συνδυάζεται με μικρότερη θνητότητα σε σύγκριση με την χορήγηση του ενδομυϊκού μίγματος κεταμίνης με μιδαζολάμη. Τούτο πιθανώς να οφείλεται στο γρηγορότερο μεταβολισμό του Ισοφλουρανίου, που έχει σαν αποτέλεσμα πολύ μικρότερη επίδραση της αναισθησίας στον επίμυ, ιδιαίτερα μετά την πρόκληση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου.



8.3.2. ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ

Μετά από αριστερή πλάγια θωρακοτομή, οι στιβάδες των θωρακικών μυών διαχωρίζονταν, αποκαλύπτοντας τον θωρακικό κλωβό ^{170,172}. Αν συνέβαινε τραυματισμός της έσω μαστικής αρτηρίας, η αιμορραγία σταματούσε με την εφαρμογή ήπιας πίεσης. Με τη βοήθεια μιας κυρτής λαβίδας, τέμνονταν οι μεσοπλεύριοι μύες (ανάμεσα στην 5η και 6η πλευρά), περίπου 2 cm αριστερά του στέρνου, έτσι ώστε να αποφεύγεται η αιμορραγία από την έσω επιγαστρική αρτηρία. Το χάσμα που δημιουργείτο, διανοιγόταν με ήπιες πιεστικές κινήσεις με την κυρτή λαβίδα. Η 6^η πλευρά τέμνονταν με ψαλίδι και σε περίπτωση που ακολουθούσε αιμορραγία, αυτή ελεγχόταν με την εφαρμογή ήπιας πίεσης με γάζα για λίγα δευτερόλεπτα.

Με τη βοήθεια λαβίδων, διαχωριζόταν το περικάρδιο. Ένα ράμμα 6-0 (ethicon) τοποθετούνταν στην κορυφή της καρδιάς, έτσι ώστε αυτή να ακινητοποιείται στη θωρακική κοιλότητα. Ένα ράμμα 6-0 (ethicon) εισαγόταν από την περιοχή έκφυσης του κώνου της πνευμονικής αρτηρίας, μέχρι την περιοχή του ωτίου του αριστερού κόλπου και ακολουθούσε περισφιγή του ράμματος (εικόνα 2). Έτσι, η αριστερή στεφανιαία αρτηρία αποφρασσόταν κοντά στην έκφυσή της, προκαλώντας μεγάλης έκτασης έμφραγμα. Η απολίνωση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας ακολουθώντας αυτά τα ανατομικά όρια που αναφέραμε και στο κεφάλαιο 8.2., εξασφαλίζει υψηλή επαναληψιμότητα της μεθόδου, στην πρόκληση παρόμοιου μεγέθους εμφράγματος του μυοκαρδίου ^{170,172}.

Ακολούθως, το θωρακικό τοίχωμα συρράπτονταν κατά δύο στρώματα και εφαρμοζόταν ελαφρά αμφοτερόπλευρη πίεση για την εξαγωγή του αέρα από το θώρακα. Επειδή το δέρμα, ο υποδόριος ιστός, και οι μύες λειτουργούν σαν βαλβίδα, η πίεση βοηθούσε στην αποφυγή σημαντικού πνευμοθώρακα. Μετά την πρόκληση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου σε επίμυες παρατηρούνται αλλαγές τόσο όσον αφορά τη λειτουργικότητα της αριστερής κοιλίας όσο και στη μορφολογία της.



Συνέπειες από την πρόκληση εμφράγματος στους επίμυες.

Συγκεκριμένα, αμέσως μετά την απόφραξη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας παρατηρείται μείωση της κινητικότητας της αριστερής κοιλίας, ορατή με γυμνό μάτι, καθώς και αλλαγή του χρώματος της περιοχής.

Επιπλέον, παρατηρούνται αλλαγές και στην ηλεκτρική δραστηριότητα που αναλύονται στη συνέχεια.

Χορήγηση του φαρμάκου:

A) Στο πρώτο μέρος της μελέτης

Πέντε λεπτά πριν από την πρόκληση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, γινόταν τυχαιοποίηση των πειραματόζων με αναλογία 1:1, για την χορήγηση είτε φυσιολογικού ορού, είτε BQ-123, ενός εκλεκτικού ανταγωνιστή των υποδοχέων-A της ενδοθηλίνης-1. Η δόση του φαρμάκου ήταν 0.4mg/kg και χορηγούνταν με βραδεία έγχυση στην αριστερά κοιλία, αναστέλλοντας έτσι άμεσα τους υποδοχείς-A της ενδοθηλίνης-1. Αυτή η οδός χορήγησης παρακάμπτει τις τεχνικές δυσκολίες της ενδοφλέβιας χορήγησης και χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις όπου είναι επιθυμητό άμεσο φαρμακευτικό αποτέλεσμα ¹⁷³. Η αιμορραγία από το σημείο παρακέντησης της αριστεράς κοιλίας σταματούσε πολύ γρήγορα με την εφαρμογή ήπιας πίεσης με τολύπιο.

B) Στο δεύτερο μέρος της μελέτης

Μία εβδομάδα πριν την πρόκληση του OEM γινόταν τυχαιοποίηση των πειραματόζων για να λάβουν είτε φυσιολογικό ορό είτε bosentan, έναν διπλό ανταγωνιστή των υποδοχέων ETA/ETB της ET-1. Η δόση του φαρμάκου ήταν 100mg/kg/ημέρα ¹⁷⁴ και χορηγούνταν από του στόματος. Ο τρόπος αυτός χορήγησης επιλέχτηκε προκειμένου να εξασφαλιστεί ο επαρκής αποκλεισμός των υποδοχέων της ET-1.



8.3.3. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HOLTER

Σε όλους τους επίμους, είκοσι τέσσερις ώρες πριν την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου τοποθετήθηκε σύστημα holter. Πρόκειται για ένα σύστημα που αποτελείται από έναν πομπό που εμφυτεύεται στην περιτοναϊκή κοιλότητα του ζώου, ικανό να μεταδίδει ηλεκτροκαρδιογραφικό σήμα αδιάκοπα, και από μια επιφάνεια-δέκτη, η οποία τοποθετείται κάτω από το κλουβί του επίμου. Οι περισσότερες μελέτες έως τώρα μελετούσαν την επίδραση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 μελετήθηκαν μόνο για τις πρώτες 3 ώρες από την πρόκληση του εμφράγματος ή μετά από επαναιμάτωση. Πάντοτε ,όμως το πειραματόζωο ήταν αναισθητοποιημένο. Διαλέξαμε αυτό το πρότυπο για να αποφύγουμε τις αλληλεπιδράσεις από την αναισθησία, αλλά και γιατί ο μηχανισμός αρρυθμιογένεσης μετά από επαναιμάτωση είναι διαφορετικός ¹⁷⁵.

Η ασύρματη αυτή παρακολούθηση του καρδιακού ρυθμού επιτρέπει την πολύωρη καταγραφή των ΗΚΓ σημάτων, χωρίς την επίδραση της αναισθησίας, η οποία επηρεάζει την εμφάνιση των κοιλιακών αρρυθμιών μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου ¹⁷⁶, μέσω της επίδρασής της στις συγκεντρώσεις καλίου (αύξηση) και στο αυτόνομο νευρικό σύστημα.

Με τη συνεχή παροχή ΗΚΓ σήματος από τον εμφυτευμένο πομπό στην πλάκα-δέκτη, τα δεδομένα μεταφέρονται στην μνήμη ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή, με τη βοήθεια του οποίου είναι δυνατή η αποθήκευση και επεξεργασία τους. Μετά την εμφύτευση του πομπού, ελεγχόταν η καταγραφή και πιστοποιείτο η λήψη ικανοποιητικού σήματος.

Η διαδικασία της εμφύτευσης ξεκινά μετά την αναισθητοποίηση του ζώου. Γίνεται μέση τομή στην κοιλιακή χώρα, διάνοιξη της περιτοναϊκής κοιλότητας και τοποθέτηση σε αυτήν ενός ειδικού πομπού (TA11CA-F40 Data Sciences International), ο οποίος διαθέτει δύο ανοξείδωτα καλώδια, τα οποία καλύπτονται από σιλικόνη σε όλο το μήκος τους, εκτός από τα 1 με 2 τελικά cm. Τα δύο αυτά άκρα χρησιμεύουν ως τα ηλεκτρόδια του συστήματος. Έτσι, αυτά οδηγούνται υποδόρια σε θέση V₄-V₅ το θετικό και κάτω από τη δεξιά κλείδα το αρνητικό, όπου και σταθεροποιούνται με λεπτά ράμματα. Κατόπιν, ο



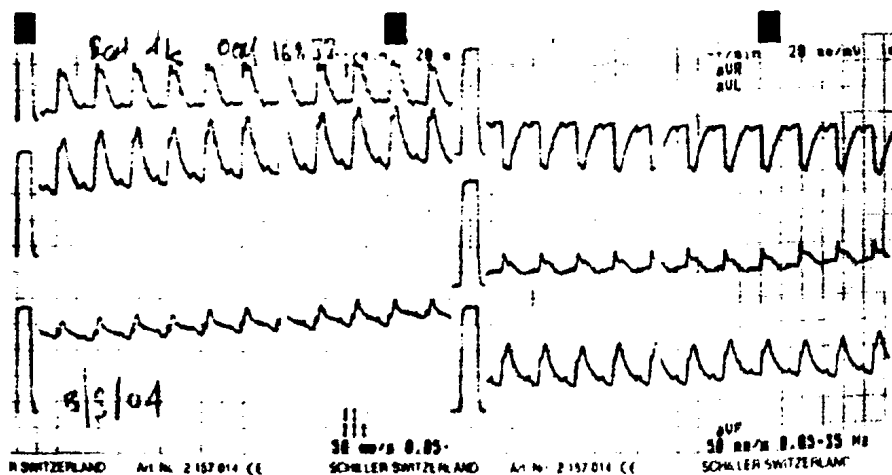
επίμυς τοποθετείται σε ατομικό κλουβί που βρίσκεται άνωθεν της ειδικής πλάκας-δέκτη (RPC-1, Data Sciences International).

Το λαμβανόμενο ΗΚΓ σήμα στη συνέχεια ενισχύεται και ψηφιοποιείται. Μετά από μετατροπή πάλι σε αναλογικό σήμα και φιλτράρισμα στα 100 Hz (Data Exchange Matrix, Data Sciences International), ένα συνεχές ρεύμα δεδομένων παρέχεται στον ηλεκτρονικό υπολογιστή. Με τη βοήθεια ειδικού προγράμματος (Dataquest Acquisition & Analysis System ART 2.2, Data Sciences International), η ψηφιοποίηση γίνεται με ακρίβεια 16 bit και το ΗΚΓ μπορεί να αναπαρασταθεί σε πραγματικό χρόνο με δειγματοληψία 500 Hz, ενώ ταυτόχρονα τα δεδομένα αποθηκεύονται για περαιτέρω ανάλυση.

Η καταγραφή του ΗΚΓ για κάθε επίμυ διήρκεσε 48 ώρες, ξεκινώντας 24 ώρες πριν την απολίνωση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας και τελειώνοντας 24 ώρες μετά.

8.3.4. Λήψη ΗΚΓ και αφύπνιση

Μετά τη συρραφή του δέρματος, γινόταν ηλεκτροκαρδιογραφική καταγραφή των απαγωγών I, II, III, aVR, aVL, aVF. Η ύπαρξη ανασπάσεων του ST διαστήματος, σε δύο ή περισσότερες απαγωγές, αποτελούσε απόδειξη πρόκλησης οξέος εμφράγματος (Εικ.10). Μετά την ολοκλήρωση της επέμβασης, διακόπτονταν η χορήγηση ισοφλουρανίου και οι επίμυες επανακτούσαν τις αισθήσεις τους μέσα σε λίγα λεπτά.



Εικ. 10 Παράδειγμα ΗΚΓ μετά την πρόκληση OEM. Παρατηρείται μεγάλη ανόσπωση του διαστήματος ST στις απαγωγές I,II,III,aVL,aVF και την



κατάσπαση του διαστήματος ST στην απαγωγή aVR.

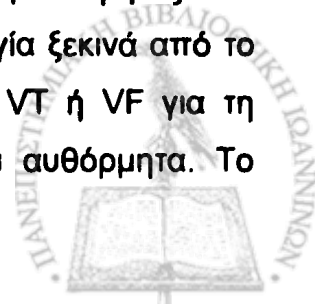
8.3.5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΡΡΥΘΜΙΩΝ

Τα ΗΚΓ σήματα που αποθηκεύτηκαν, αναλύθηκαν ανεξάρτητα από δύο εξεταστές, χωρίς επίγνωση της αγωγής που χορηγήθηκε σε κάθε ζώο και σύμφωνα με τις οδηγίες του Lambeth Conventions¹⁷⁷. Κοιλιακή ταχυκαρδία (VT) ορίστηκε η εμφάνιση 4 ή περισσότερων διαδοχικών πρώιμων παλμών (πρώιμα συμπλέγματα QRS σε σχέση με το κύμα P). Κοιλιακή μαρμαρυγή (VF) ορίστηκε η εμφάνιση ενός σήματος που αλλάζει από κύκλο σε κύκλο ως προς τη συχνότητα και τη μορφολογία ή ενός σήματος στο οποίο τα διάφορα συμπλέγματα QRS δεν μπορούν να ξεχωρίσουν μεταξύ τους. Ακόμη και με αυτά τα κριτήρια, είναι συχνά δύσκολο να διακριθεί η VT από τη VF, λαμβάνοντας υπόψη ότι πολλές φορές οι δύο αρρυθμίες μπορούν να μεταπέσουν η μία στην άλλη, χωρίς σαφές όριο μεταξύ τους¹⁰². Έτσι, υπολογίστηκε το άθροισμα των επεισοδίων VT+VF για κάθε πειραματόζωο. Η διάρκεια κάθε επεισοδίου καθορίστηκε με τη βοήθεια της βαθμολογημένης κλίμακας που παρέχει το λογισμικό.

Για να ληφθεί υπόψη ο διαφορετικός χρόνος επιβίωσης των ζώων, η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με δύο τρόπους.

Με τον πρώτο, τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή ανά ώρα ανά επίμυ. Έτσι, ο αριθμός των επεισοδίων ή η διάρκεια αυτών διαιρείται με το χρόνο επιβίωσης του αντίστοιχου ζώου, που αντιστοιχεί και στο χρόνο κατά τον οποίο βρίσκεται ουσιαστικά σε κίνδυνο να αναπτύξει αρρυθμία. Επίσης, εφόσον διαφορετικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί είναι υπεύθυνοι για τις δύο διακριτές, έντονα αρρυθμιογόνες περιόδους που ακολουθούν την απόφραξη ενός στεφανιαίου αγγείου, η ανάλυση έγινε ξεχωριστά για κάθε μία από αυτές.

Ο δεύτερος τρόπος, χρησιμοποιεί το «αρρυθμικό σκορ»¹⁷⁸. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί ένα σύστημα βαθμονόμησης των αρρυθμιών που λαμβάνουν χώρα σε μια συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Αφού στη μελέτη μας δεν μετρήθηκαν οι μεμονωμένες έκτακτες συστολές, η βαθμολογία ξεκινά από το 2, το οποίο αφορά στην εμφάνιση ενός μόνο επεισοδίου VT ή VF για τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο, το οποίο αυτοτερματίζεται αυθόρμητα. Το

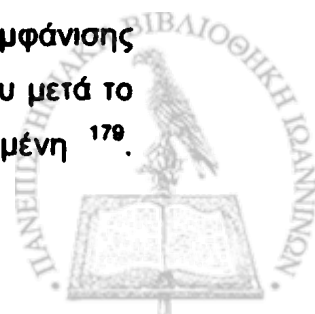


σκορ 3 δίνεται στην περίπτωση που υπάρχουν πάνω από 1 επεισόδια VT ή VF, με συνολική διάρκεια κάτω από 60 sec, το 4 όταν η διάρκειά τους είναι μεταξύ 60 και 119 sec, ενώ το 5 όταν η διάρκειά τους υπερβαίνει τα 119 sec. Το σκορ 6 αναλογεί στην περίπτωση που το πειραματόζωο εμφανίζει θανατηφόρο VF που ξεκινά τουλάχιστον 15 λεπτά μετά την απόφραξη, το 7 όταν αυτή ξεκινά μεταξύ 4 λεπτών και 14 λεπτών και 59 sec, το 8 όταν ξεκινά μεταξύ πρώτου λεπτού και τριών λεπτών και 59 sec, ενώ το 9 στην περίπτωση που η μοιραία VF ξεκινά το πρώτο λεπτό μετά την απόφραξη. Το μέσο αρρυθμικό σκορ υπολογίστηκε για 4 μετεμφραγματικές χρονικές περιόδους, 0-1 ώρα, 1-6, 6-12 και 12-24 ώρες μετά το ΕΜ. Όταν κάποιος επίμυς κατέληγε, βαθμολογούνταν με 9 για τις επόμενες από αυτή του θανάτου χρονικές περιόδους.

Θάνατος από ταχυκαρδία ορίστηκε αυτός που προκύπτει από κοιλιακή ασυστολία ως ακόλουθο εμμένουσας κοιλιακής μαρμαρυγής, ενώ θάνατος από βραδυκαρδία ορίστηκε αυτός που προκύπτει από κοιλιακή ασυστολία ως ακόλουθο βραδυκαρδίας (<200 παλμοί/λεπτό) με πλήρη κολποκοιλιακό αποκλεισμό.

Οι κοιλιακές αρρυθμίες αναλύθηκαν με τη βοήθεια ειδικού λογισμικού προγράμματος (Data Sciences International, ΗΠΑ). Αναλυόταν το σήμα αυτό καθ' όλη τη διάρκεια των πρώτων 24 ωρών μετά το οξύ έμφραγμα. Μετρήθηκε ο αριθμός των μονήρων εκτάκτων κοιλιακών συστολών, των ζευγών και των τριπλετών. Επιπλέον, μετρήθηκε ο αριθμός των επεισοδίων μονόμορφης και πολύμορφης κοιλιακής ταχυκαρδίας (οριζόμενης ως τέσσερις ή περισσότερες συνεχόμενες κοιλιακές συστολές, με συχνότητα μεγαλύτερη από τη φλεβοκομβική), όπως επίσης ο αριθμός των επεισοδίων κοιλιακής μαρμαρυγής (όταν τα συμπλέγματα QRS δεν ήταν δυνατόν να διακριθούν). Επιπλέον, μετρήθηκε η διάρκεια του κάθε επεισοδίου κοιλιακής ταχυκαρδίας και κοιλιακής μαρμαρυγής. Η διάκριση μεταξύ των επεισοδίων κοιλιακής ταχυκαρδίας και κοιλιακής μαρμαρυγής σε επίμυες, δεν είναι πάντοτε δυνατή¹⁷⁹. Για το λόγο αυτό, στα αποτελέσματά μας αναφέρεται το άθροισμα των επεισοδίων κοιλιακής ταχυκαρδίας και κοιλιακής μαρμαρυγής.

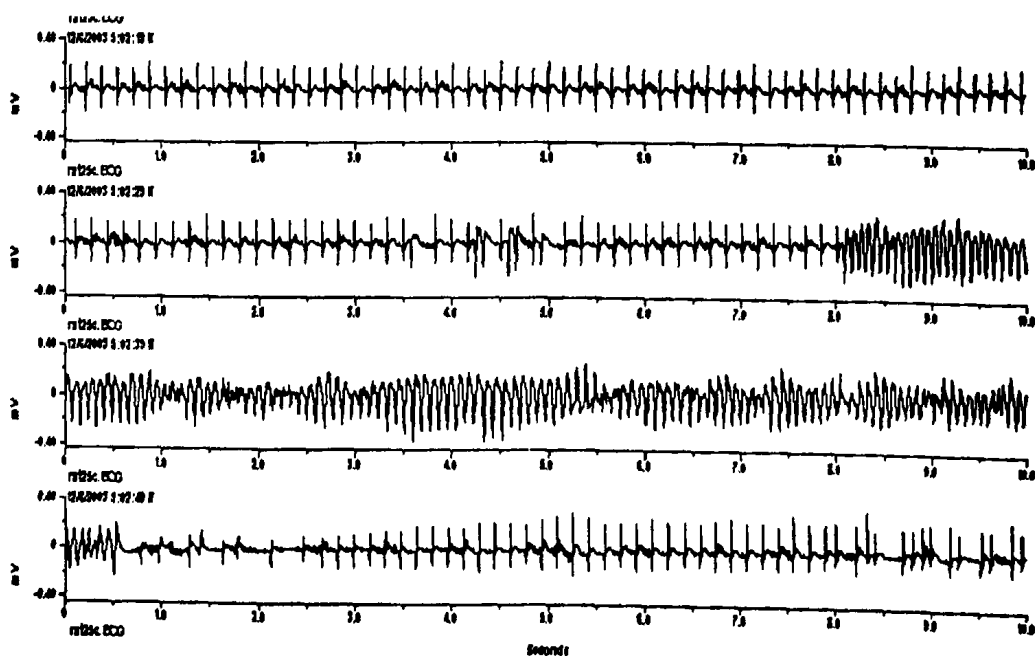
Στο πειραματικό πρότυπο εμφράγματος σε επίμυες, η συχνότητα εμφάνισης κοιλιακών αρρυθμιών, κατά τη διάρκεια του πρώτου εικοσιτετραώρου μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, δεν είναι ομοιόμορφα κατανεμημένη¹⁷⁹.



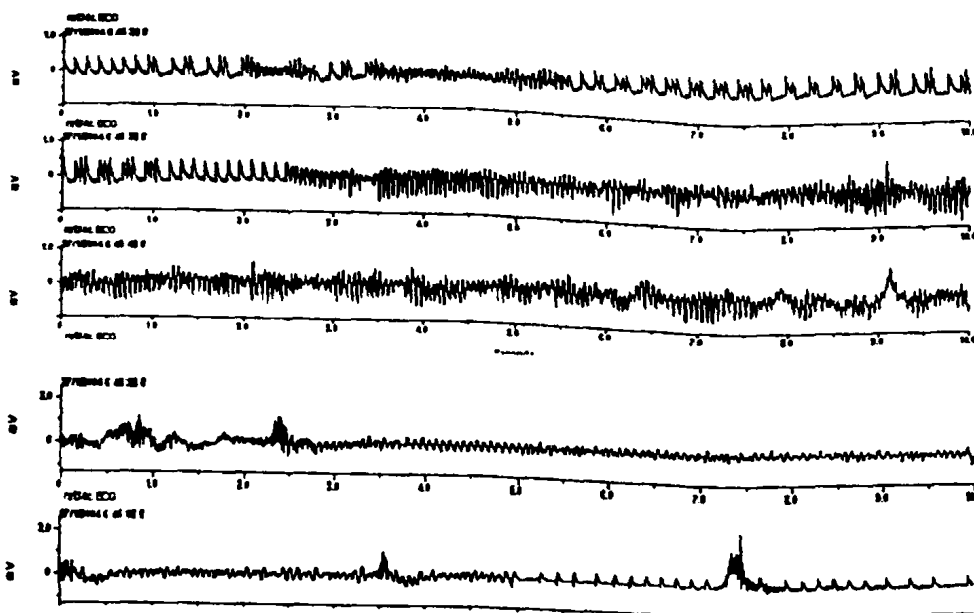
Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι έχουν δύο περιόδους που χαρακτηρίζονται από υψηλή αρρυθμιογόνο δραστηριότητα. Η πρώτη αφορά την πρώτη μισή ώρα από την απόφραξη της αρτηρίας. Ακολουθεί μια περίοδος χαμηλής δραστηριότητας και ακολουθεί η δεύτερη περίοδος μεταξύ 1:30-9:00 ώρες μετά την απόφραξη. Οι δύο αυτές φάσεις φαίνεται ότι προκαλούνται από διαφορετικούς μηχανισμούς.

Οι αρρυθμίες της πρώτης φάσης θεωρείται ότι προκαλούνται από μηχανισμούς επανεισόδου, ενώ οι αρρυθμίες της δεύτερης φάσης είναι πιο πιθανό να οφείλονται σε αυξημένο αυτοματισμό. Έτσι, στη μελέτη μας έγινε αναγωγή του αριθμού και της διάρκειας των επεισοδίων κοιλιακής ταχυκαρδίας και κοιλιακής μαρμαρυγής ανά ώρα καταγραφής, όπως συνιστάται από προηγούμενες μελέτες¹⁷⁹.

Παραδείγματα επεισοδίων πολύμορφης κοιλιακής ταχυκαρδίας και κοιλιακής μαρμαρυγής φαίνονται στις εικόνες 11 και 12.



Εικ. 11 Παράδειγμα πολύμορφης κοιλιακής ταχυκαρδίας



- **Εικ. 12** Παράδειγμα πολύμορφης κοιλιακής ταχυκαρδίας που εκφυλίζεται σε κοιλιακή μαρμαρυγή.

8.3.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ

Με τη βοήθεια του λογισμικού (Dataquest Acquisition & Analysis System ART 2.2, Data Sciences International), σε κάθε αποθηκευμένη σειρά δεδομένων εντοπίστηκαν τα επάρματα R και στη συνέχεια τα διαστήματα R-R. Παρέχοντας συγκεκριμένους περιορισμούς, ο αλγόριθμος του προγράμματος απέκλεισε τους παλμούς που δεν προέρχονταν από φλεβοκομβικά ερεθίσματα και υπολογίστηκε η μέση τιμή του διαστήματος R-R για χρονικά βήματα της τάξης των 5 λεπτών. Έτσι καθορίστηκε η καρδιακή συχνότητα σε κάθε χρονική περίοδο μετά το EM. Τέτοιοι υπολογισμοί έγιναν σε κάθε επίμυ ακριβώς τη στιγμή πριν το έμφραγμα, στο 5°, 30° και 60° λεπτό μετά από την πρόκλησή του, και ανά μία ώρα έκτοτε και μέχρι να ολοκληρωθεί το πείραμα.

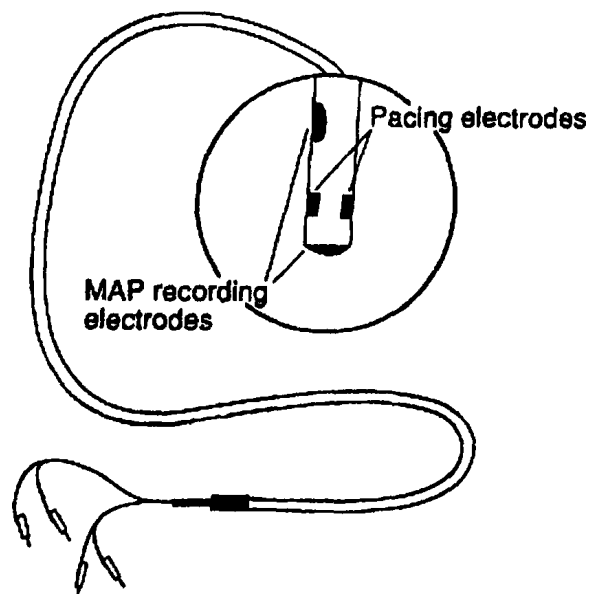
8.3.7. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΟΝΟΦΑΣΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

8.3.7.1. ΤΕΧΝΙΚΗ

Τα μονοφασικά δυναμικά ενεργείας (ΜΔΕ) είναι εξωκυττάρειες μετρήσεις κυματομορφών, οι οποίες, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, μπορούν να

αναπαραστήσουν την φάση επαναπόλωσης των διαμεμβρανικών δυναμικών ενεργείας (ΔΜΔΕ) με υψηλή αξιοπιστία ^{180,181}. Ενώ οι μετρήσεις των ΔΜΔΕ απαιτούν την εμφύτευση ενός μικροηλεκτροδίου σε ένα μυοκαρδιακό κύτταρο, και άρα περιορίζονται σε *in vitro* πειράματα, οι μετρήσεις των ΜΔΕ μπορούν να γίνουν από το ενδοκάρδιο ή το επικάρδιο της παλλόμενης καρδιάς *in situ*, συμπεριλαμβανομένης και της ανθρώπινης. Έτσι, τα ΜΔΕ είναι κατάλληλα για τη μελέτη των χαρακτηριστικών της τοπικής ηλεκτροφυσιολογίας σε κλινικό επίπεδο, και ιδίως της φάσης της επαναπόλωσης ¹⁸². Αυτό έχει καταστήσει τη χρήση των ΜΔΕ μια σημαντική γέφυρα μεταξύ της βασικής και της κλινικής ηλεκτροφυσιολογίας σε πολλαπλά σημεία της έρευνας για τις αρρυθμίες ¹⁸³.

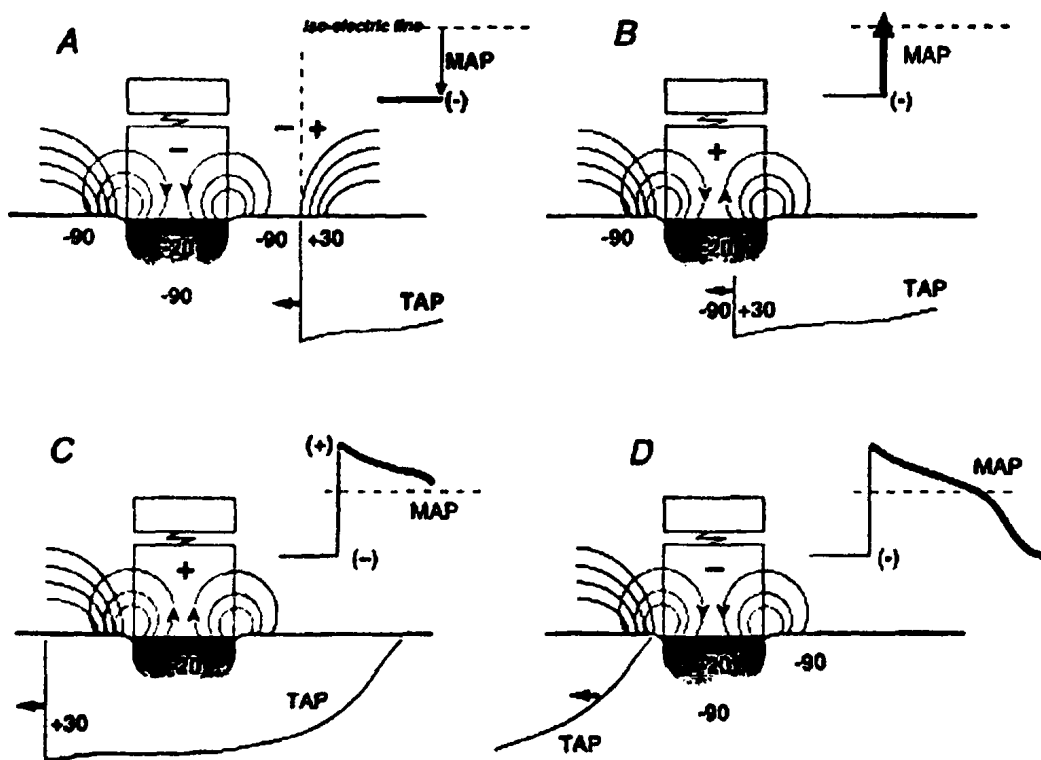
Η τεχνική του ηλεκτροδίου επαφής, που σήμερα χρησιμοποιείται, αναπτύχθηκε μεταξύ του 1980 και 1983 από τους Franz και συν. ^{184,185}. Με αυτή την τεχνική τα ΜΔΕ μπορούν να ληφθούν πιέζοντας ένα μη πολωμένο ηλεκτρόδιο απαλά επί του ενδοκαρδίου ή του επικαρδίου. Η Εικ. 13 δείχνει τον πιο συχνά χρησιμοποιούμενο καθετήρα, ο οποίος φέρει και ηλεκτρόδια βηματοδότησης.



Εικ.13 Καθετήρας για την μέτρηση ΜΔΕ που συνδυάζει και ηλεκτρόδια βηματοδότησης. Τα ηλεκτρόδια των ΜΔΕ κατασκευάζονται από AgCl σε μορφή σκόνης που επικάθεται σε ειδικό πολυμερές.

Η απουσία τραυματισμού του μυοκαρδίου, σε αντίθεση με την παλαιότερα χρησιμοποιούμενη τεχνική, επιτρέπει τη λήψη σταθερών μετρήσεων στο πέρας του χρόνου και καθιστά δυνατή την εκτίμηση των αποτελεσμάτων αντιαρρυθμικών φαρμάκων στην τοπική μυοκαρδιακή επαναπόλωση.

Η μέτρηση του ΜΔΕ γίνεται με ένα ηλεκτρόδιο εξωκυττάριο, το οποίο έχει διάμετρο 1 έως 2 mm, και συνεπώς δεν μπορεί να εισέλθει σε ένα μόνο καρδιακό κύτταρο. Αυτό έχει δώσει την αφορμή για τη διατύπωση διαφόρων θεωριών σχετικά με την προέλευση αυτού του δυναμικού. Η Εικ.14 δείχνει την επικρατούσα άποψη για το μηχανισμό πρόκλησης και καταγραφής των ΜΔΕ.



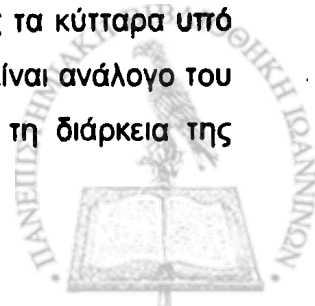
Εικ.14 Διάγραμμα που παρουσιάζει την υπόθεση για τη γέννηση του ΜΔΕ με το ηλεκτρόδιο επαφής.¹⁷¹ Η πίεση της άκρης του ηλεκτροδίου έναντι των μυοκαρδιακών κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα τη μόνιμη εκπόλωση του υποκείμενου ιστού, περίπου στα -20mV . Τα φυσιολογικά μυοκαρδιακά κύτταρα



εμφανίζουν αρνητική διαφορά δυναμικού μεταξύ έσω και έξω επιφάνειας της τάξης των -90mV . Στο τέλος της διαστολικής φάσης, η διαφορά δυναμικού αυτή προκαλεί τη μετακίνηση φορτίων, η οποία στον εξωκυττάριο χώρο έχει φορά από το φυσιολογικό στον εκπολωμένο ιστό. Ένα κύμα δυναμικού ενεργείας που φέρει ένα εσωτερικό δυναμικό $+30\text{mV}$ κοντά στο μέγιστο φαίνεται να πλησιάζει στα δεξιά του άκρου του καθετήρα. [B] Στην αρχή της συστολής, το δυναμικό ενεργείας καταφτάνει. Ο εκπολωμένος υπό πίεση ιστός δεν μπορεί να διεγερθεί και διατηρεί το δυναμικό των -20mV . Προκαλείται όμως στο σημείο επαφής αντιστροφή της ροής φορτίων και της πολικότητας του πεδίου. Το ΜΔΕ κινείται προς τη θετική κατεύθυνση και υπερακοντίζεται προς τα άνω, διαγράφοντας τη φάση 1. [C] Το κύμα εκπόλωσης έχει περιβάλει πλήρως την περιοχή μέτρησης. Καθώς προχωρά η επαναπόλωση, οι διαφορές δυναμικού σταδιακά μειώνονται. Το ΜΔΕ παρουσιάζει βαθμιαία επαναπόλωση, η οποία πλησιάζει την ισοηλεκτρική γραμμή όσο το δυναμικό ενεργείας πλησιάζει το δυναμικό εκπόλωσης των υπό πίεση κυττάρων. [D] Το δυναμικό ενεργείας απομακρύνεται από την περιοχή μέτρησης. Οι διαφορές δυναμικού επιστρέφουν στην προϋπάρχουσα κατάσταση (διαστολική).

Η πίεση που ασκείται τοπικά έναντι του μυοκαρδίου εκπολώνει την ομάδα των κυττάρων που βρίσκονται υπό το ηλεκτρόδιο σε ένα εκτιμώμενο επίπεδο των -20 με -30mV σε σχέση με το διαστολικό εξωκυττάριο δυναμικό αναφοράς. Επειδή οι δίαυλοι νατρίου παραμένουν ανενεργείς σε αυτές τις συνθήκες, αυτά τα κύτταρα παραμένουν μη διεγέρσιμα και ανίκανα να συμμετέχουν στις περιοδικές εκπολώσεις και επαναπολώσεις των γειτονικών μυοκαρδιακών κυττάρων. Έχοντας άθικτη την ηλεκτρική σύζευξη, αυτό συνεπάγεται μια χρονοεξάρτητη διαφορά δυναμικού μεταξύ των εκπολωμένων-υποκείμενων (ανερέθιστων) και των παρακείμενων (διεγέρσιμων) κυττάρων.

Κατά τη διάρκεια της διαστολής, η διαφορά αυτή προκαλεί ένα ρεύμα που πηγάζει από τα φυσιολογικά κύτταρα, και κατευθύνεται προς τα κύτταρα υπό το ηλεκτρόδιο. Παράγεται έτσι ένα αρνητικό πεδίο, το οποίο είναι ανάλογο του αριθμού των κυττάρων που βρίσκονται σε γειτονία. Κατά τη διάρκεια της



συστολής, τα φυσιολογικά κύτταρα που γεινιάζουν με το ηλεκτρόδιο υφίστανται πλήρη εκπόλωση, η οποία υπερακοντίζει το δυναμικό +30 mV πάνω από το μηδέν, ενώ τα ήδη εκπολωμένα από την πίεση κύτταρα διατηρούν την αρχική τιμή των -20 mV. Έτσι αντιστρέφεται η φορά του ρεύματος και του πεδίου. Ουσιαστικά, το ΜΔΕ αντανακλά τις μεταβολές του δυναμικού των παρακείμενων κυττάρων.

Στη συνέχεια, το λαμβανόμενο σήμα μεταφέρεται σε έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή, στον οποίο αποθηκεύεται για περαιτέρω ανάλυση. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στο εργαστήριό μας έχει περιγραφεί αναλυτικά ¹⁸⁶. Εν συντομία, ένας καθετήρας ΜΔΕ (μοντέλο 200, EP Technologies, Sunnyvale, CA, USA) επικάθεται στην επικαρδιακή επιφάνεια του πλαγίου τοιχώματος της αριστερής κοιλίας και το σήμα ενισχύεται με τη χρήση ενός προενισχυτή (μοντέλο 300, EP Technologies, Sunnyvale, CA, USA) και φιλτράρεται στα 50 Hz. Καταγραφές διάρκειας 2 λεπτών αποθηκεύονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή εφοδιασμένο με μετατροπέα αναλογικού σήματος σε ψηφιακό (BNC 2110, National Instruments Corporation, Dallah, TX, USA). Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για την αποθήκευση και ανάλυση των ΜΔΕ στη μελέτη έχει αναπτυχθεί και αξιολογηθεί στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων από τους Τσαλικάκη και συν. ¹⁸⁷. Πενήντα φλεβοκομβικοί παλμοί ανά καταγραφή αναλύθηκαν, και η διάρκεια του δυναμικού ενεργείας στο 90% της επαναπόλωσης (APD90) μετρήθηκε πριν το έμφραγμα και 24 ώρες μετά την πρόκλησή του. Η τυπική απόκλιση της APD90 υπολογίστηκε για κάθε καταγραφή, ως δείκτης μεταβλητότητας από παλμό σε παλμό, ο οποίος σχετίζεται με την ανάπτυξη ταχυαρρυθμιών ^{188,189}. Ο μηχανισμός της εναλλαγής αυτής στη διάρκεια του ΔΕ λόγω της ισχαιμίας έχει αποδοθεί σε ανεπαρκή ηλεκτρική αποκατάσταση από τη μία εκπόλωση στην επόμενη ¹⁹⁰.

8.3.7.2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΔΕ ΚΑΙ ΔΜΔΕ

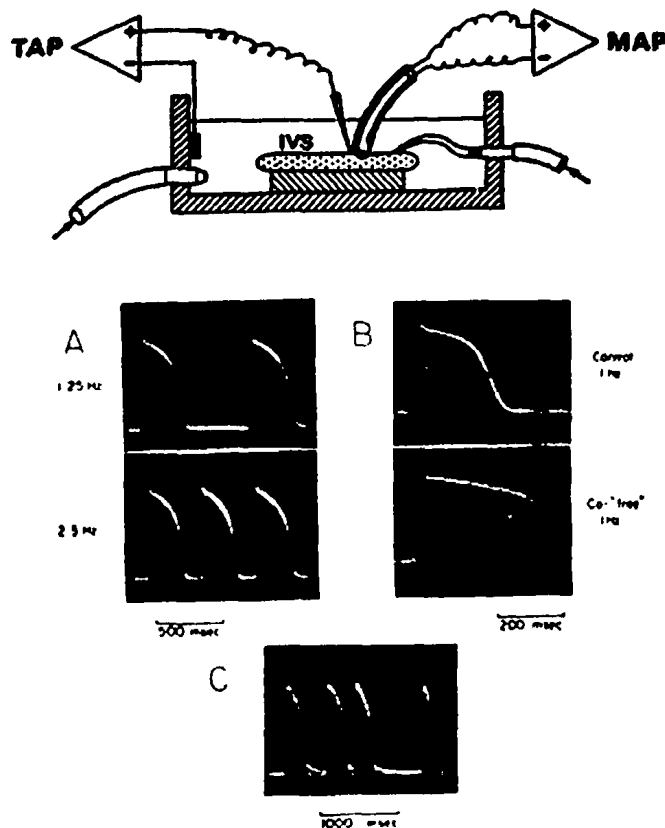
Η ακρίβεια με την οποία τα ΜΔΕ αντανακλούν την τοπική κυτταρική εκπόλωση και επαναπόλωση αποτέλεσε αντικείμενο μελετών που συνέκριναν τα ΜΔΕ με την ταυτόχρονη καταγραφή των διαμεμβρανικών δυναμικών ενεργείας (ΔΜΔΕ) ^{180,181}. Γενικά, οι καταγραφές ΜΔΕ θα πρέπει να ικανοποιούν τα κριτήρια του παρακάτω Πίνακα.



Πίνακας

Κριτήρια ποιότητας ΜΔΕ

1. Το ύψος του ΜΔΕ να είναι μεγαλύτερο από 10 mV
2. Γρήγορη και ευδιάκριτη αρχική ανύψωση του δυναμικού (<5msec)
3. Ομαλό, με το κυρτό προς τα άνω plateau
4. Οριζόντια, ομαλή διαστολική ισοηλεκτρική γραμμή
5. Παρόμοιες κυματομορφές ΜΔΕ από φυσιολογική και τεχνητή βηματοδότηση



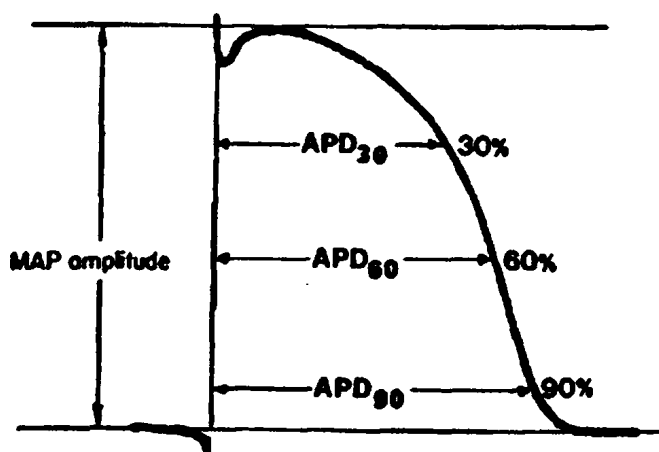
Εικ.15 Σύγκριση ΜΔΕ και ΔΜΔΕ που μετρήθηκαν ταυτόχρονα από πολύ κοντινές περιοχές παρασκευάσματος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κουνελιού. Α) Ο διπλασιασμός της συχνότητας βηματοδότησης προκαλεί τη μείωση της διάρκειας του δυναμικού ενεργείας Β) Η αφαίρεση ασβεστίου από το διήθημα

αυξάνει τη διάρκεια του plateau και προσδίδει στην κυματομορφή πιο ορθογώνια μορφή C) Επίδραση ενός έκτακτου ερεθίσματος και της ακόλουθης παύσης στο ΔΕ. Όλες αυτές οι παρεμβάσεις είχαν κοινή επίδραση στο σχήμα και τη διάρκεια των καταγραφών ΜΔΕ και ΔΜΔΕ. Σε κάθε πεδίο, τα ΜΔΕ επιπροβάλλονται στα ΔΜΔΕ, αφού προηγήθηκε προσαρμογή της κλίμακας για να ταιριάζουν σε ύψος δυναμικού ¹⁹¹.

Τα ΜΔΕ αναπαριστούν με μεγάλη ακρίβεια τη διάρκεια καθώς και τη μορφολογία όλων των φάσεων της επαναπόλωσης των ΔΜΔΕ ^{191,192} (Εικ.15).

Κατά την ανάλυση των ΜΔΕ, κυρίαρχης σημασίας είναι ο προσδιορισμός της διάρκειας του δυναμικού. Επειδή το πέρας της καμπύλης τείνει προς την ισοηλεκτρική γραμμή χωρίς να εμφανίζει σαφές σημείο ένωσης με αυτήν (Εικ.16), η ακριβής μέτρηση της συνολικής διάρκειας του ΔΕ είναι δύσκολη.

- Αντ' αυτής συχνότερα προσδιορίζεται ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη του 90% της επαναπόλωσης (ή κάποιου άλλου κλάσματος).



Εικ.16 Μέθοδος ανάλυσης του σήματος ΜΔΕ. Το ύψος του ΜΔΕ ορίζεται ως η απόσταση από τη διαστολική ισοηλεκτρική γραμμή έως το μέγιστο της φάσης plateau, και όχι έως το μέγιστο της αρχικής ανιούσας φάσης. Η διάρκεια του σήματος ΜΔΕ ορίζεται ως το διάστημα μεταξύ καθέτου που διέρχεται από την απότομη έναρξη της εκπόλωσης ως το επιθυμητό επίπεδο επαναπόλωσης.

Διάφοροι αλγόριθμοι έχουν αναπτυχθεί για την αυτόματη ανάλυση της διάρκειας του ΜΔΕ σε ποσοστά της επαναπόλωσης που καθορίζονται από το χρήστη. Εντούτοις, εξαιτίας της πολυπλοκότητας του σήματος του ΜΔΕ, πιο θεμιτή είναι η ανάλυσή τους υπό άμεση παρατήρηση.

Για το πρώτο μέρος της μελέτης μετρήθηκε το μέγιστο πλάτος του σήματος και το 90% της διάρκειας της επαναπόλωσης (APD90).

Οι μετρήσεις αυτές πραγματοποιήθηκαν ως εξής:

- A) Πριν την πρόκληση του εμφράγματος
- B) Πέντε λεπτά μετά τη χορήγηση του φαρμάκου (για το BQ-123)
- Γ) Πέντε λεπτά μετά την πρόκληση του εμφράγματος
- Δ) Είκοσι τέσσερις ώρες μετά την πρόκληση του εμφράγματος.

Κατά τη διάρκεια της ανάλυσης των καταγραφών MAP, οι έκτοπτοι παλμοί εξαιρούνταν και αναλύονταν πενήντα συνεχείς φλεβοκομβικές συστολές ανά καταγραφή.

Για το δεύτερο μέρος οι μετρήσεις του APD90 έγιναν

- A) Πριν την πρόκληση OEM
- B) Πέντε λεπτά μετά την πρόκληση OEM
- Γ) Είκοσι τέσσερις ώρες μετά το OEM.

Η σταθερή απόκλιση του APD90 υπολογίστηκε για κάθε καταγραφή σαν μέτρο απόκλισης από παλμό σε παλμό, υποδηλώνοντας ηλεκτρικές εναλλαγές.

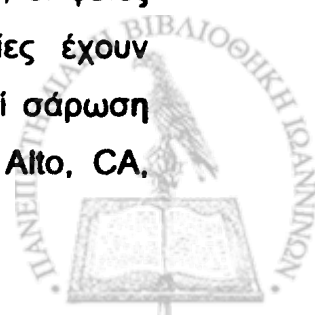


8.3.8 ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ- ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ

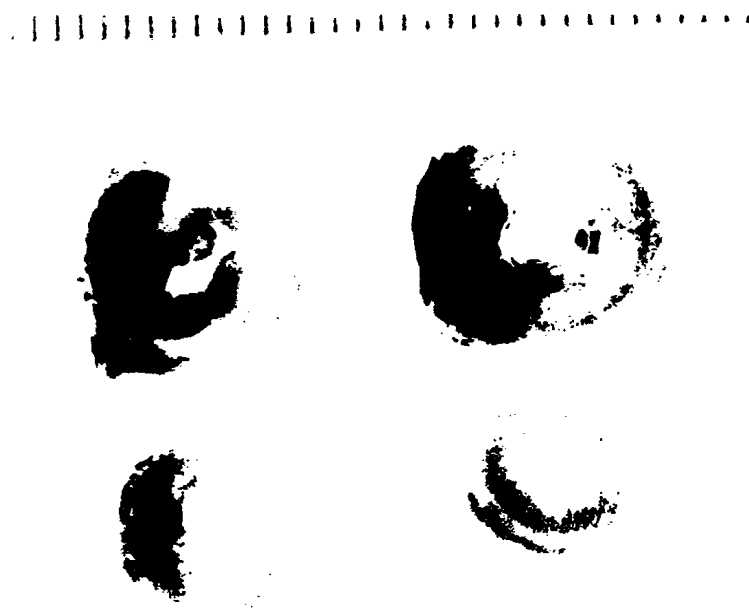
Η πιο δημοφιλής τεχνική για τη μέτρηση του μεγέθους της εμφραγματικής περιοχής στα πειραματικά μοντέλα είναι αυτή της χρώσης με χλωριούχο τριφενυλτετραζόλιο (TTC). Αυτή στηρίζεται στην ικανότητα των ενζύμων δεϋδρογενάσης και των συμπαραγόντων του ιστού να αντιδρούν με τα άλατα τετραζολίου και να σχηματίζουν μια επιφάνεια ροζ απόχρωσης. Σε αυτά τα πλαίσια, το μυοκάρδιο που έχει επιβιώσει μετά την απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας χρωματίζεται ροζ, ενώ οι νεκρωμένες περιοχές αναγνωρίζονται ως ελλείμματα χρωματισμού και εμφανίζονται λευκές.

Η μέθοδος του TTC είναι ικανή να ανιχνεύει την μυοκαρδιακή νέκρωση αφού περάσουν τουλάχιστον 3 ώρες από την έναρξη της ισχαιμίας στους επίμυες. Τα πειραματόζωα υπόκεινται στη διαδικασία αυτή 24 ώρες μετά την πρόκληση του εμφράγματος. Οι επίμυες αναισθητοποιούνται και ο πομπός αφαιρείται από την περιτοναϊκή κοιλότητα. Με τη βοήθεια ψαλιδιού, γίνεται προσεκτική τομή του διαφράγματος, έτσι ώστε να μην τραυματιστεί κάποιο ενδοθωρακικό όργανο. Ακολούθως, γίνεται αποκλεισμός της αορτής με κυρτή λαβίδα και έγχυση χλωριούχου καλίου στην αριστερή κοιλία, έτσι ώστε η διακοπή της μηχανικής λειτουργίας της καρδιάς να επέλθει στη διαστολή 170.172

Στη συνέχεια, αφαιρείται το μυοκάρδιο και διαχωρίζονται επιμελώς οι δύο κόλποι και η δεξιά κοιλία, ώστε να έχουμε στη διάθεσή μας μόνο τη μάζα της αριστεράς κοιλίας. Έτσι, αφού καθαριστεί, η αριστερή κοιλία τοποθετείται σε καταψύκτη στη θερμοκρασία των -20°C , για 1 με 2 ώρες. Έπειτα, το παρασκεύασμα τεμαχίζεται σε περίπου 4 με 5 παράλληλες φέτες, οι οποίες εμβαπτίζονται στο διάλυμα του TTC για 15 με 20 λεπτά, στους 37°C . Οι περιοχές που δε νεκρώθηκαν χρωματίζονται με αυτόν τον τρόπο έντονα κόκκινες. Όταν έχει γίνει αυτό, οι φέτες εμβαπτίζονται σε διάλυμα φορμόλης 10% για περίπου 20 λεπτά. Με το τρόπο αυτό μονιμοποιείται η χρώση και γίνεται πιο έντονη την αντίθεση μεταξύ του κόκκινου ιστού που επιβίωσε και του νεκρού άσπρου. Στη συνέχεια, και αφού ο ιστός αποξηρανθεί, οι φέτες τοποθετούνται μεταξύ δύο αντικειμενοφόρων πλακών, οι οποίες έχουν σταθερή μεταξύ τους απόσταση (γύρω στα 2 mm), και ακολουθεί σάρωση υψηλής ανάλυσης (Scanjet 4570c/5500c, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA,



USA) με ταυτόχρονη σάρωση ενός υποδεκάμετρου για διαβάθμιση (Εικ.17). Με τη βοήθεια ενός ειδικού προγράμματος (Image Tool, University of Texas, USA), υπολογίζονται οι επιφάνειες της εμφραγματικής και μη περιοχής. Το κλάσμα της εμφραγματικής προς την ολική επιφάνεια κάθε φέτας πολλαπλασιάζεται με το βάρος της κάθε φέτας, για να υπολογιστεί η εμφραγματική μάζα. Το άθροισμα των εμφραγματικών μαζών διαιρείται με τη συνολική μάζα της αριστερής κοιλίας, καθορίζοντας έτσι και το μέγεθος του εμφράγματος ¹⁹³⁻¹⁹⁶.



Εικ.17 Παράδειγμα παρασκευάσματος καρδιάς επίμυος μετά από χρώση με χλωριούχο τριφενυλτετραζόλιο (TTC). Προσέξτε την κόκκινη χρώση της υγιούς και ισχαιμικής περιοχής και τη μη πρόσληψη χρωστικής από την εμφραγματική περιοχή, η οποία απεικονίζεται λευκή.

8.3.9.

Ανάλυση της Μεταβλητότητας Καρδιακής Συχνότητας (Heart Rate Variability) στο πεδίο της συχνότητας (frequency domain analysis).

Στην μέθοδο μας χρησιμοποιήσαμε πεντάλεπτες ΗΚΓγραφικές χρονικές ακολουθίες μετά τον αποκλεισμό των μη-φλεβοκομβικών παλμών. Η μέθοδος βασίζεται στο ότι κάθε σύνθετος ρυθμός, όπως π.χ. ο καρδιακός ρυθμός, που αποτελείται από μια χρονοσειρά διαδοχικών γεγονότων, μπορεί να αναλυθεί σε ένα αριθμό ημιτονοειδών καμπύλων (αρμονικών) με διάφορα πλάτη και συχνότητες, αφού υποβληθεί σε μαθηματικό μετασχηματισμό, θα διαχωριστεί σε έναν αριθμό αρμονικών με διακριτές συχνότητες.

Η μαθηματική τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για το μετασχηματισμό αυτό είναι το **Welch** περιοδόγραμμα (periodogram). Πιο συγκεκριμένα, οι χρονικές ακολουθίες χωρίστηκαν σε ένα σταθερό αριθμό από ΗΚΓικά τμήματα με επικάλυψη 50%. Μετά την εφαρμογή ενός Hamming παραθύρου και αφαίρεση της μέσης τιμής, υπολογίστηκε το τμήμα του περιοδογράμματος καθώς και η μέση τιμή του δυναμικού φάσματος (power spectra) όλων των τμημάτων.

Με τη φασματική ανάλυση η εικόνα που προκύπτει εμφανίζεται είτε ως ανάλυση "πλάτους" (amplitude), ήτοι του εύρους του φάσματος σε κάθε συχνότητα, είτε ως δυναμική φασματική ανάλυση (power spectral analysis), με βάση το τετράγωνο του πλάτους. Κατά το διαχωρισμό των συχνοτήτων των διαστημάτων R-R προκύπτουν τρεις διακριτές "κορυφές": στις χαμηλής/μέσης συχνότητας (low frequency, LF) περί τα (>0.5 Hz <0.8 Hz) και στις υψηλής συχνότητας (high frequency, HF) περί τα (>0.8 Hz). Οι συχνότητες αυτές θεωρείται γενικά ότι αντιστοιχούν σε διαφορετικά συστήματα που ρυθμίζουν την καρδιακή συχνότητα.

Η ζώνη LF συνδέεται με τον έλεγχο της αρτηριακής πίεσης και των τασεοϋποδοχέων. Η ζώνη υψηλών συχνοτήτων (HF) σχετίζεται με την επίδραση της αναπνοής. Συνεπώς, οι μεταβολές HF μπορεί να θεωρηθεί ότι συνδέονται με τη λειτουργία των παρασυμπαθητικών οδών, ενώ οι μεταβολές LF σχετίζονται τόσο με τις παρασυμπαθητικές όσο και με τις συμπαθητικές οδούς. Ο λόγος LF/HF χρησιμοποιείται συχνά ως δείκτης της ισορροπίας μεταξύ συμπαθητικού και παρασυμπαθητικού (sympathovagal balance) και



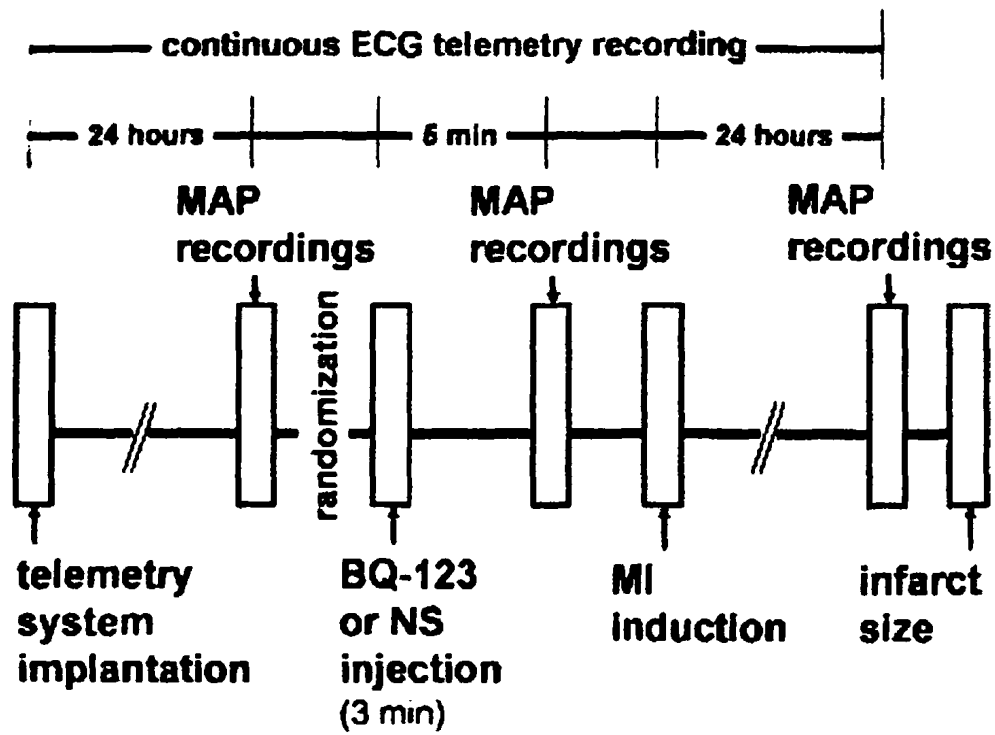
παρέχει επιπρόσθετα στοιχεία, ιδιαίτερα σε συνδυασμό με χειρισμούς που επιτείνουν τη δραστηριότητα του συμπαθητικού και παρασυμπαθητικού συστήματος.

Η δράση των ορμονών είναι πολύπλοκη και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Η δράση τους είναι γενικά να αυξάνουν την πίεση του αίματος και να αυξάνουν την καρδιακή παροχή αίματος. Η δράση τους είναι επίσης να αυξάνουν την ταχύτητα της μεταβολικής διαδικασίας και να αυξάνουν την απελευθέρωση των λιπών από το λιπώδη ιστό. Η δράση τους είναι επίσης να αυξάνουν την απελευθέρωση της γλυκόζης από το ήπαρ και να αυξάνουν την απελευθέρωση της γλυκόζης από τους ιστούς. Η δράση τους είναι επίσης να αυξάνουν την απελευθέρωση της γλυκόζης από τους ιστούς.

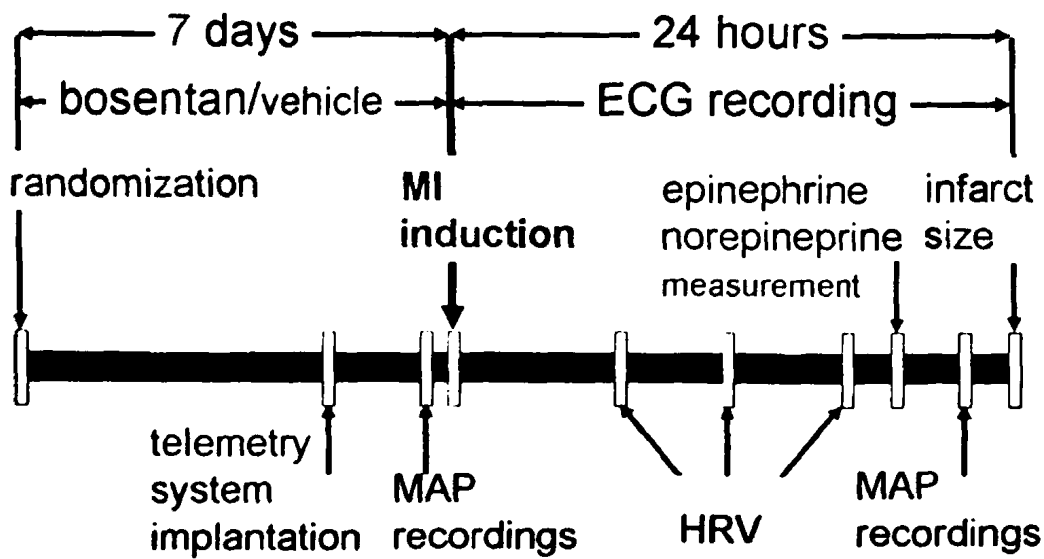
Η δράση των ορμονών είναι πολύπλοκη και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Η δράση τους είναι γενικά να αυξάνουν την πίεση του αίματος και να αυξάνουν την καρδιακή παροχή αίματος. Η δράση τους είναι επίσης να αυξάνουν την ταχύτητα της μεταβολικής διαδικασίας και να αυξάνουν την απελευθέρωση των λιπών από το λιπώδη ιστό. Η δράση τους είναι επίσης να αυξάνουν την απελευθέρωση της γλυκόζης από το ήπαρ και να αυξάνουν την απελευθέρωση της γλυκόζης από τους ιστούς. Η δράση τους είναι επίσης να αυξάνουν την απελευθέρωση της γλυκόζης από τους ιστούς.



Οι Εικ 18,19 περιγράφουν το πρωτόκολλο της μελέτης.



Εικ.18 Σχηματική αναπαράσταση του πρώτου μέρους της μελέτης



Εικ. 19 Σχηματική αναπαράσταση του δεύτερου μέρους της μελέτης



β.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση, και κατά περίπτωση τυπικό σφάλμα. Η θνητότητα μεταξύ των δύο πληθυσμών συγκρίθηκε με τη βοήθεια του χ^2 διορθωμένου κατά Yates τεστ. Οι διαφορές στις συνεχείς μεταβλητές συγκρίθηκαν με το Student's t-test ή με ανάλυση ποικιλότητας για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, ακολουθούμενη από Tukey's test για πολλαπλές συγκρίσεις. Τα επεισόδια και οι διάρκειες των αρρυθμιών δεν ακολουθούν κανονική κατανομή και η σύγκρισή τους έγινε με το Mann-Whitney U-test, ενώ η σύγκριση των αρρυθμικών σκορ έγινε με ανάλυση ποικιλότητας για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Ως επίπεδο σημαντικότητας «α» ορίστηκε το 0,05.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9°

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

A) Πρώτο μέρος

Μελετήθηκαν 40 πειραματόζωα μέσου βάρους 224 ± 21 γραμμαρίων. Δύο από αυτά (ένα είχε λάβει BQ-123 και ένα φυσιολογικό ορό) πέθαναν κατά τη διάρκεια της χειρουργικής διαδικασίας και εξαιρέθηκαν της μελέτης. Επιπλέον, άλλοι τρεις επίμυες (δύο είχαν λάβει BQ-123 και ένα φυσιολογικό ορό) πέθαναν τα πρώτα πέντε λεπτά μετά το OEM λόγω κολποκοιλιακού αποκλεισμού (πιθανότατα λόγω καρδιογενούς καταπληξίας και εξαιρέθηκαν επίσης). Τριάντα πέντε πειραματόζωα συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη, από τα οποία 17 ($223 \pm 21g$) έλαβαν BQ-123 μετά από τυχαιοποίηση και 18 ($224 \pm 22g$) φυσιολογικό ορό, αποτελώντας την ομάδα ελέγχου.

Η μέση διάρκεια του πειράματος πρόκλησης οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου δεν διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες και ήταν 30 ± 4 λεπτά για την ομάδα που έλαβε BQ-123 και 29 ± 3 λεπτά για την ομάδα ελέγχου.

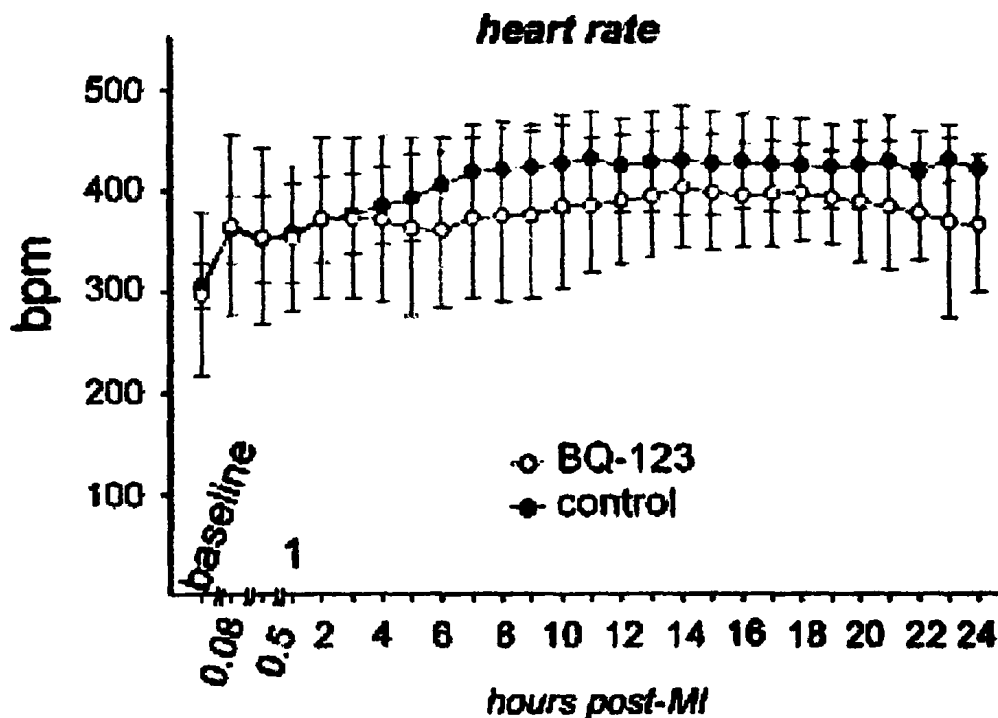
9.1. Θνητότητα

Κατά τη διάρκεια της εικοσιτετράωρης παρακολούθησης, κανένα πειραματόζωο (0/17, 0%) της ομάδας BQ-123 δεν πέθανε από ταχυαρρυθμία, ενώ έξι πειραματόζωα (6/13, 33%) της ομάδας ελέγχου πέθαναν από κοιλιακή μαρμαρυγή ($p=0,030$). Δύο πειραματόζωο της ομάδας BQ-123 (2/17, 11%) πέθαναν λόγω βραδυκαρδίας, με πλήρη κολποκοιλιακό αποκλεισμό, ενώ ένα πειραματόζωο από την ομάδα ελέγχου (1/18, 5%) Η συνολική θνητότητα δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες ($p=0,14$).



9.2. Καρδιακή συχνότητα

Η καρδιακή συχνότητα δε διέφερε στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες κατά τη διάρκεια της 24ωρης παρακολούθησης ($F=1.34$, $p=0.22$) (Εικ. 20).



Εικ. 20 Καρδιακή συχνότητα στις δύο ομάδες. Καμία στατιστική διαφορά δε βρέθηκε στις δύο ομάδες.

9.3. Μέγεθος εμφράγματος

Το μέγεθος του εμφράγματος υπολογίστηκε για τους 26 επιζώντες, 15 από τους οποίους έλαβαν BQ-123 και 11 φυσιολογικό ορό. Η σύγκριση των δύο ομάδων έδειξε ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στο μέγεθος του εμφράγματος. Συγκεκριμένα, το μέγεθος του εμφράγματος για την ομάδα που

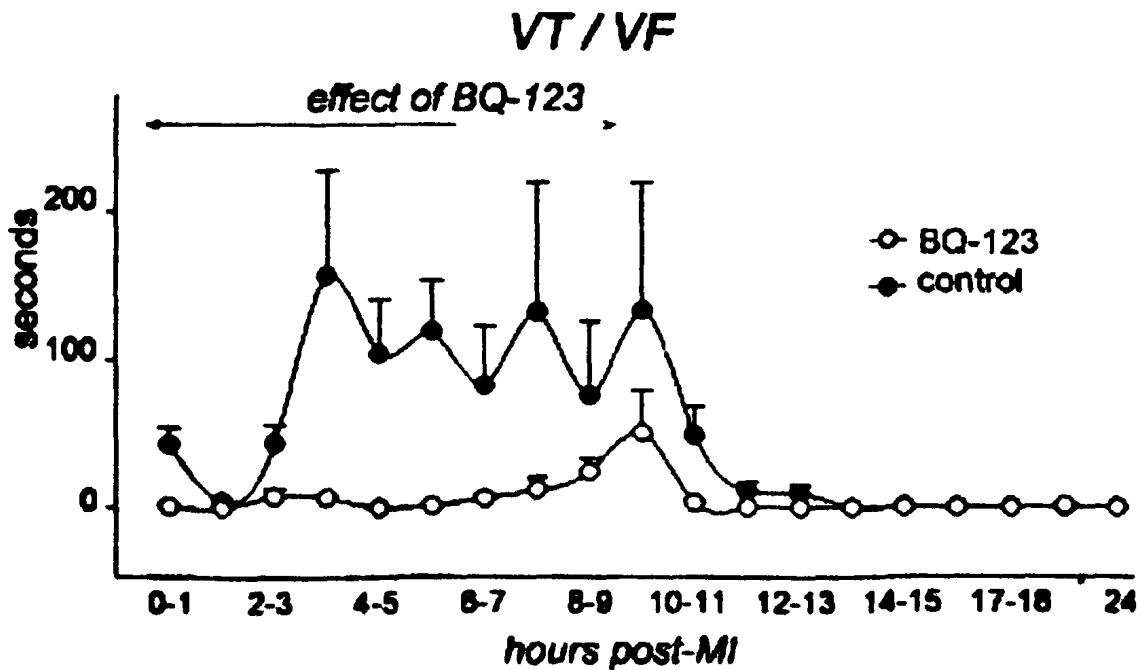
έλαβε BQ-123 ήταν $39.7 \pm 4.2\%$ και για την ομάδα ελέγχου ήταν $38.6 \pm 5.0\%$ ($p=0.56$).

9.4. Κοιλιακές αρρυθμίες

Καμιά στατιστικώς σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε ανάμεσα στις δύο ομάδες όσον αφορά τον αριθμό των απλών έκτακτων κοιλιακών συστολών, των ζευγών και των τριπλετών. Υπήρχε, όμως μια σημαντική μείωση στον αριθμό των συμβαμάτων κοιλιακής ταχυκαρδίας + κοιλιακής μαρμαρυγής (KT+KM), από 15.94 ± 19.35 επεισόδια /ώρα/ επίμυ στην ομάδα ελέγχου στα 1.66 ± 2.22 επεισόδια /ώρα/ επίμυ στην ομάδα του BQ-123 ($p=0.010$).

Επιπλέον, υπήρχε μια σημαντική διαφορά στη μέση διάρκεια κάθε επεισοδίου, από τα 7.40 ± 7.16 sec της ομάδας που έλαβε φυσιολογικό ορό στα 2.30 ± 1.37 sec στην ομάδα που έλαβε BQ-123 ($p=0.011$).

Η ωριαία κατανομή της συνολικής διάρκειας των επεισοδίων KT+KM (δηλαδή ο αριθμός των επεισοδίων σε σχέση με τη διάρκεια των επεισοδίων) φαίνεται στην εικόνα 21.



Εικ. 21 Κατανομή των KT+KM εκφρασμένων σαν μέση τιμή (\pm σταθερό λάθος της μέσης) διάρκεια (ο αριθμός των επεισοδίων σε σχέση με τη



διάρκεια του κάθε επεισοδίου) ανά ώρα μετά το OEM. Οι περιοχές με σκίαση δείχνουν τις χρονικές περιόδους με τη μέγιστη δράση του φαρμάκου.

Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της πρώτης ($p=0.0033$), πέμπτης ($p=0.0085$), και έκτης ($p=0.017$) ώρας μετά το OEM.

Αυτές οι ώρες αντικατοπτρίζουν τη μέγιστη περίοδο δράσης του φαρμάκου σε σχέση με την πιο αρρυθμιογόνο περίοδο φάση II.

Αρρυθμικό σκορ:

Υπήρχε μία τάση για μείωση του αρρυθμικού σκορ για την πρώτη ώρα ($p=0.062$) (Φάση I). Για τις ώρες 1-6 υπήρχε σημαντική μείωση ($p=0.014$) (Φάση I και Φάση II), όπως επίσης και για τις ώρες 6-12 ($p=0.042$) και 12-24 ($p=0.027$) (Φάση II).

9.5. Μονοφασικά δυναμικά ενέργειας

Καμία μεταβολή δεν παρατηρήθηκε στο APD90 της δεξιάς κοιλίας ανάμεσα στις δύο ομάδες ($F=0.26$, $p=0.77$). Υπήρχε, όμως μια σημαντική διαφοροποίηση στο APD90 της αριστεράς κοιλίας ($F=71.7$, $p<0.0001$).

Αυτό οφειλόταν σε μια σημαντική αύξηση του APD90 στην ομάδα ελέγχου 24 ώρες μετά το OEM σε σχέση με τις τιμές αναφοράς (πιν.1).



Πιν.1

Αλλαγές στο εύρος και τη διάρκεια του action potential και στην διαφοροποίηση σε κάθε παλμό (beat-to-beat variability) στο action potential duration σε σχέση με το χρόνο στις δύο ομάδες.

	BQ-123	Control
APD90† baseline (ms)	107 ± 7	106 ± 7
APD90† μετά την έγχυση (ms)	106 ± 5	106 ± 6
APD90† 24-h μετά το OEM (ms)	109 ± 5	131 ± 10*
Beat-to-beat variability [§] baseline (ms)	2.8 ± 0.6	3.7 ± 0.6
Beat-to-beat variability [§] μετά την έγχυση (ms)	3.1 ± 0.9	3.8 ± 1.5
Beat-to-beat variability [§] 24-h μετά το OEM (ms)	4.7 ± 1.9	14.9 ± 5.6*
Εύρος baseline (mV)	7.7 ± 0.4	7.8 ± 0.4
Εύρος μετά την έγχυση (mV)	7.7 ± 0.4	7.8 ± 0.4
Εύρος 24-h μετά το OEM (mV)	3.8 ± 0.7*	3.5 ± 0.4*

Τα στοιχεία αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση.

* $p < 0.05$ σε σχέση με το baseline.

†APD90: διάρκεια του action potential στο 90% της επαναπόλωσης.

§ Εκφρασμένο σαν σταθερή απόκλιση του APD90 σε 50 συνεχόμενους φλεβοκομβικούς παλμούς.

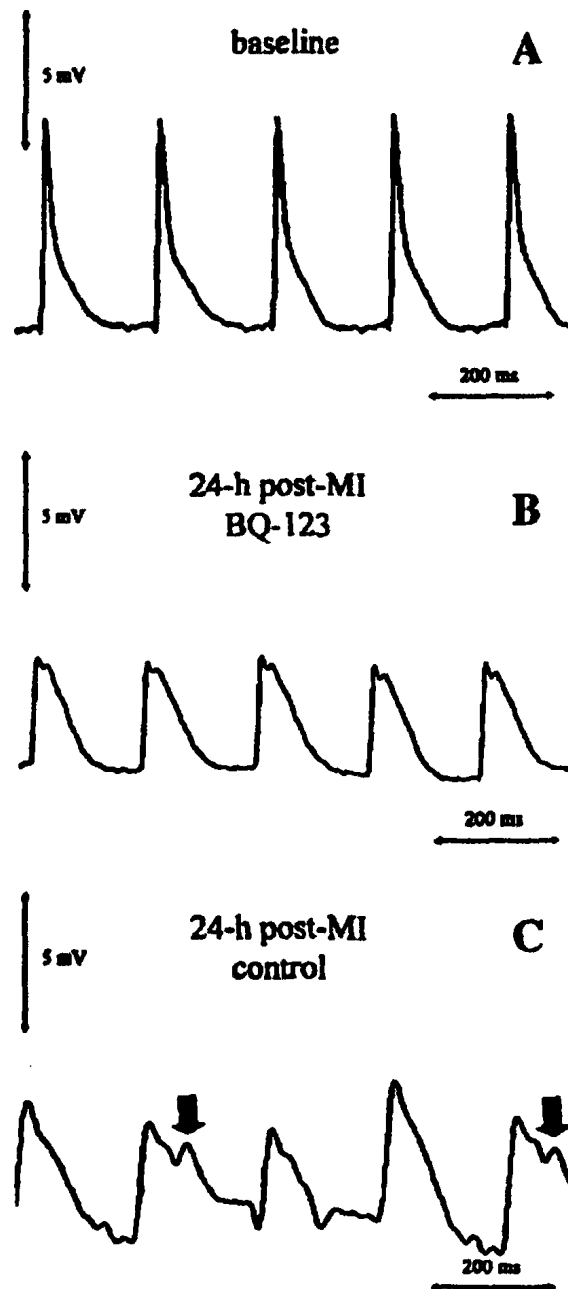


Αντίθετα, καμία στατιστικώς σημαντική μεταβολή δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα του BQ-123 (πιν. 1).

Επιπλέον, βρέθηκε μια σημαντική διαφορά στη διακύμανση κάθε παλμού (beat-to-beat variability) ($F=34.0$, $p<0.0001$). Αυτή η διακύμανση οφειλόταν σε μια σημαντική αύξηση στη διακύμανση κάθε παλμού στην ομάδα ελέγχου 24 ώρες μετά το OEM σε σχέση με τις τιμές αναφοράς ($p=0.0001$).

Αυτά τα ευρήματα συσχετίστηκαν με την εμφάνιση πρωίμων μετεκπολώσεων (Εικ. 22).





Εικ. 22 Χαρακτηριστικά παραδείγματα καταγραφών μονοφασικών δυναμικών ενέργειας από το επικάρδιο της αριστερής κοιλίας (Α) *baseline* (τιμή αναφοράς) στην ομάδα του BQ-123, 24 ώρες μετά το OEM (Β), και στην ομάδα ελέγχου (Γ). Παρατηρείστε την αύξηση στη διάρκεια και στη διαφοροποίηση κάθε παλμού (*beat-to-beat variability*) στο Γ, κάτι που δεν παρατηρείται στο Β. Τα βέλη δείχνουν πρώιμες μετεκπολώσεις.

Αντίθετα, καμία σημαντική διαφορά στη διακύμανση κάθε παλμού δεν παρουσιάστηκε στην ομάδα του BQ-123.

Το εύρος των μονοφασικών δυναμικών μειώθηκε σημαντικά και στις δύο ομάδες 24 ώρες μετά την πρόκληση του OEM, χωρίς την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ τους.

Όλες οι τιμές φαίνονται στον πίνακα 1.

B) Δεύτερο μέρος

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μελετήθηκαν 50 πειραματόζωα, από τα οποία, μετά την τυχαιοποίηση, 26 έλαβαν bosentan και 24 φυσιολογικό ορό (Φ.Ο.). Επιπλέον, 6 επίμυες χρησιμοποιήθηκαν ως sham. Από τα 56 ζώα, 4 πέθαναν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας και εξαιρέθηκαν της μελέτης (2 είχαν τυχαιοποιηθεί σε bosentan, ένα σε Φ.Ο., και ένα ήταν sham). Έτσι, ο τελικός πληθυσμός αποτελούνταν από 52 πειραματόζωα, από τα οποία 24 (223 ± 3 γρ.) έλαβαν bosentan και 23 (224 ± 3 γρ.) Φ.Ο., ενώ 5 (224 ± 4 γρ.) ήταν sham.

Κατά τη διάρκεια των 24 ωρών μετά το OEM, 3 πειραματόζωα στην ομάδα του bosentan (12.5%, όλα κατά τη Φάση I) και 8 (34.7%, 3 κατά τη Φάση I και 5 κατά τη Φάση II) στην ομάδα ελέγχου είχαν κάποιο θανατηφόρο επεισόδιο ΚΤ/ΚΜ ($p=0.093$). Δύο (8.3%, 1 κατά τη Φάση I και 1 κατά τη Φάση II) επιπλέον επίμυες στην ομάδα του bosentan και 1 (4.3%, κατά τη Φάση II) στην ομάδα ελέγχου πέθαναν λόγω βραδυκαρδίας που σχετιζόταν με πλήρη κολποκοιλιακό αποκλεισμό. Η ολική θνητότητα μεταξύ των δύο ομάδων δεν διέφερε σημαντικά ($p=0.21$).

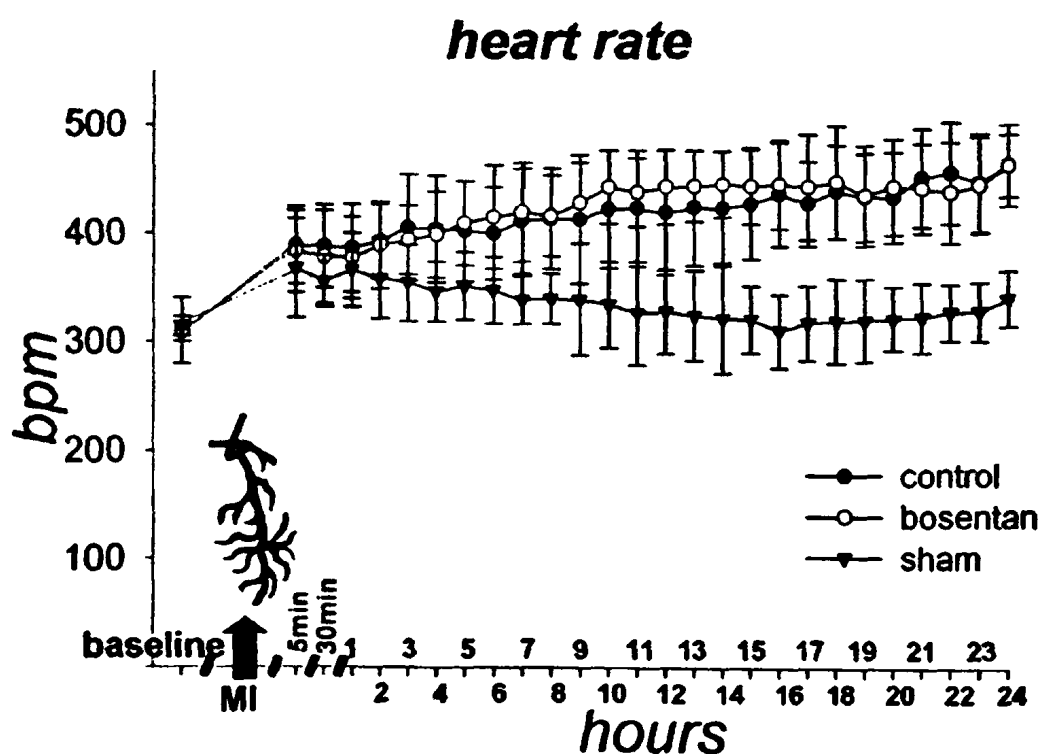
9.6 Μέγεθος εμφράγματος

Υπολογίστηκε για τους 33 επιζώντες, δηλαδή για 19 από την ομάδα του bosentan και 14 για την ομάδα ελέγχου, και ήταν συγκρίσιμο μεταξύ των δύο ομάδων ($37.9\% \pm 1.5\%$ και $39.1 \pm 1.4\%$ αντίστοιχα, $p=0.57$).



9.7 Καρδιακή συχνότητα

Η καρδιακή συχνότητα αυξήθηκε σημαντικά σε σχέση με το χρόνο ($F=5.93$, $p<0.0001$, εικόνα 23), χωρίς, όμως, να διαφέρει ανάμεσα στις δύο ομάδες ($F=0.91$, $p=0.38$). Υπήρξε και μια αύξηση στα πειραματόζωα που ήταν sham ($F=2.0$, $p=0.007$), (που μπορεί να αποδοθεί στη διαδικασία), με την καρδιακή συχνότητα να επιστρέφει στα φυσιολογικά επίπεδα μετά την τρίτη ώρα της καταγραφής.



Εικ. 23 Καρδιακή συχνότητα μετά το OEM στην ομάδα ελέγχου, την ομάδα του bosentan και το sham. Παρατηρείστε τη σημαντική αύξηση της καρδιακής συχνότητας μετά την περιδέρση της στεφανιαίας αρτηρίας στην ομάδα του ελέγχου και στην ομάδα του bosentan.

9.8 Αριθμός και διάρκεια των επεισοδίων ΚΤ/ΚΜ

Εκτός από κάποιες απλές έκτακτες κοιλιακές συστολές, κανένα επεισόδιο ΚΤ/ΚΜ δεν καταγράφηκε στα πειραματόζωα sham. Όταν εξετάστηκε όλη η περίοδος των 24 ωρών, υπήρξε μια στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p=0.0012$) στο συνολικό αριθμό των επεισοδίων ΚΤ/ΚΜ στην ομάδα του bosentan (46 ± 18) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (235 ± 81). Η διαφορά αυτή οφείλεται, κυρίως, στη μείωση ($p=0.017$) των επεισοδίων ΚΤ/ΚΜ στη Φάση II, ανάμεσα στην ομάδα του bosentan (46 ± 20) και την ομάδα ελέγχου (248 ± 92). Αντίθετα, τα επεισόδια των ΚΤ/ΚΜ δεν διέφεραν σημαντικά ($p=0.178$) στη Φάση I στην ομάδα του bosentan (7 ± 2) και στην ομάδα ελέγχου (19 ± 4). Η μέση διάρκεια κάθε επεισοδίου ήταν περίπου ίδια για τις δυο ομάδες (14.1 ± 7.6 sec για τα πειραματόζωα που έλαβαν bosentan και 14.1 ± 4.8 sec για την ομάδα ελέγχου).

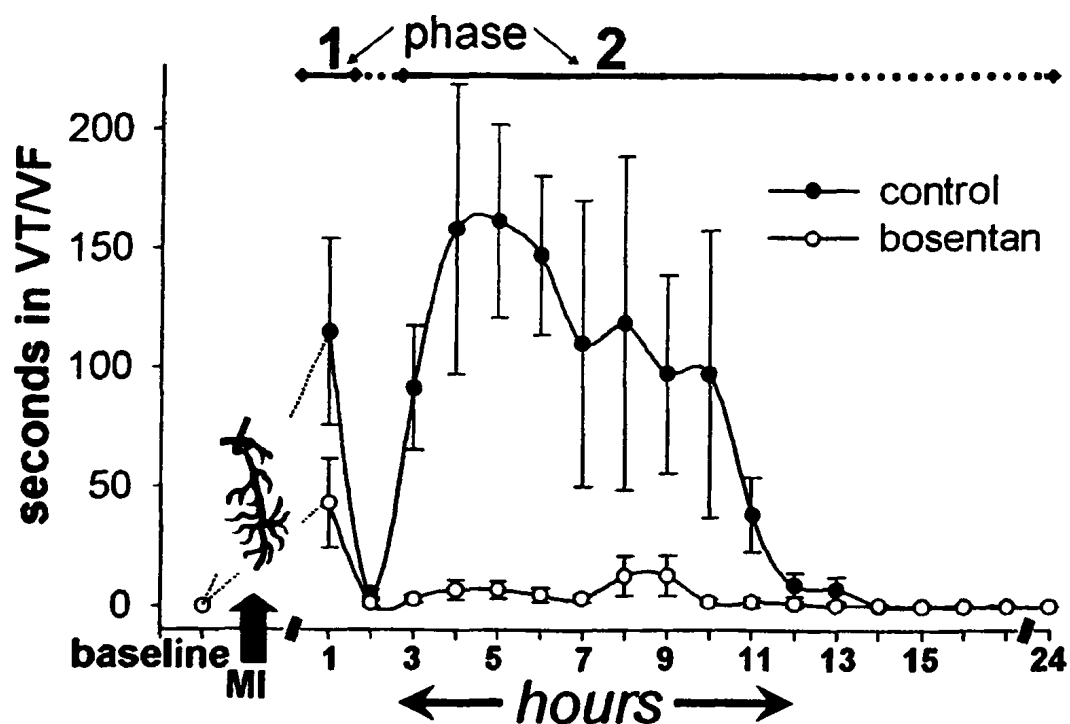
9.9 Ωριαία διάρκεια των ΚΤ/ΚΜ κατά τη διάρκεια των Φάσεων I και II

Όταν υπολογίστηκαν και οι δύο Φάσεις η ωριαία διάρκεια των ΚΤ/ΚΜ ήταν μικρότερη ($p<0.00001$) στην ομάδα του bosentan (92 ± 28 sec) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (1013 ± 179 sec). Το γεγονός αυτό οφειλόταν στη μείωση ($p<0.00001$) στη Φάση II της ωριαίας διάρκειας των ΚΤ/ΚΜ στην ομάδα του bosentan (59 ± 24 sec) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (1012 ± 185 sec). Κατά τη διάρκεια της Φάσης I υπήρχε μία τάση μείωσης ($p=0.053$) στα πειραματόζωα που έλαβαν bosentan (43 ± 18 sec) σε σχέση με τους επίμυες που έλαβαν Φ.Ο. (132 ± 38 sec). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν μετά την κανονικοποίηση των τιμών. Για τη φάση I η τάση παρέμεινε ($p=0.082$) για την ομάδα του bosentan (168 ± 120 sec) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (253 ± 101 sec). Για την Φάση II οι τιμές παρέμειναν στατιστικά μικρότερες ($p<0.00001$) για την ομάδα του bosentan (3 ± 1 sec), σε σύγκριση με την ομάδα που έλαβε Φ.Ο. (104 ± 28 sec).



9.10 Κατανομή της ωριαίας διάρκειας των κοιλιακών ταχυαρρυθμιών

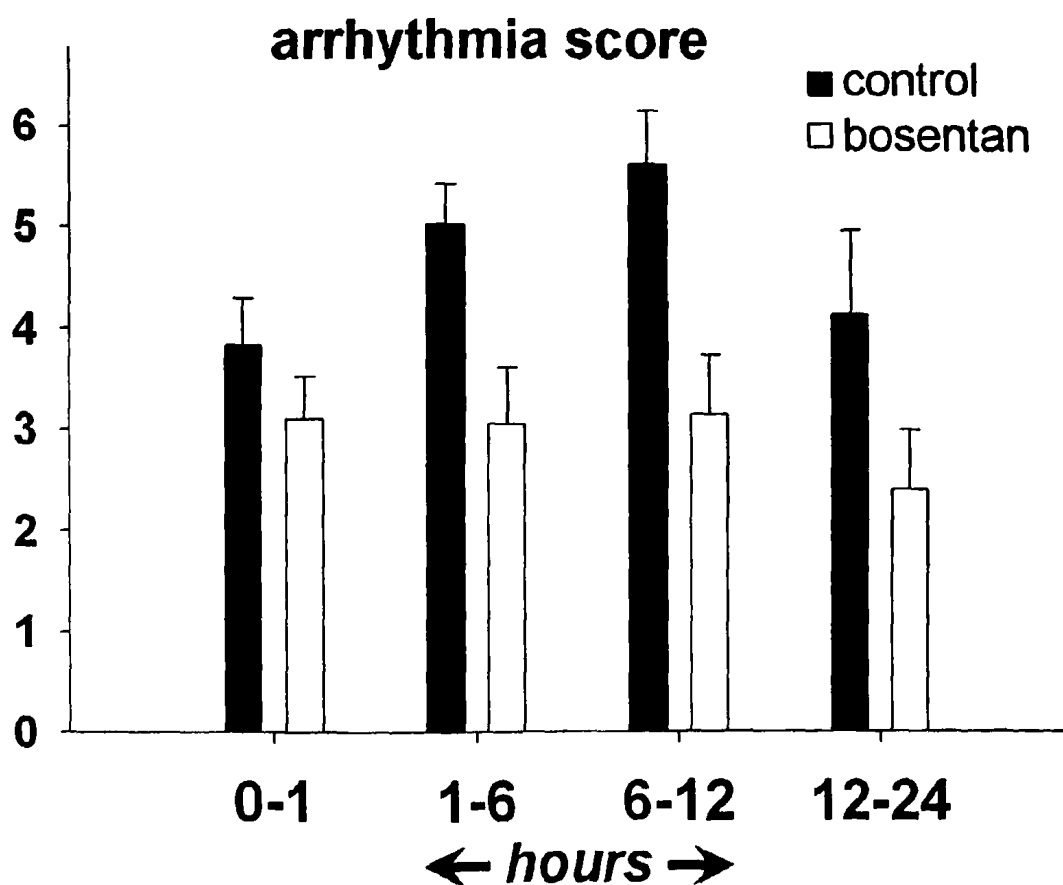
Τα αποτελέσματα στη διάρκεια του 24ώρου φαίνονται στη εικόνα 24. Η κατά ώρα καταγραφής διάρκεια των ΚΤ/ΚΜ ήταν στατιστικά μικρότερες για την ομάδα του bosentan για την πρώτη και ενδέκατη ώρα.



Εικ. 24 Κατανομή της ωριαίας διάρκειας των κοιλιακών ταχυαρρυθμιών.

Αρρυθμικό σκορ

Το αρρυθμικό σκορ δεν ήταν στατιστικά διαφορετικό μεταξύ των δύο ομάδων για τις ώρες 0-1(Φάση I $p=0.26$) και 12-24 ($p=0.23$) μετά την απολίνωση της στεφανιαίας αρτηρίας. Βρέθηκαν, όμως, διαφορές υπέρ της ομάδας του bosentan μεταξύ των ωρών 1-6 ($p=0.000495$) και 6-12 ($p=0.001073$), όπως φαίνεται στην εικόνα 25.



Εικ. 25 Αρρυθμικό σκορ. Παρατηρείστε τη σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες, ειδικά για τις ώρες 1-6, 6-12 και 12-24.

9.11 Διάρκεια των μονοφασικών δυναμικών

Από του 33 επιζήσαντες, είχαμε σήματα διαθέσιμα για ανάλυση από 23 πειραματόζωα. Καμιά διακύμανση δε βρέθηκε στο APD90 της δεξιάς κοιλίας ($F=2.12$, $p=0.17$) ή στη διακύμανση κάθε παλμού (beat-to-beat variability) ($F=1.52$, $p=0.23$). Υπήρξε μια σημαντική διακύμανση ($F=8.58$, $p=0.0137$) στο APD90 της αριστερής κοιλίας, που οφειλόταν σε μια αύξηση ($p=0.0063$) του APD90 24 ώρες μετά το OEM στους επίμυες που έλαβαν Φ.Ο. Το APD90 της ομάδας του bosentan παρέμεινε αμετάβλητο ($p=0.44$) (Πιν. 2). Επιπλέον, υπήρξε διαφορά ($F=6.61$, $p=0.018$) και στη διακύμανση κάθε παλμού (beat-to-beat variability) στο APD90 της αριστερής κοιλίας εξαιτίας της αύξησης ($p=0.00051$) που παρατηρήθηκε στην ομάδα ελέγχου μεταξύ των τιμών αναφοράς (baseline) και των τιμών μετά το OEM. Οι αντίστοιχες τιμές στην ομάδα του bosentan ήταν αμετάβλητες ($p=0.52$). Όλες οι τιμές φαίνονται στον Πιν 2.

Αλλαγές στη διάρκεια του δυναμικού ενέργειας και κατά τη διάρκεια του χρόνου στις δύο ομάδες.

	bosentan	control
APD90 baseline LV (ms)	94.1±3.6	93.1±4.7
APV90 24h μετά το OEM LV (ms)	97.6±7.2	117.6±6.9*
beat-to-beat variability LV APD baseline (ms)	3.46±0.32	4.14±0.45
beat-to-beat variability LV APD 24h μετά το OEM (ms)	4.46±0.54	10.42±2.5*

* $p<0.05$ versus baseline



9.12 Επίπεδα κατεχολαμινών

Τα επίπεδα της νορ-αδρεναλίνης 24 ώρες μετά το OEM ήταν στατιστικά μικρότερα ($p < 0.00001$) στην ομάδα του bosentan ($10.2 \pm 5.4 \mu\text{g/l}$), σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($74.0 \pm 1.8 \mu\text{g/l}$). Ωστόσο, αντίθετα ήταν τα αποτελέσματα για τα επίπεδα της αδρεναλίνης, τα οποία ήταν υψηλότερα ($p = 0.006319$) για την ομάδα του bosentan ($20.0 \pm 4.9 \mu\text{g/l}$), σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($5.2 \pm 0.6 \mu\text{g/l}$).

9.13 Heart rate variability

Καμιά διαφορά δε βρέθηκε στο πεδίο ορισμού του χρόνου. Στο πεδίο ορισμού των συχνοτήτων, το χαμηλής συχνότητας φάσμα (LF) και ο λόγος LF/HF ήταν χαμηλότερα στα πειραματόζωα που έλαβαν bosentan στα 3 λεπτά, στις 4.5 ώρες και στις 24 ώρες μετά το OEM (Πιν. 3, Εικ. 26).



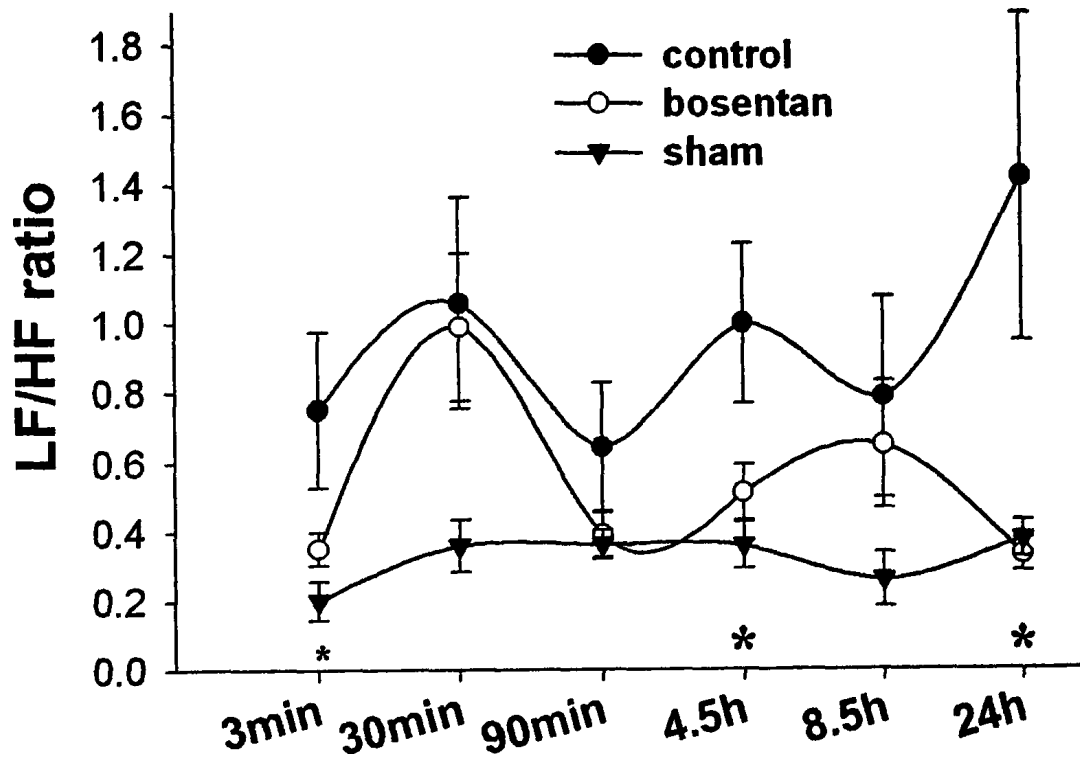
Πιν. 3. Παράμετροι της μεταβλητότητας της καρδιακής συχνότητας στο πεδίο των συχνοτήτων μετά την απόφραξη στις τρεις ομάδες Frequency domain parameters of heart rate variability post-ligation in the three groups.

	control	bosentan	Sham
low frequency (% of peak)			
3 min	21.8±3.5	11.9±1.7*	6.3±2.9*
30 min	35.2±8.4	36.5±7.1**	10.3±3.4
90 min	23.3±4.8	18.0±3.4	15.3±2.5
4.5 h	32.4±6.3	18.6±2.3*	11.3±1.4*
8.5 h	28.2±5.3	22.9±3.9	3.9±0.8
24h	33.3±6.1	18.1±3.4*	11.5±2.0*
high frequency (% of peak)			
3 min	42.5±5.3	38.9±4.7	29.2±5.9
30 min	41.9±5.3	41.2±3.5	26.4±4.2
90 min	41.0±3.9	46.5±3.7	42.5±4.7
4.5 h	44.6±7.5	41.3±3.7	33.7±3.4
8.5 h	54.0±10.3	46.0±3.9	17.9±7.1
24h	39.8±9.9	55.2±4.5	29.5±2.8

* $p < 0.05$ versus controls

** $p < 0.05$ versus 3 min





Εικ. 26 Μεταβλητότητα της καρδιακής συχνότητας (heart rate variability) στις τρεις ομάδες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10°

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο ρόλος της ET-1 στο Οξύ Έμφραγμα του Μυοκαρδίου

Ο ρόλος της ET-1 στην οξεία και στη χρόνια φάση του εμφράγματος είναι πιθανό να συνδέεται με τις ιδιότητές της που προάγουν τη φλεγμονή, τον πολλαπλασιασμό και την ίνωση, κατά τη διάρκεια της ουλοποίησης της εμφραχθείσας περιοχής.

Η ET-1 ενεργοποιεί την έκκριση ουδετερόφιλων ¹⁹⁷ και είναι χημειοτακτικός παράγοντας για τα μακροφάγα ¹⁹⁸.

Όπως τονίστηκε παραπάνω μετά το OEM τα επίπεδα της ET-1 στην περιοχή του εμφράκτου είναι πολύ υψηλότερα από το φυσιολογικό μυοκάρδιο. Η αξιοσημείωτη αυτή αύξηση του πεπτιδίου ξεκινά πολύ νωρίς (μέσα στις πρώτες 24 ώρες) και φτάνει τη μέγιστη τιμή της 7 ημέρες μετά το OEM ^{111,136,155}.

Τα αποτελέσματα αυτά μας κάνουν να υποθέσουμε ότι η ET-1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση της νεκρωτικής περιοχής και στη δημιουργία της ουλής.

Εκτός από τη δράση της στη δημιουργία της ουλής, ο ρόλος της ET-1 κατά τη διάρκεια της οξείας ισχαιμίας παραμένει αντιφατικός. Σε πειραματικά πρότυπα απόφραξης και επαναιμάτωσης η χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 άλλοτε έχει θετικά αποτελέσματα στο μέγεθος του εμφράκτου, την επίπτωση των αρρυθμιών, το μεταβολισμό και τη λειτουργία του μυοκαρδίου και άλλοτε δεν επιφέρει κανένα θετικό αποτέλεσμα.

Σε αντίθεση με τα αντικρουόμενα αποτελέσματα για τους ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1, η εξωγενής χορήγηση ET-1 κατά τη διάρκεια OEM σε δόσεις που δεν προκαλούν στεφανιαία αγγειοσύσπασση, έχει αναφερθεί ότι έχει θετικά αποτελέσματα στο μέγεθος του εμφράγματος και στον αριθμό των επεισοδίων των αρρυθμιών ^{130,199}. Φαίνεται, δηλαδή ότι υπό ορισμένες προϋποθέσεις είναι πιθανό να έχει θετικά αποτελέσματα.



Άμεσες επιδράσεις της αναστολής της ET-1 αμέσως μετά το OEM

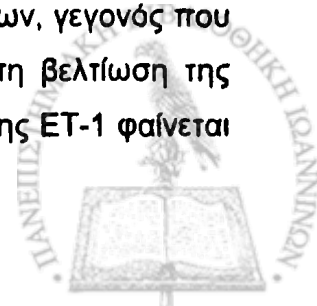
Οι Watanabe και συν.¹⁵⁰ ήταν οι πρώτοι που ανέφεραν θετικά αποτελέσματα από την αναστολή της δράσης της ET-1 αμέσως μετά την πρόκληση OEM. Συγκεκριμένα, χορήγησαν επανειλημμένα μονοκλωνικά αντισώματα κατά της ET-1 και διαπίστωσαν μια μείωση του μεγέθους του εμφράγματος από το 35% της ομάδας ελέγχου στο 20% το πρώτο 24ώρο και από το 41% στο 23% αντίστοιχα στις 48 ώρες. Επιπρόσθετα, η θνησιμότητα μειώθηκε από το 37% στην ομάδα ελέγχου στο 0% στην ομάδα που έλαβε μονοκλωνικά αντισώματα κατά της ET-1.

Μεταγενέστερες μελέτες ανέφεραν θετικά αποτελέσματα από τη χρήση είτε εκλεκτικών ανταγωνιστών των υποδοχέων ETA της ET-1 είτε μικτών ETA/ETB ανταγωνιστών στη λειτουργικότητα του μυοκαρδίου²⁰⁰⁻²⁰² στο μέγεθος του εμφράγματος^{138,203} και στις αρρυθμίες²⁰⁴ σε πειραματικά πρότυπα OEM με ή χωρίς επαναιμάτωση.

Άλλες, όμως, μελέτες σε παρόμοιες συνθήκες δεν ανέφεραν κανένα αποτέλεσμα από τη χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 στη λειτουργικότητα του μυοκαρδίου ή τις αρρυθμίες^{205-208 209}.

Παρά το αδιαμφισβήτητο γεγονός ότι το καρδιακό κλάσμα της ET-1 αυξάνεται κατά την οξεία φάση του εμφράγματος, είναι πιθανό, ειδικά κατά τη διάρκεια βραχυπρόθεσμων πειραμάτων OEM με επαναιμάτωση *in vitro*, ο χρόνος να μην επαρκεί για σημαντική αύξηση των επιπέδων της ET-1 και έτσι τα προσδοκώμενα θετικά αποτελέσματα από τη χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 να επικαλύπτονται. Στην πραγματικότητα, οι περισσότερες μελέτες που δεν αναφέρουν θετικά αποτελέσματα από τον ανταγωνισμό της ET-1, εκτίμησαν τα τελικά τους σημεία τις πρώτες 2 ώρες μετά το OEM^{205,206 207}.

Μεταξύ των μηχανισμών με τους οποίους η αναστολή της δράσης της ET-1 έχει θετικά αποτελέσματα φαίνεται να είναι η μείωση της ενεργοποίησης των ουδετερόφιλων και της δράσης τους στη νεκρωτική περιοχή. Οι Gopou και συν.^{202,210} έδειξαν σε πειραματικά πρότυπα ισχαιμίας ότι οι ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1 μείωσαν τη διείσδυση των ουδετερόφιλων, γεγονός που οδήγησε στη μείωση του μεγέθους του εμφράγματος και τη βελτίωση της λειτουργίας της αριστερής κοιλίας. Μερικές από τις δράσεις της ET-1 φαίνεται



ότι οφείλονται στην απελευθέρωση NO²¹¹.

Ο χρόνος που θα χρησιμοποιηθούν οι ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1, καθώς και η διάρκεια εφαρμογής τους φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Οι Cernacek και συν.¹³⁸ παρατήρησαν ότι όταν χορηγούσαν τον εκλεκτικό ανταγωνιστή των ETA υποδοχέων BMS 193884 τρεις ημέρες πριν την πρόκληση OEM έως δύο ημέρες μετά το OEM δεν παρατηρήθηκε κανένα αποτέλεσμα, παρά την σημαντική αύξηση των καρδιακών επιπέδων της ET-1 και στην περιοχή της ουλής και στο βιώσιμο μυοκάρδιο. Αντίθετα, όταν η χορήγηση επεκτεινόταν έως και οκτώ ημέρες μετά το OEM, παρατήρησαν μείωση του μεγέθους του εμφράγματος από 41% στο 27% στην ομάδα που έλαβε την ουσία, καθώς και αύξηση της συγκέντρωσης του κολλαγόνου I στην περιοχή του εμφράκτου έως και 72%. Το γεγονός αυτό συσχετίστηκε με μια αξιοσημείωτη ελάττωση της συγκέντρωσης της ET-1 τόσο στην περιοχή της ουλής όσο και στη βιώσιμη ζώνη. Δεν παρατηρήθηκαν, όμως, διαφορές στην επιβίωση, τις αιμοδυναμικές παραμέτρους, την καρδιακή υπερτροφία ή την κοιλιακή διάταση.

Πιθανολογήθηκε επίσης, ότι οι ανταγωνιστές της ET-1 θα μείωναν τις φλεγμονώδεις διεργασίες στην περιοχή της ουλής. Πράγματι, όπως αναφέρουν οι Kurzelewski και συν.²¹², σε απομονωμένες καρδιές ινδικών χοιριδίων ο ανταγωνισμός των ETA υποδοχέων εμπόδισε την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο των στεφανιαίων αγγείων που ισχαιμούσαν.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η ET-1 παρουσιάζει κάποιες ομοιότητες με τον TNF-alpha (Tumor Necrosis Factor-alpha) στην οξεία φάση του OEM. Ο TNF-alpha είναι μια φλεγμονώδης κυτοκίνη που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην καρδιακή ανεπάρκεια και στη μετεμφραγματική περίοδο, όταν τα επίπεδά του είναι ιδιαίτερα αυξημένα. Σε πειραματικό πρότυπο εμφράγματος άγριων ποντικών παρατηρήθηκε σημαντικά αυξημένη θνητότητα λόγω ρήξης του μυοκαρδίου σε σύγκριση με ποντικούς που το γονίδιο του TNF-alpha είχε αφαιρεθεί (knock out mice). Επιπλέον, τα ποντίκια αυτά είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στην περιοχή του κολλαγόνου με καλύτερα αποτελέσματα στην επούλωση της εμφραγματικής περιοχής²¹³.

Είναι άγνωστο αν η έναρξη της χορήγησης των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 πριν την πρόκληση του OEM, μειώνει το μέγεθος του



εμφράγματος. Δεδομένου ότι υπό αυτές τις συνθήκες η καρδιακή ET-1 αυξάνεται τόσο στην εμφραγματική όσο και στην ενδιάμεση και απομακρυσμένη περιοχή είναι πιθανό η μείωση της στεφανιαίας αγγειοσύσπασης που ευοδώνεται από τους ETA και ETB υποδοχείς να βοηθά στη διατήρηση καλύτερης στεφανιαίας κυκλοφορίας. Έτσι, πιθανό να σώζεται περισσότερο μυοκάρδιο και να μειώνεται το μέγεθος του εμφράγματος. Οι Cernacek και συν. χρησιμοποίησαν έναν ανταγωνιστή των ETA υποδοχέων σε πειραματικό πρότυπο εμφράγματος σε επίμυες πριν την απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας και τα αποτελέσματά τους φαίνεται να ενισχύουν την παραπάνω υπόθεση. Ωστόσο, οι μηχανισμοί αυτών των θετικών συνεπειών παραμένουν αδιευκρίνιστοι.

Χρόνια χορήγηση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 μετά το OEM

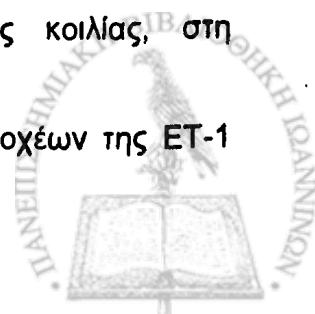
Η ισχαιμική καρδιοπάθεια και το έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελούν τις συχνότερες αιτίες χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας. Σε όλα τα μη ισχαιμικά πρότυπα που μελετήθηκαν έως τώρα (ταχείας κοιλιακής βηματοδότησης²¹⁴⁻²¹⁶, ιογενούς μυοκαρδίτιδας^{217,218}, γενετικών προτύπων^{219,220}), η χρόνια χορήγηση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 βελτίωσε αναμφίβολα την επιβίωση, την καρδιακή μορφολογία και λειτουργία, ενώ απέτρεψε την εμφάνιση πνευμονικής υπέρτασης. Επιπλέον, μειώθηκε η νευροορμονική απάντηση και η αλλαγή στην έκφραση καρδιακών γονιδίων που παρατηρούνται κατά την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας.

Τα παρόμοια θετικά αποτελέσματα που παρατηρούνται στα μη ισχαιμικά πρότυπα έρχονται σε αντίθεση με τα αντιφατικά αποτελέσματα του χρόνιου ανταγωνισμού των υποδοχέων της ET-1 μετά το OEM.

Το πειραματικό πρότυπο OEM σε επίμυες έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζει πολλά κοινά στοιχεία με την ανθρώπινη παθολογία^{221,222}. Σε αυτό το πρότυπο, η χρόνια χορήγηση ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 έχει θετικά αποτελέσματα σε κάποιες μελέτες και επιζήμιες σε κάποιες άλλες.

Όταν η θεραπεία ξεκινούσε 7-10 ημέρες μετά την πρόκληση του OEM, υπήρχε βελτίωση στην αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας, στη λειτουργικότητά της και γενικότερα στην επιβίωση^{57,223-225}.

Αντίθετα, όταν η χορήγηση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1



ξεκινούσε νωρίς ή αμέσως μετά το OEM παρουσιάστηκαν αντίθετα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα, όπως περαιτέρω λέπτυνση και διάταση της εμφραγματικής περιοχής, καθώς και δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας. Τα παραπάνω είχαν ως συνέπεια είτε να μην υπάρχει καμία επίδραση στην επιβίωση είτε τα αποτελέσματα να είναι και χειρότερα ^{59,135,221,226-228}. Οι Nguyen και συν. ¹³⁵ χρησιμοποιώντας έναν ανταγωνιστή ETA των υποδοχέων της ET-1, βρήκαν αρνητικά αποτελέσματα παρά τη μείωση της πνευμονικής υπέρτασης.

Οι ίδιοι ερευνητές ⁵⁹ παρουσίασαν τη μοναδική μελέτη που εξέτασε τις μακροχρόνιες επιδράσεις τόσο από την πρώιμη όσο και από την όψιμη χορήγηση των ανταγωνιστών της ET-1. Συγκεκριμένα, χορήγησαν το μικτό ανταγωνιστή των υποδοχέων ETA/ETB LU 420627 σε πειραματόζωα που είχαν υποστεί OEM σε δύο ομάδες. Στην πρώτη το πρώτο 24ώρο μετά και - στη δεύτερη 10 ημέρες μετά το OEM. Στη συνέχεια, εξέτασαν τα αποτελέσματα 100 ημέρες μετά το καρδιακό επεισόδιο. Παρατήρησαν αρνητικά αποτελέσματα και στις δύο ομάδες. Η μελέτη αυτή καταδεικνύει περισσότερο από κάθε άλλη τη σημασία της χρονικής παρέμβασης με ανταγωνιστές της ET-1, αλλά δείχνει και τον πιθανό καρδιοπροστατευτικό ρόλο των ETB υποδοχέων στις μετεμφραγματικές συνθήκες.

Περισσότερα θετικά αποτελέσματα φαίνεται ότι έχουμε στη βραχεία χορήγηση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 στην πρώιμη φάση του OEM και στα πειραματικά πρότυπα ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Αν συνοψίσουμε τα αποτελέσματα της οξείας και χρόνιας χορήγησης φαίνεται ότι η ενεργοποίηση του συστήματος της ET-1 έχει διπλό ρόλο. Ο πρώτος, αυτός της οξείας φάσης όπου εντείνει την ισχαιμική βλάβη και οδηγεί σε αρρυθμίες και ο δεύτερος, της χρόνιας φάσης, που βελτιώνει την επούλωση και αποτρέπει την επέκταση του εμφράκτου. Κατά συνέπεια, ο ανταγωνισμός των υποδοχέων της ET-1 μπορεί να έχει θετικά αποτελέσματα στην οξεία χορήγηση, λόγω της μείωσης του μεγέθους του εμφράγματος και των αρρυθμιών και αρνητικά στη χρόνια χορήγηση λόγω της έκπτωσης και διάτασης της εμφραγματικής περιοχής.

Δεδομένου ότι καμιά μελέτη μέχρι τώρα δεν έχει εξετάσει τις επιδράσεις των ανταγωνιστών των υποδοχέων πριν, κατά τη διάρκεια και μετά το OEM, δεν υπάρχει ακόμη σαφής εικόνα για την καταλληλότερη χρονική στιγμή



παρέμβασης.

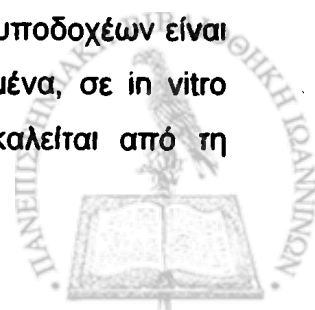
Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η οξεία και βραχεία χορήγηση ενδοφλέβιων ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 με μικρό χρόνο ημίσειας ζωής, όπως το sitaxsentan⁵⁶ ή το tezosentan^{229,230}, ειδικά σε ασθενείς με οξεία καρδιακή ανεπάρκεια και σημαντική κοιλιακή δυσλειτουργία μετά από OEM.

Το ιδιαίτερο αυτό ζήτημα αξίζει περισσότερης προσοχής, γιατί υπάρχουν ευνοϊκά αποτελέσματα στις αιμοδυναμικές παραμέτρους, την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και το πνευμονικό οίδημα στην οξεία εγκατάσταση της καρδιακής ανεπάρκειας²³¹. Θεωρητικά, θα ήταν ωφέλιμο να διακόπταμε τη χορήγησή τους νωρίς ώστε να μην επιδεινώσουμε την επέκταση του εμφράκτου. Οι Clozel και συν.²³¹ αναφέρουν σε πειραματικό πρότυπο σε επίμυες ότι η βραχεία χορήγηση tezosentan αμέσως μετά το OEM (δύο ενδοφλέβιες δόσεις στο πρώτο 24ώρο), όχι μόνο βελτίωσε τις αιμοδυναμικές παραμέτρους τις πρώτες 48 ώρες, αλλά βελτίωσε και τη μακροχρόνια επιβίωση και την καρδιακή υπερτροφία 5 μήνες μετά το OEM.

Ένα άλλο σημαντικό σημείο αντιπαράθεσης είναι το ερώτημα που τίθεται για το αν είναι προτιμότερη η χρησιμοποίηση εκλεκτικών ETA ή μικτών ETA/ETB ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1. Για την απάντηση του ερωτήματος αυτού δε θα πρέπει να αγνοήσουμε το γεγονός ότι ο πιθανός αποκλεισμός των ETB υποδοχέων ενδέχεται να μειώσει την παραγωγή NO που παράγεται από τη μεσολάβηση αυτού του τύπου των υποδοχέων.

Πράγματι, ο χρόνιος αποκλεισμός των ETB υποδοχέων είναι δυνατό να οδηγήσει σε συστηματική²³² ή πνευμονική υπέρταση²³³. Οι Nguyen και συν. αναφέρουν τον καρδιοπροστατευτικό ρόλο των ETB υποδοχέων στο OEM. Σε συμφωνία με τα παραπάνω αποτελέσματα οι Bauersachs και συν.²³⁴ διαπίστωσαν τη θετική επίδραση του ανταγωνισμού των ETA υποδοχέων στην ενδοθηλιακή λειτουργία, κάτι που δεν επιτεύχθηκε με τη χρήση μικτών ανταγωνιστών ETA/B. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό να αναφερθεί ότι τα θετικά αποτελέσματα από τη χρόνια χορήγηση ανταγωνιστών των ETA υποδοχέων στην ενδοθηλιακή λειτουργία, επιβεβαιώθηκαν και σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια²³⁵.

Από την άλλη μεριά, η προσθήκη ανταγωνισμού των ETB υποδοχέων είναι δυνατό να αναστείλει την έκκριση αλδοστερόνης. Συγκεκριμένα, σε *in vitro* μελέτες^{236,237} φαίνεται η έκκριση αλδοστερόνης να προκαλείται από τη



διέγερση των ETB υποδοχέων. Δεδομένου ότι η αλδοστερόνη είναι αυξημένη και προκαλεί αρνητικές συνέπειες στη δημιουργία χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας, η καταστολή της σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντική ²³⁸. Σε μη ισχαιμικό πρότυπο καρδιακής ανεπάρκειας οι Sawaki και συν. ²³⁹ μέσω του χρόνιου ανταγωνισμού εκλεκτικά των ETB υποδοχέων βελτίωσαν την κατακράτηση υγρών λόγω της αναστολής του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης, παρά τα αναμενόμενα μειονεκτήματα σε αιμοδυναμικές παραμέτρους.

Έχει επίσης αναφερθεί ότι ο ανταγωνισμός των ETB υποδοχέων βελτιώνει την καρδιακή ίνωση ¹⁴⁵, αλλά σε δύο μεταγενέστερες αναφορές δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ εκλεκτικών ETA και μικτών ETA/B ανταγωνιστών ^{224,240}.

Τα συνεχιζόμενα θετικά αποτελέσματα από τη χρήση του Bosentan, που αποκλείει κυρίως τους ETA και εν μέρει τους ETB υποδοχείς, ίσως αποδειχθεί η καλύτερη επιλογή στο OEM, αλλά και σε συνθήκες καρδιακής ανεπάρκειας. Παρά το γεγονός ότι το Bosentan ταξινομείται ως μικτός ανταγωνιστής, στην πραγματικότητα παρουσιάζει 20 φορές μεγαλύτερη συγγένεια για τους ETA από τους ETB υποδοχείς ¹⁷⁴.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι σε θηλυκούς επίμυες που είχαν αφαιρεθεί οι ωοθήκες, παρατηρήθηκε μια αύξηση της έκφρασης των ETB υποδοχέων στην καρδιά, η οποία συσχετίστηκε με μεγαλύτερη διάταση της αριστερής κοιλίας. Τόσο η έκφραση της ET-1 μέσω των υποδοχέων ETB όσο και η διάταση της αριστερής κοιλίας μειώθηκαν με θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα ²⁴¹.

Παρά τα αντικρουόμενα αποτελέσματα φαίνεται ότι η πρόωμη έναρξη χρόνιας χορήγησης ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 μετά το OEM οδηγεί σε βραχυχρόνια θετικά αποτελέσματα, αλλά σε αρνητικά μακροχρόνια αποτελέσματα. Σε κάθε περίπτωση, περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για να διευκρινιστεί ο ρόλος του συστήματος της ET-1 στην πολύπλοκη παθοφυσιολογία του εμφράγματος του μυοκαρδίου.



A) Πρώτο μέρος

Ο αιφνίδιος καρδιακός θάνατος υπολογίζεται ότι περιλαμβάνει το 50% των υπολογιζόμενων 500.000 καρδιαγγειακών θανάτων στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, και παρόμοιοι αριθμοί ισχύουν και στην Ευρώπη ²⁴². Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι συχνά υπεύθυνο για αιφνίδιο καρδιακό θάνατο σε ασθενείς χωρίς προηγούμενο ιστορικό στεφανιαίας νόσου και στους οποίους ένα θανατηφόρο επεισόδιο κοιλιακής αρρυθμίας μπορεί να είναι η πρώτη κλινική εκδήλωση αθηρωμάτωσης των στεφανιαίων αρτηριών.

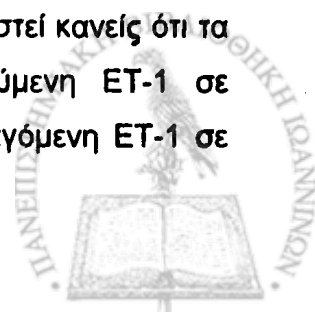
Η παθοφυσιολογία των κοιλιακών αρρυθμιών που επάγονται από ισχαιμία είναι πολύπλοκη και πολλές πτυχές παραμένουν αδιευκρίνιστες. Μέσα σε δευτερόλεπτα από την απόφραξη των στεφανιαίων αγγείων μεταβολικές και ιοντικές αλλαγές λαμβάνουν χώρα τοπικά στο ισχαιμικό μυοκάρδιο τη μεταβολή στην αγωγιμότητα της ανερέθιστης περιόδου, γεγονός που με τη σειρά του ευνοεί την έναρξη κοιλιακών αρρυθμιών από επανείσοδο ⁶⁷.

Η ET-1 είναι ένα αμινοπεπτιδίο που αποτελείται από 21 αμινοξέα και δρα μέσω δύο υποδοχέων, που ονομάζονται ETA και ETB και βρίσκονται στην καρδιά και στα αγγεία. Ανάμεσα σε άλλες παθήσεις τα επίπεδα της ET-1 αυξάνουν και στα οξεία στεφανιαία σύνδρομα ^{110,111,147}.

Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι η έκφραση της ET-1 στην εμφραγματική περιοχή αυξάνεται από την πρώτη ώρα έως και επτά ημέρες μετά την απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας ¹¹¹. Παρόμοια, αυξημένα επίπεδα ET-1 στο πλάσμα έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με OEM και φαίνεται ότι αποτελούν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα θνητότητας για τον πρώτο χρόνο ^{110,147}. Αυτή η αύξηση φτάνει στο μέγιστο 6 ώρες μετά το OEM και επιστρέφει στα φυσιολογικά επίπεδα 24 ώρες αργότερα. Μπορεί, όμως να παραταθεί σε ασθενείς που επιπλέκονται με καρδιακή ανεπάρκεια ¹¹⁰.

Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν υποδηλώνουν ότι η ET-1 συμβάλλει στην πρόκληση ΚΤ και ΚΜ ανεξάρτητα από την ύπαρξη ισχαιμίας ^{130,163-165,205,243-246}. Όμως οι ηλεκτροφυσιολογικές αυτές ιδιότητες της ET-1 είναι ακόμη υπό συζήτηση ^{130,164}.

Αυτό το ζήτημα γίνεται περισσότερο περίπλοκο αν αναλογιστεί κανείς ότι τα συμπεράσματα αυτά εξήχθησαν από εξωγενώς χορηγούμενη ET-1 σε κάποιες μελέτες ¹⁶⁵ και από τη δράση της ενδογενώς παραγόμενη ET-1 σε



άλλες ^{244,245}.

Στην παρούσα μελέτη, υποθέσαμε ότι η οξεία χορήγηση BQ-123, έναν ανταγωνιστή των υποδοχέων-A της ET-1, μπορεί να έχει αντιαρρυθμικές ιδιότητες, αναστέλλοντας την δυνητικά αρρυθμογόνο δράση της ενδογενώς παραγόμενης ET-1. Ελέγξαμε αυτή την υπόθεση στο πειραματικό πρότυπο OEM στον επίμου. Ο επίμυς παρουσιάζει με υψηλή συχνότητα ισχαιμικές κοιλιακές αρρυθμίες που ανατάσσονται αυτόματα, με επαναλήψιμο τρόπο, καθιστώντας αυτό το πρότυπο ιδανικό για την αξιολόγηση διαφόρων θεραπευτικών παρεμβάσεων ¹⁷⁹. Επιπλέον, το μικροσκοπικό ασύρματο σύστημα Holter που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη μας επιτρέπει τη μελέτη των αρρυθμιών για μεγάλα χρονικά διαστήματα στον επίμου που έχει ανανήψει από την επίδραση της αναισθησίας, αποκλείοντας έτσι τυχόν αλληλεπιδράσεις από αυτή ¹⁷⁹.

- Αναφέρουμε μια σημαντική μείωση στα αθροιζόμενα επεισόδια ΚΤ και ΚΜ μετά την οξεία χορήγηση του ανταγωνιστή των ΕΤΑ, καθώς επίσης και σημαντικά μικρότερη διάρκεια για κάθε ένα από τα επεισόδια αυτά. Αυτή η μείωση στο συνολικό αρρυθμιολογικό εύρος είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση της αρρυθμιολογικής θνητότητας. Όπως ήταν αναμενόμενο από τα συγκρίσιμα μεγέθη εμφραγμάτων, η θνητότητα από καρδιογενές shock ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες. Το γεγονός αυτό είχε σαν αποτέλεσμα μια μη στατιστικά σημαντική μείωση στην ολική θνητότητα.

Τα αποτελέσματα αυτά δεν μπορεί να οφείλονται σε μείωση της νεκρωτικής μυοκαρδιακής μάζας, δεδομένου ότι δεν υπήρξε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες ^{164,231}. Παρόμοια, το αντιαρρυθμικό αποτέλεσμα που παρατηρήθηκε δεν μπορεί να αποδοθεί σε μικρότερη διέγερση του συμπαθητικού στα πειραματόζωα που έλαβαν το BQ-123, όπως προτείνεται και από προηγούμενες μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκαν οξέως ανταγωνιστές των ΕΤΑ υποδοχέων ^{175,231}.

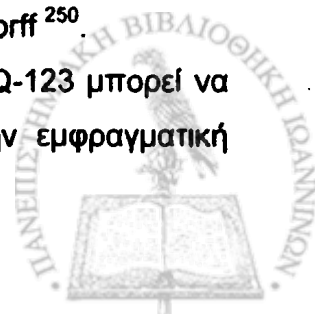
Η μείωση στο άθροισμα των επεισοδίων ΚΤ και ΚΜ θα μπορούσε να αποδοθεί σε αιμοδυναμικές συνέπειες από τον αποκλεισμό των ΕΤΑ υποδοχέων. Πράγματι, μια σημαντική μείωση στην τελοδιαστολική πίεση της αριστεράς κοιλίας έχει αναφερθεί μετά από χορήγηση μικτού ανταγωνιστή των υποδοχέων της ET-1 αμέσως μετά το OEM ²³¹. Στην παρούσα μελέτη δεν



πραγματοποιήσαμε αιμοδυναμικές μετρήσεις, γι' αυτά ένας τέτοιος μηχανισμός δεν μπορεί να αποκλειστεί. Εντούτοις, θεωρούμε ότι αυτό είναι απίθανο, γιατί η δόση του BQ-123 που χρησιμοποιήθηκε, επιλέχτηκε προσεκτικά για να προξενήσει το μέγιστο αποκλεισμό των υποδοχέων ETA τοπικά στο μυοκάρδιο, χωρίς άλλες συστηματικές επιδράσεις ^{7,12,247}. Επιπλέον, οι Sharif και συν. ¹³⁰ χρησιμοποίησαν ίδια δόση με τη δική μας και δεν παρατήρησαν καμία μεταβολή της αρτηριακής πίεσης στο πειραματικό πρότυπο OEM σε επίμυ.

Δύο πιθανοί μηχανισμοί μπορεί να εξηγήσουν τα ευρήματά μας. *Πρώτον*, οι ανταγωνιστές των ETA υποδοχέων μπορεί να ασκήσουν αντιαρρυθμική δράση ανεξάρτητα από την ύπαρξη ισχαιμίας ^{163,165}. Η ET-1 ενεργοποιεί τους διαύλους των ιόντων K^+ και αναστέλλει τους διαύλους τύπου L των ιόντων Ca^+ , μια ιδιότητα που επιτυγχάνεται μέσω των ETA υποδοχέων ^{217,248}. Επιπλέον, η έγχυση ET-1 σε σκύλους έχει δειχθεί ότι προάγει εμμένουσες ΚΤ και ΚΜ ¹⁶⁵. Συμπερασματικά, ο οξύς αποκλεισμός των ETA υποδοχέων μπορεί να βελτιώσει τις ανεπιθύμητες ενέργειες από την απότομη αύξηση των επιπέδων της ET-1 που λαμβάνει χώρα στο πειραματικό πρότυπο των επίμυων ¹¹¹, αλλά και στους ανθρώπους αμέσως μετά το OEM ^{110,147}. Τα αποτελέσματά μας, που είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες ^{130,244,245}, οδηγούν στο συμπέρασμα της άμεσης αντιαρρυθμικής δράσης των ανταγωνιστών των ETA υποδοχέων αμέσως μετά το OEM. Αυτό το αντιαρρυθμικό αποτέλεσμα λαμβάνει χώρα σε ένα περιορισμένο δοσολογικό εύρος ²⁴³, το οποίο μπορεί, εν μέρει, να εξηγήσει τα αρνητικά αποτελέσματα προηγούμενων αναφορών ^{164,205,246}. Άλλες πιθανές εξηγήσεις περιλαμβάνουν τα διάφορα είδη που χρησιμοποιούνται, παραλλαγές στην αναισθησία και πρωτόκολλα ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, καθώς και τις οδούς χορήγησης και τη φύση των ανταγωνιστών ET-1 που χρησιμοποιούνται ^{130,163-165,205,243-248}. Αξιοσημείωτο είναι επίσης ότι το BQ-123 έχει ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες ανεξάρτητες από τη δράση του στους ETA υποδοχείς. Αυτή η χημική ουσία έχει μοναδικές αντιαρρυθμικές ιδιότητες, όπως έχει αποδειχθεί από προηγούμενες μελέτες σε απομονωμένα μυοκαρδιακά κύτταρα κόνικλων ²⁴⁹ και σε πειραματικά πρότυπα επίμυων με την τεχνική Langerdorff ²⁵⁰.

Δεύτερον, η μειωμένη αρρυθμιογένεση στην ομάδα του BQ-123 μπορεί να οφείλεται σε μείωση της ισχαιμίας μέσα ή γύρω από την εμφραγματική



περιοχή. Προηγούμενες εργασίες έδειξαν μια καρδιοπροστατευτική δράση από των αποκλεισμό των ETA υποδοχέων, ιδιότητα που ευοδώνεται από αυξημένη τοπική απελευθέρωση οξειδίου του αζώτου (NO)²¹¹. Σε συμφωνία με αυτές τις παρατηρήσεις αναφέρουμε μια σημαντική επιμήκυνση του APD90 της αριστεράς κοιλίας στην ομάδα ελέγχου, ενδεικτική ισχαιμίας του μυοκαρδίου^{66,67}, η οποία εξαλειφόταν στην ομάδα των επίμυων που έλαβε BQ-123. Αυτή η επιμήκυνση μπορεί να γεννά πρώιμες μετεκπολώσεις που θεωρείται ότι σχετίζονται με την αρρυθμιογένεση που προκαλεί η ET-1¹⁶³. Επιπλέον, η διάρκεια των Μονοφασικών Δυναμικών Ενέργειας στην ομάδα ελέγχου έδειξαν μια σημαντική διαφοροποίηση στη διακύμανση κάθε παλμού (beat-to-beat variability) 24 ώρες μετά το OEM, γεγονός που καταργείτο από το BQ-123. Αυτές οι εναλλαγές στη διάρκεια των Μονοφασικών Δυναμικών Ενέργειας είναι τυπική ισχαιμίας και έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη ισχαιμικών ταχυαρρυθμιών^{66,68,69}. Συνεπώς, μια μείωση της διασποράς της κοιλιακής επαναπόλωσης, είτε μέσω μιας άμεσα αντιαρρυθμικής δράσης του BQ-123, ή δευτερογενώς από μείωση της ισχαιμίας, μπορεί να εξηγήσει τις αντιαρρυθμικές ιδιότητες που προκύπτουν από τον ανταγωνισμό των ETA υποδοχέων στη μελέτη μας.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Αισθανόμαστε ότι η μελέτη μας συμβάλλει στην κατανόηση του παθοφυσιολογικού ρόλου της ET-1 στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Εντούτοις, εκτός από την απουσία αιμοδυναμικών παραμέτρων που αναφέραμε προηγούμενα, ακόμη κάποιοι περιορισμοί μπορεί να είναι προφανείς.

Πρώτον, το δείγμα μας ίσως είναι σχετικά μικρό, συνεπώς η μελέτη μας αδυνατεί πιθανά να ανιχνεύσει στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ολική θνητότητα.

Δεύτερον, δεν εκτιμήσαμε τη δράση των ανταγωνιστών των ETA υποδοχέων στους δείκτες της αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας, που



μπορεί να σχετίζονται με την επίπτωση κοιλιακών αρρυθμιών. Εντούτοις, πιστεύουμε ότι μετρήσεις τέτοιων δεικτών τόσο γρήγορα όσο είναι οι 24 ώρες μετά το OEM θα ήταν μικρότερης φυσιολογικής σημασίας.

Τρίτον, μετρήσεις των Μονοφασικών Δυναμικών Ενέργειας σε κάποιο σημείο κατά την εξέλιξη του OEM, π.χ. μία ώρα μετά τον αποκλεισμό της στεφανιαίας αρτηρίας θα επέτρεπαν καλύτερη αξιολόγηση των υποκείμενων μηχανισμών από τον αποκλεισμό των υποδοχέων της ET-1. Παρά το γεγονός αυτό οι μετρήσεις αυτές παραλείφθηκαν, γιατί θα επηρέαζαν την ανάλυση των αρρυθμιών. Παρόμοια, μετρήσεις της λειτουργικής ανερέθιστης περιόδου θα προσέθετε στη δύναμη της μελέτης, παρά το γεγονός ότι καμία σημαντική διαφορά δε βρέθηκε σε προηγούμενη αναφορά σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο ²⁵¹.

Συμπερασματικά, η οξεία χορήγηση του εκλεκτικού ανταγωνιστή των ETA υποδοχέων BQ-123, σε πειραματικό πρότυπο OEM στον επίμου, δεν επηρέασε το μέγεθος του εμφράγματος, αλλά μείωσε τα επεισόδια των κακοθών κοιλιακών αρρυθμιών κατά τη διάρκεια των πρώτων 24 ωρών μετά το OEM. Σε συμφωνία με προηγούμενες προτάσεις ²⁴⁸ αυτή η μείωση φαίνεται να είναι το αποτέλεσμα της μείωσης της διασποράς της επαναπόλωσης στο κοιλιακό μυοκάρδιο. Εάν αυτή η δράση είναι αποτέλεσμα μείωσης της ισχαιμίας ή είναι άμεσα αντιαρρυθμική μένει να αποδειχθεί στο μέλλον.

Η κλινική σημασία αυτών των ευρημάτων ενδέχεται να είναι σημαντική, καθώς εφοδιάζουν με καινούρια στοιχεία τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς του αιφνίδιου καρδιακού θανάτου. Επιπλέον μελέτες απαιτούνται για να καθοριστεί εάν αυτά τα ευνοϊκά αποτελέσματα διατηρούνται και παρουσία επαναιμάτωσης, καθώς και για να αποτιμηθούν τα αποτελέσματα του χρόνιου αποκλεισμού των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1.



B) Δεύτερο μέρος

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξεταστούν οι δράσεις του bosentan, ενός μη ειδικού ανταγωνιστή των υποδοχέων ET-A/ET-B, α) στο μέγεθος του εμφράγματος και β) στις ΚΤ/ΚΜ που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια του πρώτου 24ώρου μετά το OEM. Για να διαλευκάνουμε τους πιθανούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς εξετάσαμε τις δράσεις του bosentan στα μονοφασικά δυναμικά και σε δείκτες δραστηριότητας του συμπαθητικού.

Συζήτηση

Κύρια ευρήματα και σύγκριση με προηγούμενες μελέτες

Εξετάσαμε τις επιδράσεις του bosentan ενός μη ειδικού ανταγωνιστή των υποδοχέων ET/ETB στην αρρυθμιογένεση σε πειραματικό πρότυπο OEM χωρίς επαναιμάτωση. Το πρότυπο αυτό είναι καλά δοκιμασμένο και κατάλληλο για την εκτίμηση των πιθανών αντιαρρυθμικών παρεμβάσεων, δεδομένου ότι ο επίμυς παρουσιάζει μεγάλη συχνότητα ΚΤ/ΚΜ μετά την απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας¹⁷⁹. Επιπλέον, η κατανομή των επεισοδίων ΚΤ/ΚΜ παρουσιάζει δύο διακριτές περιόδους που προσομοιάζουν σε αυτές του ανθρώπου μετά το OEM^{252,253}.

Αναφέρουμε μία μείωση των ΚΤ/ΚΜ στα πειραματόζωα που έλαβαν bosentan. Παλαιότερες παρόμοιες μελέτες παρήγαγαν αντικρουόμενα αποτελέσματα^{205,254,255}. Εκτός από τις διαφορές που οφείλονται στα διαφορετικά είδη πειραματόζωων που χρησιμοποιήθηκαν, η ποικιλία των φαρμακευτικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς και η σχεδίαση των πρωτοκόλλων, η εξήγηση των διαφορετικών αποτελεσμάτων μπορεί να είναι διττή:

Πρώτον, η παρουσία ή απουσία επαναιμάτωσης. Αρκετές διαφορές υπάρχουν όσον αφορά τους μηχανισμούς και την κατανομή στο χρόνο των ΚΤ/ΚΜ κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και κατά τη διάρκεια της επαναιμάτωσης. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη μέχρι τώρα που μελετά τις

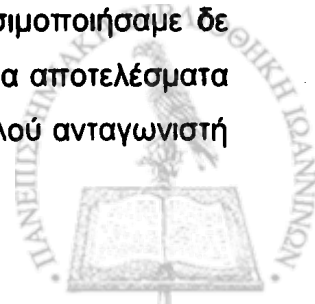


ανταρρυθμικές δυνατότητες του αποκλεισμού των υποδοχέων ETA/ETB σε πειραματικό πρότυπο OEM χωρίς επαναιμάτωση. Τα αποτελέσματά μας έχουν κλινική σημασία, δεδομένου ότι πρόσφατες αναφορές δίνουν έμφαση στο γεγονός ότι ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με OEM δεν λαμβάνουν καμιά θεραπεία επαναιμάτωσης ²⁵⁶. Δεύτερον και σημαντικότερο, όλες οι προηγούμενες μελέτες επικεντρώνονται στην πρώιμη φάση (Φάση I) των ΚΤ/ΚΜ στα υπό την επήρεια αναισθησίας πειραματόζωα. Στα πειράματά μας παρατηρήσαμε μια μη σημαντική μείωση των ΚΤ/ΚΜ στα πειραματόζωα που έλαβαν bosentan κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου. Παρά το γεγονός αυτό η κύρια δύναμη της μελέτης μας είναι η χρησιμοποίηση του μικροσκοπικού συστήματος καταγραφής, που διευκόλυνε την παράταση της περιόδου μελέτης, χωρίς τις επιδράσεις της αναισθησίας.

Αναφέρουμε ένα σημαντικό αντιαρρυθμικό αποτέλεσμα του bosentan κατά τη διάρκεια της Φάσης II (μεταξύ της δεύτερης και ενδέκατης ώρας μετά το OEM) όταν ο κύριος όγκος των ΚΤ/ΚΜ λαμβάνει χώρα ^{179,252}. Η διαφορά του αντιαρρυθμικού αποτελέσματος του bosentan μεταξύ των δύο Φάσεων οφείλεται επιπλέον και στο γεγονός ότι η μείωση της θνησιμότητας από ταχυαρρυθμίες ήταν περιορισμένη στη Φάση I. Κατά τη διάρκεια του OEM η παραγωγή ET-1 αυξάνεται στα πειραματόζωα ¹¹¹, και στους ανθρώπους ²⁵⁷, ο ακριβής, όμως, χρόνος της αύξησης αυτής παραμένει αδιευκρίνιστος ¹⁴⁶. Ενδεχόμενη σημαντική αύξηση της ET-1 κατά τη διάρκεια της όψιμης Φάσης μετά το OEM μπορεί να εξηγήσει το εντονότερο αντιαρρυθμικό αποτέλεσμα του bosentan, που παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της Φάσης II στα πειράματά μας.

Ποιος είναι ο αντιαρρυθμικός μηχανισμός του bosentan;

Μια συνεχιζόμενη διαμάχη υπάρχει σχετικά με το αν η αρρυθμογόνος δράση της ET-1 είναι άμεση, αποτέλεσμα της ισχαιμίας ή συνδυασμός των δύο ²⁵⁸. Σε πειραματικά πρότυπα επαναιμάτωσης οι μη ειδικοί ανταγωνιστές ETA/ETB φαίνεται να έχουν καρδιοπροστατευτικό αποτέλεσμα περιορίζοντας τη βλάβη που οφείλεται στην επαναιμάτωση ²⁵⁹. Παρά το γεγονός αυτό, στο πειραματικό πρότυπο OEM χωρίς επαναιμάτωση που χρησιμοποιήσαμε δε βρέθηκε διαφορά στο μέγεθος του εμφράγματος και παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί σε ίδιο πρότυπο μετά τη χορήγηση του διπλού ανταγωνιστή



ETA/ETB tezosentan ²³¹. Η μείωση στην επίπτωση των ΚΤ/ΚΜ χωρίς ταυτόχρονη μείωση στο μέγεθος του εμφράγματος καταδεικνύει μια άμεση αντιαρρυθμική δράση του bosentan.

Παρά το γεγονός ότι οι άμεσες αρρυθμιογόνες δράσεις της ET-1 έχουν φανεί εδώ και καιρό ¹⁶³, οι υποκείμενοι μηχανισμοί δράσης παραμένουν αδιευκρίνιστοι ²⁵⁸. *In vitro*, η ET-1 αυξάνει την επίπτωση των αυτόματων μεταβολών του ρεύματος Ca, μέσω της διέγερσης του μονοπατιού της 1,4,5 τριφωσφορικής ινοσιτόλης ²⁶⁰. Είναι σημαντικό ότι αυξάνει η συχνότητα των αρρυθμιών σε σχέση με το χρόνο, οι συγκεντρώσεις της ET-1 παραμένουν στα ίδια επίπεδα, οδηγώντας σε μια αλυσίδα αυτόματων μεταβολών του ρεύματος Ca ²⁶⁰. Παρόμοια, σε *in vivo* μελέτες, πρώιμες μετεκπολώσεις παρατηρήθηκαν μετά από μικρές δόσεις ενδοστεφανιαίας έγχυσης ET-1 ²⁶¹. Συσχετίζοντας αυτές τις παρατηρήσεις, μπορούμε να εξηγήσουμε περαιτέρω τα αντιαρρυθμικά αποτελέσματα του bosentan κατά τη διάρκεια της Φάσης II στη μελέτη μας και επιτρέπουν τη δημιουργία υποθέσεων σχετικά με τους υποκείμενους ηλεκτροφυσιολογικούς μηχανισμούς.

Η ET-1 αυξάνει τη διάρκεια του δυναμικού ενέργειας ¹⁶³, γεγονός ικανό να δημιουργήσει ΚΤ/ΚΜ μέσω αυτόματης δραστηριότητας ²⁶¹. Από την άλλη μεριά, οι ιοντικές αλλαγές που συμβαίνουν στην κυτταρική μεμβράνη των ισχαιμικών μυοκαρδιακών κυττάρων δείχνουν μια τοπική ανομοιογένεια, με αποτέλεσμα την επιμήκυνση του δυναμικού ενέργειας σε ορισμένες περιοχές και την βράχυνσή του σε κάποιες άλλες ²⁵³. Αυτές οι ηλεκτροφυσιολογικές αλλαγές οδηγούν σε αυξημένο αυτοματισμό, ενώ ευνοούν την επανείσοδο, αλλαγές που θεωρούνται ως οι σημαντικότεροι αρρυθμιογόνοι μηχανισμοί κατά τη διάρκεια του OEM ²⁵². Παρά το γεγονός ότι διαφορές μεταξύ των αρρυθμιών που προκαλούνται απευθείας από την ET-1 και αυτών που προκαλούνται λόγω ισχαιμίας είναι ξεκάθαρες, είναι πιθανή και μια συνεργική δράση ²⁶². Λαμβάνοντας υπόψιν τα ανωτέρω, η μελέτη μας υποδηλώνει ότι το bosentan μπορεί να μειώνει τόσο τις ΚΤ/ΚΜ που προκαλούνται από την αύξηση της ET-1 όσο και αυτές που προκαλούνται από ισχαιμία. Η διατήρηση σταθερής διάρκειας του δυναμικού ενέργειας δείχνει ότι μια τέτοια θεραπεία μπορεί να αποτρέπει την αυτόματη δραστηριότητα και ταυτόχρονα να μειώνει τους ισχαιμικούς μηχανισμούς επανείσοδου.

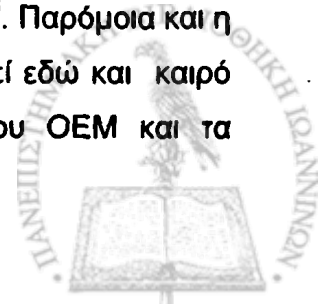


Ποίος ο ρόλος των υποδοχέων ETB στην αρρυθμιογένεση;

Οι περισσότερες μελέτες που έχουν αναφέρει αντιαρρυθμικά αποτελέσματα από τον αποκλεισμό των υποδοχέων της ET-1 έχουν χρησιμοποιήσει εκλεκτικούς ETA ανταγωνιστές ^{245,258}. Στην παρούσα μελέτη, η μείωση των ΚΤ/ΚΜ ήταν παρόμοια με προηγούμενα αποτελέσματά μας μετά τον αποκλεισμό των ETA υποδοχέων στο ίδιο πειραματικό πρότυπο ¹⁸². Ένα μικρότερο αντιαρρυθμικό αποτέλεσμα του bosentan κατά τη διάρκεια της Φάσης Ι μπορεί να παρατηρηθεί, αν και μια τέτοια σύγκριση μπορεί να είναι αδόκιμη. Συνεκτιμώντας τις δύο μελέτες φαίνεται ότι το αντιαρρυθμικό αποτέλεσμα από τον αποκλεισμό των υποδοχέων της ET-1 μπορεί να αποδοθεί στους ETA υποδοχείς και ότι οι ETB υποδοχείς δεν σχετίζονται τόσο σημαντικά με την κοιλιακή αρρυθμιογένεση. Το συμπέρασμα αυτό είναι σημαντικό αν αναλογιστούμε τις λίγες *in vivo* μελέτες, ενώ συμπίπτει με τα στοιχεία που προκύπτουν από *in vitro* μελέτες ^{253,263,264}. Σε απομονωμένα κοιλιακά μυοκαρδιακά κύτταρα ενήλικων κονίκλων, η ET-1 μείωσε το τύπο L του ρεύματος του Ca⁺⁺, μια δράση που αποτρεπόταν από την χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων ETA. Δεν συνέβαινε, όμως, το ίδιο και με ανταγωνιστές των ETB υποδοχέων ²⁶³. Σε απομονωμένες καρδιές κονίκλων, ο εκλεκτικός αγωνιστής ETB σαραφοτοζίνη δεν είχε σημαντικές επιδράσεις στην πρόκληση ΚΤ/ΚΜ, ενώ η ενεργοποίηση των ETA υποδοχέων μείωσε την κοιλιακή ανερέθιστη περίοδο και διευκόλυne την πρόκληση ΚΜ ²⁶⁴. Σε παρόμοιες συνθήκες, η ενδογενώς παραγόμενη ET-1 είχε άμεση αρρυθμιογόνο δράση που μειωνόταν εν μέρει από ανταγωνιστές των ETA υποδοχέων, ενώ οι ανταγωνιστές των ETB υποδοχέων ήταν αναποτελεσματικοί ²⁶⁵.

Ενδοθηλίνη και ενεργοποίηση του συμπαθητικού

Η σημασία της διέγερσης του συμπαθητικού στη ρύθμιση της επίπτωσης των ισχαιμικών ΚΤ/ΚΜ είναι γνωστή εδώ και πολλά χρόνια ²⁶⁶. Παρόμοια και η σχέση μεταξύ της ET-1 και του συμπαθητικού έχει αναφερθεί εδώ και καιρό ²⁶⁷, οι αλληλεπιδράσεις τους, όμως, κατά τη διάρκεια του OEM και τα



επακόλουθα αποτελέσματα στην αρρυθμιογένεση παραμένουν αδιευκρίνιστες. Η έκκριση κατεχολαμινών από τον μυελό των επινεφριδίων κατά τη διάρκεια της πρώιμης (Φάση I) περιόδου μετά το OEM, συμβάλλει στη δημιουργία πρώιμων και όψιμων μετεκπολώσεων, αυτόματης δραστηριότητας και ΚΤ/ΚΜ ²⁶⁸. Η ET-1 σχετίζεται με την λειτουργία των επινεφριδίων, προκαλώντας την άμεση έκκριση επινεφρίνης και νορ-επινεφρίνης, όμως οι ETA και ETB υποδοχείς μπορεί να έχουν διαφορετικές δράσεις ²⁶⁹. Σε ένα in vitro πειραματικό πρότυπο, η έκκριση κατεχολαμινών ανεστάλη από έναν εκλεκτικό ανταγωνιστή των ETA υποδοχέων, ενώ ο ανταγωνιστής των ETB υποδοχέων BQ-788 δεν είχε καμία επίδραση. Ωστόσο, η αναστολή της έκκρισης των κατεχολαμινών από τον αποκλεισμό των ETA υποδοχέων καταργήθηκε όταν προηγουμένως είχε χορηγηθεί BQ-788 ²⁶⁹.

- Αυτές οι παρατηρήσεις μπορεί να εξηγήσουν κάποια από τα αποτελέσματά μας. Παρά το γεγονός ότι το bosentan μείωσε την πολύ πρώιμη απάντηση του συμπαθητικού, ο αποκλεισμός των ETB υποδοχέων πιθανόν αναίρεσε την αναμενόμενη αναστολή της αύξησης των κατεχολαμινών από τη δράση των ανταγωνιστών των υποδοχέων ETA. Με άλλα λόγια, κατά τη διάρκεια της Φάσης I, το bosentan είχε ένα, μάλλον, ουδέτερο αποτέλεσμα στην έκκριση των κατεχολαμινών. Το γεγονός αυτό είχε ως συνέπεια ταυτόσημους δείκτες HRV 30 λεπτά μετά την απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας. Έτσι, σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες ²⁷⁰, εξηγείται το μέτριο αντιαρρυθμικό αποτέλεσμα κατά τη διάρκεια αυτής της Φάσης. Κατά τη διάρκεια της Φάσης II, ο ρόλος της ενεργοποίησης του συμπαθητικού γίνεται πιο περίπλοκος, λόγω της αναστροφής του μεταφορέα της νορ-επινεφρίνης, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση νορ-επινεφρίνης στο αξονόπλασμα και στην εξωκυττάρια τοπική μεταβολική απελευθέρωση ²⁶⁸. Αυτές οι αλλαγές, που συμβαίνουν σε διαφορετικό βαθμό σε ξεχωριστές περιοχές του μυοκαρδίου ²⁷¹, οδηγούν σε αύξηση της νορ-επινεφρίνης στο ισχαιμικό μυοκάρδιο και στο πλάσμα λόγω υπερχειλίσης ^{271,272}.

Στα πειράματά μας, βρήκαμε μια σημαντική μείωση στα επίπεδα της νορεπινεφρίνης στον ορό 24 ώρες μετά την περίδεση της στεφανιαίας αρτηρίας στην ομάδα του φαρμάκου, γεγονός που υποδηλώνει ακόμη έναν αντιαρρυθμικό μηχανισμό του bosentan κατά τη διάρκεια του OEM. Επιπλέον, οι δείκτες του HRV μειώθηκαν στα πειραματόζωα που έλαβαν bosentan στις



4.5 και 24 ώρες μετά το OEM. Τα ευρήματα αυτά είναι σε συμφωνία με πρόσφατες αποδείξεις ότι αμφότεροι οι ETA και ETB υποδοχείς βρίσκονται στις απολήξεις του συμπαθητικού στο τοίχωμα της αριστερής κοιλίας και ρυθμίζουν την έκκριση νορ-επινεφρίνης²⁷³. Συγκεκριμένα, σε απομονωμένες καρδιές ινδικών χοιριδίων, η εξωγενής χορήγηση ET-1 αύξησε την απελευθέρωση νορ-επινεφρίνης και τη δημιουργία ΚΤ/ΚΜ με δόσοεξαρτώμενο τρόπο δράσης. Αυτές οι δράσεις αμβλύθηκαν από τη χρήση εκλεκτικών όσο και μικτών ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1²⁷³.

Στη μελέτη μας βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα αδρεναλίνης 24 ώρες μετά το OEM στην ομάδα του bosentan. Η εξήγηση αυτών των διαφορετικών δράσεων του bosentan στην έκκριση κατεχολαμινών μπορεί να είναι διπλή:

Πρώτον, η ET-1 έχει θετική ινότροπο δράση εξασφαλίζοντας βραχυπρόθεσμη υποστήριξη κατά τη διάρκεια του OEM. Η αναστολή αυτής της υποστήριξης μπορεί να είχε σαν αποτέλεσμα περαιτέρω διέγερση του συμπαθητικού. Παρόλα αυτά, η αιμοδυναμική απόκριση μετά τον αποκλεισμό των υποδοχέων της ET-1 είναι περίπλοκη και για το λόγο αυτό αντικρουόμενα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί. Ο μικτός ανταγωνιστής ETA/ETB tezosentan όταν δόθηκε σε δύο άπαξ δόσεις, την πρώτη και την εικοστή τέταρτη ώρα, μετά την μόνιμη περίδεση βελτίωσε αιμοδυναμικά την αριστερή κοιλία, εμπόδισε την καρδιακή ανεπάρκεια και μείωσε τη θνητότητα²³¹. Αντίθετα, ο διπλός ανταγωνιστής LU 420627 όταν δόθηκε 20 ώρες μετά τη μόνιμη περίδεση της στεφανιαίας αρτηρίας προκάλεσε δεξιά στροφή στις καμπύλες πίεσης-όγκου και αύξησε τη θνητότητα δύο εβδομάδες μετά το OEM⁵⁹. Εκτός από τις φαρμακολογικές διαφορές των ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν, χρόνος έναρξης της θεραπείας φαίνεται ότι είναι καθοριστικός. Επιπλέον, ο αποκλεισμός των ET-1 υποδοχέων παρεμβαίνει στην φλεγμονώδη απάντηση και στην προαγωγή της ίνωσης μετά το OEM²²⁶, ο συσχετισμός, όμως αυτών των απαντήσεων και της αρρυθμιογένεσης δεν είναι γνωστός.

Δεύτερον και σημαντικότερον, το bosentan στη δόση που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη προκαλεί σημαντική και παρατεταμένη αγγειοδιαστολή²⁷⁴. Έτσι, μπορεί να συμβεί μια αντανάκλαστική ενεργοποίηση του συμπαθητικού, όπως έχει προταθεί και στο παρελθόν²⁷⁵. Στη μελέτη μας αυτό έγινε φανερό μόνο στην περίπτωση της αδρεναλίνης, δεδομένου των προαναφερθέντων δράσεων του bosentan στην νοραδρεναλίνη. Αυτές οι



αντίθετες συνέπειες από τη δράση του bosentan μπορούν, επίσης, να εξηγήσουν την έλλειψη διαφορών στην καρδιακή συχνότητα, μολονότι οι πιο πολύπλοκοι δείκτες του HRV δείχνουν μια συνολική μείωση της ενεργοποίησης του συμπαθητικού. Οι δράσεις μικρότερων φαρμακευτικών δόσεων ανταγωνιστών των υποδοχέων της ενδοθηλίνης θα πρέπει να εξεταστούν στο μέλλον. Μια τέτοια στρατηγική θα μπορούσε να διατηρήσει τις αντιαρρυθμικές ιδιότητες τοπικά στο μυοκάρδιο και να αποφευχθούν έτσι οι περιφερικές ανεπιθύμητες ενέργειες.

Περιορισμοί της μελέτης

Τρεις περιορισμοί είναι προφανείς στην παρούσα μελέτη. *Πρώτον*, παρά το γεγονός ότι το μέγεθος του δείγματός μας ήταν κατάλληλο για την εκτίμηση των αντιαρρυθμικών δράσεων του bosentan, η μελέτη μας αδυνατεί να εντοπίσει διαφορές στη θνησιμότητα. *Δεύτερον*, δεν μελετήθηκαν δείκτες αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας. Ωστόσο, η μέτρηση τέτοιων δεικτών τόσο πρώιμα όσο είναι οι 24 ώρες μετά το OEM, θα είχαν μικρή αξία για τη μελέτη μας. *Τέλος*, παρά το γεγονός ότι η έναρξη της θεραπείας με bosentan ξεκίνησε πριν την πρόκληση του OEM, προκειμένου να εξασφαλιστεί ο επαρκής αποκλεισμός των υποδοχέων της ενδοθηλίνης, μια τέτοια παρέμβαση μειώνει την κλινική συσχέτιση των ευρημάτων μας.

Συμπεράσματα

Στο πειραματικό πρότυπο OEM χωρίς επαναιμάτωση στον επίμυ, η χορήγηση του bosentan για μια εβδομάδα πριν από την περιδεδση της στεφανιαίας αρτηρίας μειώνει τις ΚΤ/ΚΜ της Φάσης II. Το γεγονός αυτό είναι αποτέλεσμα της αποτροπής της αύξησης του δυναμικού ενέργειας και της χρονικής διακύμανσής του, καθώς και της μείωσης των επιπέδων της νορ-αδρεναλίνης. Περισσότερες μελέτες απαιτούνται στο μέλλον προκειμένου να διαπιστωθεί εάν αυτές οι δράσεις διατηρούνται σε χαμηλότερες δόσεις αποφεύγοντας τις συστηματικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Επίσης, η



αλληλεπίδραση μεταξύ, της ενδοθελίνης και της ενεργοποίησης του συμπαθητικού σε πειραματικά πρότυπα OEM με επαναιμάτωση, καθώς και οι επιδράσεις τους στην αρρυθμιογένεση είναι ένα αντικείμενο για μελλοντική έρευνα.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Συμπερασματικά, η οξεία χορήγηση του εκλεκτικού ανταγωνιστή των ETA υποδοχέων BQ-123, σε πειραματικό πρότυπο OEM στον επίμυ, δεν επηρέασε το μέγεθος του εμφράγματος, αλλά μείωσε τα επεισόδια των κακοηθών κοιλιακών αρρυθμιών κατά τη διάρκεια των πρώτων 24 ωρών μετά το OEM. Σε συμφωνία με προηγούμενες προτάσεις²⁴⁸ αυτή η μείωση φαίνεται να είναι το αποτέλεσμα της μείωσης της διασποράς της επαναπόλωσης στο κοιλιακό μυοκάρδιο. Εάν αυτή η δράση είναι αποτέλεσμα μείωσης της ισχαιμίας ή είναι άμεσα αντιαρρυθμική μένει να αποδειχθεί στο μέλλον.
- Στο πειραματικό πρότυπο OEM χωρίς επαναιμάτωση στον επίμυ, η χορήγηση του bosentan για μια εβδομάδα πριν από την περίδεση της στεφανιαίας αρτηρίας μειώνει τις ΚΤ/ΚΜ της Φάσης II. Το γεγονός αυτό είναι αποτέλεσμα της αποτροπής της αύξησης του δυναμικού ενέργειας και της χρονικής διακύμανσής του, καθώς και της μείωσης των επιπέδων της νορ-αδρεναλίνης. Περισσότερες μελέτες απαιτούνται στο μέλλον προκειμένου να διαπιστωθεί εάν αυτές οι δράσεις διατηρούνται σε χαμηλότερες δόσεις αποφεύγοντας τις συστηματικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Επίσης, η αλληλεπίδραση μεταξύ της ενδοθηλίνης και της ενεργοποίησης του συμπαθητικού σε πειραματικά πρότυπα OEM με επαναιμάτωση, καθώς και οι επιδράσεις τους στην αρρυθμιογένεση είναι ένα αντικείμενο για μελλοντική έρευνα.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου παραμένει η κυριότερη αιτία θανάτου παγκοσμίως. Η κοιλιακή ταχυκαρδία (ΚΤ) και η κοιλιακή μαρμαρυγή (ΚΜ) αποτελούν ένα σημαντικό τμήμα της οξείας θνησιμότητας, με τους αριθμούς αυτούς να παραμένουν αμετάβλητοι τα τελευταία χρόνια ²⁷⁶. Διάφοροι μηχανισμοί ασκούν επιρροή στη γένεση των ισχαιμικών ΚΤ/ΚΜ, συμπεριλαμβανομένου των ιοντικών αλλαγών και την συσσώρευση νευροδιαβιβαστικών ουσιών στο μυοκάρδιο ²⁵².

Η ET-1 αυξάνει σημαντικά κατά τη διάρκεια του OEM ^{111,146}, και τα επίπεδά της στο πλάσμα έχουν συσχετιστεί με την πρόγνωση ²⁵⁷. Συσσωρευμένες αποδείξεις υποδηλώνουν ότι η ET-1 μπορεί να διαδραματίσει κάποιο ρόλο στην αρρυθμιογένεση κατά τη διάρκεια του OEM, ενώ έχει δείχθει ότι ο αποκλεισμός των ET-A υποδοχέων μειώνει την επίπτωση των ΚΤ/ΚΜ κατά τη διάρκεια της πρώιμης φάσης του OEM ²⁴⁵.

Η ET-1 δρα μέσω δύο υποδοχέων ¹³⁹, τους ET-A και τους ET-B, ο ρόλος, όμως, των ET-B παραμένει υπό αμφισβήτηση. Αντιαρρυθμικές δράσεις έχουν βρεθεί από τον αποκλεισμό των μη ειδικών υποδοχέων ET-A/ET-B σε ορισμένες μελέτες ^{254,255}, ενώ σε άλλες όχι ²⁰⁵. Όμως, η επίδραση της ενδοθηλίνης-1 στην εμφάνιση κακοήθων κοιλιακών αρρυθμιών δεν είναι καλά διευκρινισμένη και υπάρχουν πολλά αντικρουόμενα δεδομένα. Σκοπός της μελέτης μας ήταν η περαιτέρω διερεύνηση του παθοφυσιολογικού ρόλου της ενδοθηλίνης-1 στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Ειδικότερα, εξετάσαμε την επίδραση της οξείας χορήγησης ενός εκλεκτικού ανταγωνιστή των υποδοχέων-A της ενδοθηλίνης-1, στο μέγεθος της εμφραγματικής περιοχής και στις ισχαιμικές κοιλιακές αρρυθμίες, σε ένα πειραματικό πρότυπο οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου σε επίμυες. Η μελέτη διενεργήθηκε σε 90 θηλυκούς επίμυες του γένους Wistar, ηλικίας 20±2 εβδομάδων και βάρους 200-250 γραμμαρίων. Χρησιμοποιώντας ένα μικροσκοπικό σύστημα holter στον επίμυ, η ομάδα μας ανέφερε αντιαρρυθμικά αποτελέσματα από τον αποκλεισμό των ET-A υποδοχέων κατά τη διάρκεια τόσο της πρώιμης όσο και της όψιμης φάσης του OEM ²⁷⁷. Δύο πιθανοί μηχανισμοί μπορεί να εξηγήσουν τα ευρήματά μας. Πρώτον, οι ανταγωνιστές των ET-A υποδοχέων μπορεί να ασκήσουν αντιαρρυθμική δράση ανεξάρτητα από την ύπαρξη ισχαιμίας ^{163,165}.



Δεύτερον, η μειωμένη αρρυθμιογένεση στην ομάδα του BQ-123 μπορεί να οφείλεται σε μείωση της ισχαιμίας μέσα ή γύρω από την εμφραγματική περιοχή.

Εξετάσαμε τις επιδράσεις του bosentan ενός μη ειδικού ανταγωνιστή των υποδοχέων ETA/ETB στην αρρυθμιογένεση σε πειραματικό πρότυπο OEM χωρίς επαναιμάτωση.

Η μελέτη μας υποδηλώνει ότι το bosentan μπορεί να μειώνει τόσο τις ΚΤ/ΚΜ που προκαλούνται από την αύξηση της ET-1 όσο και αυτές που προκαλούνται από ισχαιμία. Η διατήρηση σταθερής διάρκειας του δυναμικού ενέργειας δείχνει ότι μια τέτοια θεραπεία μπορεί να αποτρέπει την αυτόματη δραστηριότητα και ταυτόχρονα να μειώνει τους ισχαιμικούς μηχανισμούς επανεισόδου.

Στο πειραματικό πρότυπο OEM χωρίς επαναιμάτωση στον επίμυ, η χορήγηση είτε του BQ-123, ενός εκλεκτικού ανταγωνιστή των ETA υποδοχέων είτε του bosentan, ενός μικτού ETA/ETB ανταγωνιστή, μειώνει τις ΚΤ/ΚΜ. Το γεγονός αυτό είναι αποτέλεσμα της αποτροπής της αύξησης του δυναμικού ενέργειας και της χρονικής διακύμανσής του (και για τα δύο μέρη), καθώς και της μείωσης των επιπέδων της νορ-αδρεναλίνης (για το δεύτερο μέρος της μελέτης).

Η αλληλεπίδραση μεταξύ της ενδοθηλίνης και της ενεργοποίησης του συμπαθητικού σε πειραματικά πρότυπα OEM με επαναιμάτωση, καθώς και οι επιδράσεις τους στην αρρυθμιογένεση είναι ένα αντικείμενο για μελλοντική έρευνα.



ABSTRACT

Endothelin-1 (ET-1) production increases during acute myocardial infarction (MI) and may contribute to the genesis of ventricular tachycardia (VT) and ventricular fibrillation (VF). However, the antiarrhythmic effects of ET-1 receptor blockade, examined shortly after MI, have been debated. In the present study, we examined the effects of such treatment on VT/VF during the first 24 h post-MI in two parts.

First part

Thirty-five Wistar rats (223 ± 22 g) were randomly allocated to either the ET-1 receptor-A (ET_A) antagonist BQ-123 (0.4 mg/kg, BQ-123 group, $n = 17$), or normal saline (control group, $n = 18$) and were subjected to coronary artery ligation. A single-lead electrocardiogram was continuously recorded for 24 h post-MI, using an implanted telemetry system, and episodes of VT/VF were analyzed. Monophasic action potential (MAP) recordings were obtained from the left (LV) and right (RV) ventricular epicardium at baseline, 5 min after treatment and 24 h post-MI. There were 15.94 ± 19.35 episodes/h/rat of VT/VF in the control group and 1.66 ± 2.22 in the BQ-123 group ($p = 0.010$), resulting in a lower ($p = 0.030$) arrhythmic mortality in treated animals. The mean episode duration was 7.40 ± 7.16 s for the control group and 2.30 ± 1.37 s for the BQ-123 group ($p = 0.011$). The maximum decrease in VT/VF was observed during the 1st, 5th and 6th hours post-MI. In the control group, LV MAP duration increased 24 h post-MI, displaying an increased beat-to-beat variation, but remained unchanged in the BQ-123 group.

Conclusions

Acute ET_A blockade reduces the incidence of VT/VF during the first 24-h post-MI in the rat, through a decrease in the dispersion of repolarization.



Second part

Endothelin receptor-A blockade during acute myocardial infarction decreases ventricular arrhythmogenesis, but the role of dual A- and B-receptor blockade is unknown. We randomly allocated Wistar rats to bosentan (100mg/kg daily, n=24), a nonselective ETA/ETB receptor antagonist, or vehicle (n=23). After 7 days of treatment, myocardial infarction was generated by permanent coronary ligation. Ventricular tachyarrhythmias were evaluated using a miniature telemetry electrocardiogram recorder during a 24-hour observation period. Action potential duration was measured from monophasic epicardial recordings and sympathetic activation was evaluated by heart rate variability and catecholamine serum levels.

Compared to controls (1012±185sec), bosentan (59±24sec) markedly decreased ($p<0.00001$) the total duration of ventricular tachyarrhythmias during the delayed phase post-ligation, with a modest effect during the early phase (132±38sec, versus 43±18sec, respectively, $p=0.053$), but without affecting infarct size or total mortality. Action potential duration at 90% repolarization prolonged in controls from 93.1±4.7ms to 117.6±6.9ms, displaying increased temporal dispersion (from 4.14±0.45ms to 10.42±2.51, both $p<0.001$), but was preserved in treated animals. Bosentan produced a diverse effect on catecholamines, by increasing epinephrine and decreasing norepinephrine levels 24 hours post-ligation. The low frequency spectra of heart rate variability, an index of net sympathetic tone, were lower in bosentan- treated rats.

Conclusions

Nonselective ETA/ETB receptor blockade decreases ventricular tachyarrhythmias during myocardial infarction without reperfusion, by preserving repolarization inhomogeneity. Diverse effects of bosentan (at the tested dosage) on sympathetic activation may ameliorate the antiarrhythmic action.



BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Yanagisawa M KH, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-5.
2. Haynes WG WD. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. *J Hypertens* 1998;16:1081-98.
3. Benigni A RG. Endothelin antagonists. *Lancet* 1999;353:133-8.
4. Kedziarski RM YM. Endothelin system: the double-edged sword in health and disease. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:851-76.
5. Webb DJ GG. Vascular biology of the endothelin system. In: *Webb D, Valance P, eds. Endothelial function in hypertension. Berlin: Springer-Verlag* 1997:71-90.
6. Clarke JG BN, Larkin SW, et al. Endothelin is a potent long-lasting vasoconstrictor in men. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1989;257:H2033-H2035.
7. Haynes WG WD. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet* 1994;344:852-4.
8. Pernow J KL, et al. Comparable potent coronary constrictor effects of endothelin-1 and big-endothelin-1 in humans. *Circulation* 1996;94:2077-82.
9. BD. L. Endothelin-converting enzyme inhibitors: current status and perspectives. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;35 (suppl 2):79-82.
10. Jeng AJ MP, et al. Nonpeptidic endothelin-converting enzyme inhibitors and their potential therapeutic applications. *Can J Physiol Pharmacol* 2002;80:440-49.
11. Goddard J WD. Endothelin antagonists and hypertension: a question of dose? *Hypertension* 2002;40:e1-2.
12. Spratt JC GJ, et al. Systemic ETA receptor antagonism with BQ-123 blocks ET-1 induced forearm vasoconstriction and decreases peripheral vascular resistance in healthy men. *Br J Pharmacol* 2001;134:648-54.
13. Strachan FE SJ, Wilkinson IB, et al. Systemic blockade of the endothelin-B receptor increases peripheral vascular resistance in healthy men. *Hypertension* 1999;33:581-5.
14. Verhaar MC SF, Newby DE, et al. Endothelin-A receptor antagonist-mediated vasodilatation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin-B receptor blockade. *Circulation* 1998;97:752-6.



15. Goddard J JN, Hand M F, et al. Endothelin-A receptor antagonism reduces blood pressure and increases renal blood flow in hypertensive patients with chronic renal failure. *Circulation* 2004;109:1186–93.
16. Fukuroda T FT, Ozaki S, et al. Clearance of circulating endothelin-1 by ETB receptors in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;199:1461–65.
17. Rabelink TJ KK, Stroes ES, et al. Endothelin in renal pathophysiology: from experimental to therapeutic application. *Kidney International* 1996;50:1827–33.
18. Gariepy CE OT, Williams SC, et al. Salt-sensitive hypertension in endothelin-B receptor-deficient rats. *J Clin Invest* 2000;105:925–33.
19. Ahn D GY, et al. Collecting duct-specific knockout of endothelin-1 causes hypertension and sodium retention. *J Clin Invest* 2004;114:504–511.
20. Kurihara Y KH, Oda H, et al. Aortic arch malformations and ventricular septal defect in mice deficient in endothelin 1. *J Clin Invest* 1995;96:293–300.
21. S. G. Pulmonary hypertension. *JAMA* 2000;284:3160-8.
22. Budhiraja R RM, et al. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Circulation* 2004;109:159-165.
23. Giaid A YM, Langleben D, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1993;326:1732–9.
24. Rubens C ea. Big endothelin-1 and endothelin-1 plasma levels are correlated with the severity of primary pulmonary hypertension. *Chest* 2001;120:1562–9.
25. Channick RN SG, Sitbon O, et al. Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomized placebo-controlled study. *Lancet* 2001;358:1119–23.
26. Rubin LJ BD, Barst RJ, et al. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2002;346:896–903.
27. Sitbon O BD, et al. Effects of the dual endothelin receptor antagonist bosentan in patients with primary pulmonary hypertension: a 1-year follow-up study. *Chest* 2003;124:247–54.
28. Barst RJ LD, et al. Sitaxsentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *Am J Resp Crit Care Med* 2004;169:441–47.
29. Taddei S VA, Ghiadoni L, et al. Vasoconstriction to endogenous endothelin-1 is increased in the peripheral circulation of patients with essential hypertension. *Circulation* 1999;100:1680–3.



30. Cardillo C KC, et al. Role of endothelin in the increased vascular tone of patients with essential hypertension. *Hypertension* 1999;33:753-8.
31. EL. S. Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease. *Am J Hypertens* 2001;14:83S-89S.
32. Campia U CC, et al. Ethnic differences in the vasoconstrictor activity of endogenous endothelin-1 in hypertensive patients. *Circulation* 2004;109:3191-5.
33. Ergul S PD, et al. Racial differences in plasma endothelin-1 concentrations in individuals with essential hypertension. *Hypertension* 1996;28:652-5.
34. Krum H VR, Lacourciere Y, et al. The effect of an endothelin receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. Bosentan hypertension investigators. *N Engl J Med* 1998;338:784-90.
35. Nakov R PE, et al. Darusentan: an effective endothelin A receptor antagonist for the treatment of hypertension. *Am J Hypertens* 2002;15:583-9.
- 36. Kowala MC MN, et al. Novel dual action of an AT1 and ETA receptor antagonist reduces blood pressure in experimental hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 2004 2004;309:275-84.
37. DE. K. Endothelins in the kidney: physiology and pathophysiology. *Am J Kidney Dis* 1993;22:493-510.
38. Kanesaka Y TH, et al. Endothelin receptor antagonist prevents parathyroid cell proliferation of low calcium diet-induced hyperparathyroidism in the rat. *Endocrinology* 2001;142:407-13.
39. Haak T JE, et al. Increased plasma levels of endothelin in diabetic patients with hypertension. *Am J Hypertens* 1992;5:161-66.
40. Ihling C LB, et al. Coexpression of endothelin-converting enzyme-1 and endothelin-1 in different stages of human atherosclerosis. *Circulation* 2001;104:864-9.
41. Kowala M RP, et al. Selective blockade of the endothelin subtype A receptor decreases early atherosclerosis in hamsters fed cholesterol. *Am J Pathol* 1995;146:819-26.
42. Lerman A EB, et al. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *N Engl J Med* 1991;325:997-1001.
43. Barton M HC, et al. Endothelin ETA receptor blockade restores NO-mediated endothelial dysfunction and inhibits atherosclerosis in apolipoprotein-E deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 1998;95:14367-372.



44. Taner CB SS, et al. Treatment with endothelin-receptor antagonists increases NOS activity in hypercholesterolaemia. *J Appl Physiol* 2001;90:816–20.
45. Bohm F AG, Johansson BL, et al. Combined endothelin receptor blockade evokes enhanced vasodilatation in patients with atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:674–9.
46. Halcox JP NK, et al. Coronary vasodilation and improvement in endothelial dysfunction with endothelin ETA receptor blockade. *Circ Res* 2001;89:969–76.
47. Cowburn PJ CJ, et al. Endothelin B receptors are functionally important in mediating vasoconstriction in the systemic circulation in patients with left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:932–8.
48. Iwasa S FJ, et al. Increased immunoreactivity of endothelin-1 and endothelin B receptor in human atherosclerotic lesions. A possible role in atherogenesis. *Atherosclerosis* 1999;146:93–100.
49. Jessup M BS. Heart failure. *N Engl J Med* 2003;348:2007–18.
50. Kiowski W SG, Hunziker P, et al. Evidence for endothelin-1-mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. *Lancet* 1995;346:732–6.
51. Pacher R, Stanek, B., Hulsmann, M., Koller-Strametz, J., Berger, R. S, M., Hartter, E., Ogris, E., Frey, B., Heinz, G. and, Maurer G. Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996;27:633–641.
52. Parker JD TJ. Increased endothelin-1 production in patients with chronic heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286:H1141–5.
53. Wei CM LA, Rodeheffer RJ, et al. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation* 1994;89:1580–1586.
54. MacCarthy PA, Grocott-Mason, R., Prendergast, B.D., and Shah, A.M. Contrasting inotropic effects of endogenous endothelin in the normal and failing human heart. Studies with intracoronary ETA receptor antagonist. *Circulation* 2000;101:142–147.
55. Cowburn PJ CJ, McArthur JD, et al. Short-term haemodynamic effects of BQ-123, a selective endothelin ETA-receptor antagonist, in chronic heart failure. *Lancet* 1998;352:201–202.



56. Givertz MM, Colucci, W.S., LeJemtel, T.H., Gottlieb, S.S., Hare, J.M. S, M.T., Leier, C.V., Loh, E., Nicklas, J.M., and Lewis BE. Acute endothelin A receptor blockade causes

selective pulmonary vasodilation in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2000;101:2922-2927.

57. Sakai S, Miyauchi, T., Kobayashi, M., Yamaguchi, I., Goto, K., and, Sugishita S. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long term survival in heart failure. *Nature* 1996;384:353-355.

58. Louis A CJ, et al. Clinical Trial Update: CAPRICORN, COPERNICUS, MIRACLE, STAF, RITZ-2 and REINASSANCE and cachexia and cholesterol in heart failure. *Eur J of Heart Failure* 2001;3:381-87.

59. Nguyen QT, Cernacek, P., Sirois, M.G., Calderone, A., Lapointe, N. S, D.J., and Rouleau, J.-L. Long-term effects of

- non-selective endothelin A and B receptor antagonism in postinfarction rat: Importance of timing. *Circulation* 2001;104:375-381.

60. Schirger JA CH, et al. Endothelin A receptor antagonism in experimental congestive heart failure results in augmentation of the rennin-angiotensin system and sustained sodium retention. *Circulation* 2004;109:249-54.

61. Coronel R, Fiolet JW, Wilms-Schopman JG, Opthof T, Schaapherder AF, Janse MJ. Distribution of extracellular potassium and electrophysiologic changes during two-stage coronary ligation in the isolated, perfused canine heart. *Circulation* 1989;80:165-77.

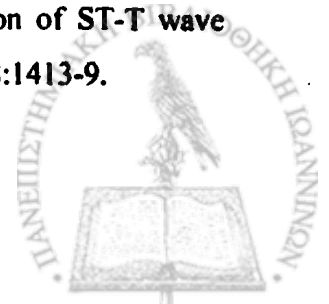
62. Wilensky RL, Trantum-Jensen J, Coronel R, Wilde AA, Fiolet JW, Janse MJ. The subendocardial border zone during acute ischemia of the rabbit heart: an electrophysiologic, metabolic, and morphologic correlative study. *Circulation* 1986;74:1137-46.

63. Verkerk AO, Veldkamp MW, van Ginneken AC, Bouman LN. Biphasic response of action potential duration to metabolic inhibition in rabbit and human ventricular myocytes: role of transient outward current and ATP-regulated potassium current. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:2443-56.

64. Watanabe I, Kanda A, Engle CL, Gettes LS. Comparison of the effects of regional ischemia and hyperkalemia on the membrane action potentials of the in situ pig heart. Experimental Cardiology Group, University of North Carolina at Chapel Hill. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1997;8:1229-36.



65. Schomig A, Fischer S, Kurz T, Richardt G, Schomig E. Nonexocytotic release of endogenous noradrenaline in the ischemic and anoxic rat heart: mechanism and metabolic requirements. *Circ Res* 1987;60:194-205.
66. Franz MR. Current status of monophasic action potential recording: theories, measurements and interpretations. *Cardiovasc Res* 1999;41:25-40.
67. T. Horacek MN, S. Mutius, M. Budden and W. Meesmann. Nonhomogeneous epicardial changes and the bimodal distribution of early ventricular arrhythmias during acute coronary artery occlusion. *Basic Res Cardiol* 1984;79:pp. 649-667.
68. E. Downar MJJaDD. The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart. *Circulation* 1977;56:217-224.
69. R. Mohabir MRFaWTC. In vivo electrophysiological detection of myocardial ischaemia through monophasic action potential recording. *Prog Cardiovasc Dis* 1991;34: 15-28.
70. Antzelevitch C, Sicouri S, Litovsky SH, Lukas A, Krishnan SC, Di Diego JM, Gintant GA, Liu DW. Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial, and M cells. *Circ Res* 1991;69:1427-49.
71. Gomez AM, Benitah JP, Henzel D, Vinet A, Lorente P, Delgado C. Modulation of electrical heterogeneity by compensated hypertrophy in rat left ventricle. *Am J Physiol* 1997;272:H1078-86.
72. Volders PG, Sipido KR, Carmeliet E, Spatjens RL, Wellens HJ, Vos MA. Repolarizing K⁺ currents ITO1 and IKs are larger in right than left canine ventricular midmyocardium. *Circulation* 1999;99:206-10.
73. Coronel R, Wilms-Schopman FJ, Opthof T, van Capelle FJ, Janse MJ. Injury current and gradients of diastolic stimulation threshold, TQ potential, and extracellular potassium concentration during acute regional ischemia in the isolated perfused pig heart. *Circ Res* 1991;68:1241-9.
74. Johnson TA, Coronel R, Graebner CA, Buchanan JW, Janse MJ, Gettes LS. Relationship between extracellular potassium accumulation and local TQ-segment potential during acute myocardial ischemia in the porcine. *J Mol Cell Cardiol* 1987;19:949-52.
75. Green LS, Fuller MP, Lux RL. Three-dimensional distribution of ST-T wave alternans during acute ischemia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1997;8:1413-9.



76. Watson CL, Gold MR. Effect of intracellular and extracellular acidosis on sodium current in ventricular myocytes. *Am J Physiol* 1995;268:H1749-56.

77. Zhang JF, Siegelbaum SA. Effects of external protons on single cardiac sodium channels from guinea pig ventricular myocytes. *J Gen Physiol* 1991;98:1065-83.

78. Donoso P, Mill JG, O'Neill SC, Eisner DA. Fluorescence measurements of cytoplasmic and mitochondrial sodium concentration in rat ventricular myocytes. *J Physiol* 1992;448:493-509.

79. Robicsek F, Masters TN, Svenson RH, Daniel WG, Daugherty HK, Cook JW, Selle JG. The application of thermography in the study of coronary blood flow. *Surgery* 1978;84:858-64.

80. Katzung BG, Hondeghem LM, Grant AO. Letter: Cardiac ventricular automaticity induced by current of injury. *Pflugers Arch* 1975;360:193-7.

81. Gilmour RF, Jr., Zipes DP. Different electrophysiological responses of canine endocardium and epicardium to combined hyperkalemia, hypoxia, and acidosis. *Circ Res* 1980;46:814-25.

82. Schomig A, Haass M, Richardt G. Catecholamine release and arrhythmias in acute myocardial ischaemia. *Eur Heart J* 1991;12 Suppl F:38-47.

83. Gao J, Mathias RT, Cohen IS, Shi J, Baldo GJ. The effects of beta-stimulation on the Na(+)-K+ pump current-voltage relationship in guinea-pig ventricular myocytes. *J Physiol* 1996;494 (Pt 3):697-708.

84. Carmeliet E, Vereecke J. Adrenaline and the plateau phase of the cardiac action potential. Importance of Ca⁺⁺, Na⁺ and K⁺ conductance. *Pflugers Arch* 1969;313:300-15.

85. Cinca J, Figueras J, Senador G, Garcia-Moreno E, Salas A, Rius J. Transmural DC electrograms after coronary artery occlusion and latex embolization in pigs. *Am J Physiol* 1984;246:H475-82.

86. Undrovinas AI, Fleidervish IA, Makielski JC. Inward sodium current at resting potentials in single cardiac myocytes induced by the ischemic metabolite lysophosphatidylcholine. *Circ Res* 1992;71:1231-41.

87. Bhatnagar A, Srivastava SK, Szabo G. Oxidative stress alters specific membrane currents in isolated cardiac myocytes. *Circ Res* 1990;67:535-49.

88. Opthof T, Dekker LR, Coronel R, Vermeulen JT, van Capelle FJ, Janse MJ. Interaction of sympathetic and parasympathetic nervous system on ventricular



refractoriness assessed by local fibrillation intervals in the canine heart. *Cardiovasc Res* 1993;27:753-9.

89. Peters NS, Wit AL. Myocardial architecture and ventricular arrhythmogenesis. *Circulation* 1998;97:1746-54.

90. Kleber AG. Conduction of the impulse in the ischemic myocardium--implications for malignant ventricular arrhythmias. *Experientia* 1987;43:1056-61.

91. Burt JM. Block of intercellular communication: interaction of intracellular H⁺ and Ca²⁺. *Am J Physiol* 1987;253:C607-12.

92. Wu J, McHowat J, Saffitz JE, Yamada KA, Corr PB. Inhibition of gap junctional conductance by long-chain acylcarnitines and their preferential accumulation in junctional sarcolemma during hypoxia. *Circ Res* 1993;72:879-89.

93. Kieval RS, Spear JF, Moore EN. Gap junctional conductance in ventricular myocyte pairs isolated from postischemic rabbit myocardium. *Circ Res* 1992;71:127-36.

94. Clements-Jewery H, Hearse DJ, Curtis MJ. Phase 2 ventricular arrhythmias in acute myocardial infarction: a neglected target for therapeutic antiarrhythmic drug development and for safety pharmacology evaluation. *Br J Pharmacol* 2005;145:551-64.

95. Pogwizd SM, Corr PB. Reentrant and nonreentrant mechanisms contribute to arrhythmogenesis during early myocardial ischemia: results using three-dimensional mapping. *Circ Res* 1987;61:352-71.

96. Janse MJ, van Capelle FJ, Morsink H, Kleber AG, Wilms-Schopman F, Cardinal R, d'Almoncourt CN, Durrer D. Flow of "injury" current and patterns of excitation during early ventricular arrhythmias in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine and canine hearts. Evidence for two different arrhythmogenic mechanisms. *Circ Res* 1980;47:151-65.

97. Smith WT, Fleet WF, Johnson TA, Engle CL, Cascio WE. The I_b phase of ventricular arrhythmias in ischemic in situ porcine heart is related to changes in cell-to-cell electrical coupling. Experimental Cardiology Group, University of North Carolina. *Circulation* 1995;92:3051-60.

98. Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C, Jr., Reimer KA. Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation* 1990;82:112-12.



99. Friedman PL, Stewart JR, Fenoglio JJ, Jr., Wit AL. Survival of subendocardial Purkinje fibers after extensive myocardial infarction in dogs. *Circ Res* 1973;33:597-611.

100. Horowitz LN, Spear JF, Moore EN. Subendocardial origin of ventricular arrhythmias in 24-hour-old experimental myocardial infarction. *Circulation* 1976;53:56-63.

101. Fenoglio JJ, Jr., Karagueuzian HS, Friedman PL, Albala A, Wit AL. Time course of infarct growth toward the endocardium after coronary occlusion. *Am J Physiol* 1979;236:H356-70.

102. Opitz CF, Mitchell GF, Pfeffer MA, Pfeffer JM. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat. Continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats. *Circulation* 1995;92:253-61.

103. ET. C. The treatment of coronary heart disease. Part 2: Mortality trends and main causes of death in the Greek population. *Curr Med Res Opin* 2001;17:1) 27-33.

104. Fu Y GS, Chang WC, van De Werf F, Granger CB, Armstrong PW. Time to treatment influences the impact of ST-segment resolution on one-year prognosis: insights from the assesment of the safety and efficacy of a new thrombolytic (ASSENT-2) trial. *Circulation* 2001;104:2653-2659.

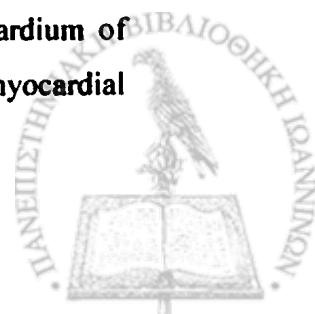
105. Wharton TP Jr GL, Turco MA, Johnston JD, Souther J, Lew DC, Shaikh AZ, Bilnoski W, Singhi SK, Atay AE, Sinclair N, Shaddinger DE, Barsamian M, Graham M, Boura J, Grines CL. Primary angioplasty in acute myocardial infarction at hospitals with no surgery on-site versus transfer to surgical centers for primary angioplasty. The PAMI-No SOS study. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:1943-1950.

106. Goldberg RJ GJ, Haffajee CI, Alpert JS, Dalen JE. Outcome after cardiac arrest during acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1987;59:1) 251-255.

107. Singh BN WH, Hiraoka M. Electropharmacological control of cardiac arrhythmias: to delay conduction or to prolong refractoriness. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1994;5:722-730.

108. HJ. W. 1967-1997: thirty years of cardiac arrhythmias. *Eur Heart J* 1998;19:984-989.

109. Misier AR OT, van Hemel NM, Vermeulen JT, de Bakker JM, Defauw JJ, van Capelle FJ, Janse MJ. Dispersion of refractoriness in noninfarcted myocardium of patients with ventricular tachycardia or ventricular fibrillation after myocardial infarction. *Circulation* 1995;91:2566-2572.



110. Miyauchi T YM, Tomizawa T. Increased plasma concentrations of endothelin-1 and big endothelin-1 in acute myocardial infarction. *Lancet* 1989;2:53-54.
111. Loennechen JP SA, Beisvag V, Wisloff U, Ellingsen O. Regional expression of endothelin-1, ANP, IGF-1, and LV wall stress in the infarcted rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:H 2902-H 2910.
112. St. John Sutton MG, Pfeffer, M.A., Plappert, C.V.T., Rouleau, J.L., Moye LA, Dagenais, G.R., et al. Quantitative twodimensional echocardiographic measurements are major predictors of adverse cardiovascular events after acute myocardial infarction. The protective effects of captopril. *Circulation* 1994;89: 68-75.
113. Braunwald E, and Bristow, M.R. Congestive heart failure: fifty years of progress. *Circulation* 2000;102: IV14-IV23.
114. St. John Sutton MG, and Sharpe, N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction. Pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000;101:2981-2988.
115. Pfeffer MA, Braunwald, E., Moye, L.A., Basta, L., Brown, E.J., Jr. C, T.E., et al. On behalf of the SAVE investigators. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N. Engl. J. Med.* 1992;327:669-677.
116. Ponick K, Vogelsang, M., and Heinroth, M. Endothelin receptors in the failing and nonfailing human heart. *Circulation* 1998;97:744-751.
117. Pieske B, Beyermann, B., Breu, V., Loffler, B.M., Schlotthauer, K., Maier LS, Schmidt-Schweda, S., Just, H., and Hasenfuss, G. Functional effects of endothelin and regulation of endothelin receptors in isolated human nonfailing and failing myocardium. *Circulation* 1999;99:1802-1809.
118. Zolk O, Quattek, J., Sitzler, G., Schrader, T., Nickenig, G., Schnabel, P. S, K., Takahashi, M., and Bohm, M. Expression of endothelin-1, endothelin-converting enzyme, and endothelin receptors in chronic heart failure. *Circulation* 1999;99:2118-2123.
119. Mulder P, Richard, V., and Thuillez, C. Endothelin antagonism in experimental ischemic heart failure: hemodynamic, structural,



and neurohumoral effects. *Heart Failure Rev.* 2001;6:2095–3000.

120. Luscher TF, and Barton, M. Endothelins and endothelin receptor antagonists. Therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation* 2000;102:2434–2440.

121. Dupuis J. Endothelin receptor antagonists and their developing role in cardiovascular therapeutics. *Can J. Cardiol.* 2000;16:903–910.

122. Spieker LE, Noll, G.E., Ruschitzka, F., and Luscher, T.F. Endothelin receptor antagonists in congestive heart failure: a new therapeutic approach? *J. Am. Coll. Cardiol* 2001;37:1493-1505.

123. Moe GW, Rouleau, J.L., Quang T. Nguyen, Q.T., Cernacek, P., and Stewart DJ. Role of endothelins in congestive heart failure. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2003;81:588–597.

124. Moravec CS, Reynolds, E.E., Stewart, R.W., and Bond, M. Endothelin is a positive inotropic agent in human and rat heart in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989;159:14-18.

125. Kelly RA, Eid, H., Kramer, B.K., O'Neill, M., Liang, B.T., Reers, M. aS, T.W. Endothelin increases the contractile responsiveness of adult rat ventricular myocytes to calcium by a pertussis toxin sensitive pathway. *J. Clin. Invest.* 1990;86:1164–1171.

126. Ezra D, Goldstein, R., Czaja, J., and Feuerstein, G. Lethal ischemia due to intracoronary endothelin in pigs. *Am. J. Physiol.* 1989;257:339–343.

127. Beyer M. Slesak, G, Hovelborn, T., Kazmaier, S., Nerz, S., and, Hoffmeister HM. Inotropic effect of endothelin-1. Interaction with molsidomine and BQ610. *Hypertension* 1999;33:145–152.

128. Fukuda Y, Hirata, Y., Yoshimi, H., Kojima, T., Kobayashi, Y., Yanagisawa M, and Masaki, T. Endothelin is a potent secretagogue for atrial natriuretic peptide in cultured rat atrial myocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988;155:167–172.

129. Thibault G, Doubell, A.F., Garcia, R., Larivière, R., and Schiffrin, E.L. Endothelin-stimulated secretion of natriuretic peptides by rat atrial myocytes is mediated by endothelin A receptors. *Circ. Res.* 1994;74:460-470.

130. Sharif I, Kane, K.A., Wainwright, C.L. Endothelin and



ischaemic arrhythmias - antiarrhythmic or arrhythmogenic? *Cardiovasc. Res.* 1998;39: 625-632.

131. Woodcock EA, Reyes, N., Jacobsen, A.N, and Du, X.J. Inhibition of inositol(1,4,5) trisphosphate generation by endothelin-1 during postischemic reperfusion. A novel antiarrhythmic mechanism. *Circulation* 1999;99:823-828.

132. Rubanyi GM, and Polokoff, M.A. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol. Rev.* 1994;46:328-415.

133. Plumpton C, Ashby, M.J., Kuc, R.E., O'Reilly, G., Davenport, A.P. Expression of endothelin peptides and mRNA in the human heart. *Clin. Sci.* 1996;90:37-46.

134. Cernacek P, and Stewart, D.J. Immunoreactive endothelin in human plasma: marked elevations in patients with cardiogenic shock. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989;161:562 – 567.

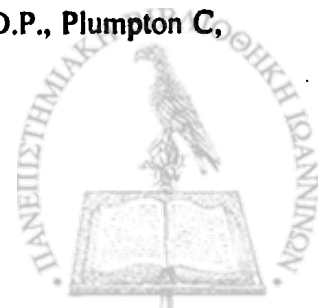
135. Nguyen QT, Cernacek, P., Calderoni, A., Stewart, D.J., Picard, P., Sirois P, White, M., and Rouleau, J.L. Endothelin A receptor blockade causes adverse left ventricular remodeling but improves pulmonary artery pressure after infarction in the rat. *Circulation* 1998;98:2323–2330.

136. Oie E, Vonge, L.E., Tonnessen, T.G., Groggaard, H.K., Kjekshus, H. C, G., Smiseth, O.A., and Attramadal, H. Transient, isopeptide specific induction of myocardial endothelin-1 mRNA in congestive heart failure in rats. *Am. J. Physiol.* 1997;273:H1727–H1736.

137. Kobayashi T, Miyauchi, T., Sakai, S., Kobayashi, M., Yamaguchi, I, G, K., and Sugishita, Y. Expression of endothelin-1, ETA and ETB receptors, and ECE and distribution of endothelin-1 in failing rat hearts. *Am. J. Physiol.* 1999;276:H1197–H1206.

138. Cernacek P, Tanguay, J.F., Ducharme, A., Sirois, M.G., and, Rouleau JL. Endothelin ETA receptor blockade during peri-infarction period in the rat. *Can. J. Cardiol* 2001;17(Suppl. C):174.

139. Molenaar P, O'Reilly, G., Sharkey, A., Kuc, R.E., Harding, D.P., Plumpton C, Gresham, G.A., and Davenport, A.P. Characterization and localization of endothelin receptor subtypes in



the human atrioventricular conducting system and myocardium. *Circ. Res.* 1993;72:526-538.

140. Modesti PA, Vanni, S., Paniccia, R., Bandinelli, B., Bertolozzi, I., Polidori G, Sani, G., and Neri Semeri, G.G. Characterization of receptor subtypes in isolated human cardiomyocytes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1999;34:333-339.

141. Fareh J, Touyz, R.M., Schiffrin, E.L., and Thibault, G. Endothelin-1 and angiotensin II receptors in cells from rat hypertrophied heart. *Circ. Res.* 1996;78:302-311.

142. Qi XL, Sia, Y.T., Stewart, D.J., Wei, G., Nguyen, Q.T, Cernacek, P. P, P., Sirois, M.G., and Rouleau, J.L. Myocardial contractile responsiveness to endothelin-1 in the post-infarction rat model of heart failure: effects of chronic Quinapril. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2001;33:2023- 2035.

143. Cannan CR, Burnett, J.C., and Lerman, A. Enhanced coronary vasoconstriction to endothelin B-receptor activation in experimental congestive heart failure. *Circulation* 1996;93:646-651.

144. Guarda E, Katwa, L.C., Myers, P.R., Tyagi, S.C., and Weber, K.T. Effects of endothelins on collagen turnover in cardiac fibroblasts. *Cardiovasc. Res.* 1993;27:2130-2134.

145. Hocher B, George, I., Rebstock, J., Bauch, A., Schwarz, A., Neumayer HH, and Bauer, C. Endothelin systemdependent cardiac remodeling in renovascular hypertension. *Hypertension* 1999;33:816-822.

146. Stewart DJ, Kubac, G., Costello, K.B., and Cernacek, P. Increased plasma endothelin I during early hours of acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1991;18:38-43.

147. Omland T, Lie, R.T., Aakvaag, A., Aaarsland, T., and Dickstein, K. ea. Plasma endothelin determination as a prognostic indicator of 1-year mortality after acute myocardial infarction. *Circulation* 1994;89:1573-1579.

148. Berger R, Strecker, K., Hulsman, M., Frey, B, Bojic, A., Moser, P. ea. a. Prognostic power of neurohumoral parameters depends on the clinical stage and on the observation period in chronic heart failure. *Proceedings of the 7th International Conference on Endothelin Edinburgh, U.K16-19 Sept 2001* 2001:pp. 117.



149. Brunner F, Du Toit, E.F., and Opie, L.H. Endothelin release during ischemia and reperfusion of isolated perfused rat hearts. *J. Mol. Cell. Cardiol* 1992;24:1291-1305.
150. Watanabe T, Suzuki, N., Shimamoto, N., Fujino, M., and Imada, A.M. Contribution of endogenous endothelin to the extension of myocardial infarct size in rats. *Circ. Res.* 1991;69:370-377.
151. Dupuis J, Cernacek, P., Tardif, J.C., Stewart, D.J., Gosselin, G., Dyrda I, Bonan, R., and Crepeau, J. a. Reduced pulmonary clearance of endothelin-1 in pulmonary hypertension. *Am. Heart. J* 1998;135:614-620.
152. Dupuis J, Rouleau, J.L., and Cernacek, P. b. Reduced pulmonary clearance of endothelin-1 contributes to the increase of circulating levels in heart failure secondary to myocardial infarction. *Circulation* 1998;98:1684-1687.
153. Dupuis J, Moe, G.W., and Cernacek, P. c. Reduced pulmonary metabolism of endothelin-1 in canine tachycardia-induced heart failure. *Cardiovasc. Res.* 1998;39:609-616.
154. Tonnessen T, Giaid, A., Saleh, D., Yanagisawa, M., and, Christensen G. Increased in vivo expression and production of endothelin-1 by porcine cardiomyocytes subjected to ischemia. *Circ. Res.* 1995;76:767-772.
155. Tonnessen T, Lunde, P.K., Giaid, A., Sejersted, O.M., and, Christensen G. Pulmonary and cardiac expression of preproendothelin-1 mRNA are increased in heart failure after myocardial infarction in the rats. *Cardiovasc. Res.* 1998;39:633-643.
156. Kakinuma Y, Miyauchi, T., Yuki, K., Murakoshi, N., Goto, K., and Yamaguchi I. Novel molecular mechanism of increased myocardial endothelin-1 expression in the failing heart involving the transcriptional factor hypoxia-inducible factor-1 α induced for impaired myocardial energy metabolism. *Circulation* 2001;103:2387-2394.
157. Ito H, Hirata, Y., Adachi, S., and Hiroe, M. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II-induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes. *J. Clin.*



Invest. 1993;92:398-403.

158. Fujisaki H, Ito, H., Hirata, Y., Tanaka, M., Hata, M., Lin, M., Adachi S, Akimoto, H., Marumo, F., and Hiroe, M. Natriuretic peptides inhibit angiotensin 11-induced proliferation

of rat cardiac fibroblasts by blocking endothelin-1 gene expression. *J. Clin. Invest.* 1995;96:1059-1065.

159. Kanno K, Hirata, Y., Tsujino, M., Imai, T., Shichm, M., Ito, H., and, Marumo F. Upregulation of ETB receptor subtype mRNA

by angiotensin II in rat cardiomyocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993;194:1282-1287.

160. Moreau P, d'Uscio, L.V., Shaw, S., Takase, H., Barton, M., and, Luscher TF, and Barton, M. Angiotensin II increases tissue endothelin

and induces vascular hypertrophy: reversal by ETA-antagonist. *Circulation* 1997;96:1593-1597.

161. Kakinuma Y, Miyauchi, T., Kobayashi, T., Yuki, K., Maeda, S., Sakai S, Goto, K., and Yamaguchi, I. Myocardial expression

of endothelin-2 is altered reciprocally to that of endothelin-1 during ischemia of cardiomyocytes in vitro and during heart failure in vivo. *Life Sci.* 1999;65:1671-1683.

162. Yorikane R KH. The arrhythmogenic action of endothelin in rats. *Jpn J Pharmacol* 1990;53:259-263.

163. Yorikane R KH, Miyake S. Electrophysiological effects of endothelin-1 on canine myocardial cells. *J Cardiovasc Pharmacology* 1991;17(suppl 7):S159-S162.

164. Szabo T GL, Merkely B, Selmecei L, Juhasz-Nagy A, Solti F. Investigating the dual nature of endothelin-1: Ischemia or direct arrhythmogenic effect? *Life Sciences* 2000;66:2527-2541.

165. Szokodi I HF, Merkely B, Solti F, Geller L, Kiss P, Selmecei L, Kekesi V, Vuolteenaho O, Ruskoaho H, Juhasz-Nagy A, Toth M. Intraepicardial infusion of endothelin-1 induces ventricular arrhythmias in dogs. *Cardiovasc Res* 1998;38:356-364.

166. Bolli R, Fisher DJ, Entman ML. Factors that determine the occurrence of arrhythmias during acute myocardial ischemia. *Am Heart J* 1986;111:261-70.



167. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM. Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1987;21:737-46.
168. Curtis MJ, Macleod BA, Walker MJ. Models for the study of arrhythmias in myocardial ischaemia and infarction: the use of the rat. *J Mol Cell Cardiol* 1987;19:399-419.
169. Manoach M, Netz H, Varon D, Amitzur G, Weinstock M, Kauli N, Assael M. Factors influencing spontaneous initiation and termination of ventricular fibrillation. *Jpn Heart J* 1986;27:365-75.
170. Hu K GP, Anders H-J, Weidemann F, Turschner O, Nahredorf M, Ertl G. Chronic effects of early started angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin AT1-receptor subtype blockade in rats with myocardial infarction: role of bradykinin. *Cardiovasc Res* 1998;39:401-412.
171. Ελαιόπουλος Δ ΜΓ, Μήτση Α, Νιόκου Δ, Χατζηστέργος Κ, Κατσούρας Χ, Μιχάλης ΛΚ, Κωλέττης ΘΜ, Σιδεράς ΔΑ. Σύγκριση πέντε πειραματικών προτύπων χρονίου εμφράγματος του μυοκαρδίου σε επίμυες. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση 2003; Supplement No. 2, Abstracts, 24ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιολογίας, Ρόδος, περίληψη Νο 41, σελ.23. 2003.*
172. Pfeffer MA PJ, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979;44:503-512.
173. Becker K SS, Conway S. Role of insulin-like growth factor I in regulating growth hormone release and feedback in the male rat. *Neuroendocrinology* 1995;61:573-583.
174. Clozel M, Breu, V., Gray, G.A., Kalina, B., Loffler, B.M., and Burri, K. ea. Pharmacological characterization of bosentan, a new potent orally active nonpeptide endothelin receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994;270:228-234.
175. Curtis MJ HD. Ischaemia-induced and reperfusion induced arrhythmias differ in their sensitivity to potassium: implications for mechanisms of initiation and maintenance of ventricular fibrillation. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21:21 - 40.
176. Johnston KM, MacLeod BA, Walker MJ. Responses to ligation of a coronary artery in conscious rats and the actions of antiarrhythmics. *Can J Physiol Pharmacol* 1983;61:1340-53.



177. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, Campbell RW, Janse MJ, Yellon DM, Cobbe SM, Coker SJ, Harness JB, Harron DW, et al. The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1988;22:447-55.
178. Curtis MJ, Walker MJ. Quantification of arrhythmias using scoring systems: an examination of seven scores in an in vivo model of regional myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res* 1988;22:656-65.
179. Opitz CF MG, Pfeffer MA, Pfeffer JM. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat. *Circulation* 1995;92:253-261.
180. Hoffman BF, Cranefield PF, Lepeschkin E, Surawicz B, Herrlich HC. Comparison of cardiac monophasic action potentials recorded by intracellular and suction electrodes. *Am J Physiol* 1959;196:1297-301.
181. Ino T, Karagueuzian HS, Hong K, Meesmann M, Mandel WJ, Peter T. Relation of monophasic action potential recorded with contact electrode to underlying transmembrane action potential properties in isolated cardiac tissues: a systematic microelectrode validation study. *Cardiovasc Res* 1988;22:255-64.
182. Franz MR. Current status of monophasic action potential recording: theories, measurements and interpretations. *Cardiovasc Res* 1999;41:25-40.
183. Franz MR. Bridging the gap between basic and clinical electrophysiology: what can be learned from monophasic action potential recordings? *J Cardiovasc Electrophysiol* 1994;5:699-710.
184. Franz M, Schottler M, Schaefer J, Seed WA. Simultaneous recording of monophasic action potentials and contractile force from the human heart. *Klin Wochenschr* 1980;58:1357-9.
185. Franz MR. Long-term recording of monophasic action potentials from human endocardium. *Am J Cardiol* 1983;51:1629-34.
186. Baltogiannis GG, Tsalikakis DG, Mitsi AC, Hatzistergos KE, Elaiopoulos D, Fotiadis DI, Kyriakides ZS, Kolettis TM. Endothelin receptor--a blockade decreases ventricular arrhythmias after myocardial infarction in rats. *Cardiovasc Res* 2005;67:647-54.
187. Tsalikakis DG FD, Kolettis T, Michalis LK. Automated system for the analysis of heart monophasic action potentials. *Comput Cardiol* 2003;30:339-342.



188. Mohabir R, Franz MR, Clusin WT. In vivo electrophysiological detection of myocardial ischemia through monophasic action potential recording. *Prog Cardiovasc Dis* 1991;34:15-28.
189. Downar E, Janse MJ, Durrer D. The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart. *Circulation* 1977;56:217-24.
190. Kurz RW, Mohabir R, Ren XL, Franz MR. Ischaemia induced alternans of action potential duration in the intact-heart: dependence on coronary flow, preload and cycle length. *Eur Heart J* 1993;14:1410-20.
191. Franz M. Monophasic action potential recording by contact electrode technique: In vitro validation and clinical applications. London: Farrand Press, 1989:92.
192. Franz MR, Burkhoff D, Spurgeon H, Weisfeldt ML, Lakatta EG. In vitro validation of a new cardiac catheter technique for recording monophasic action potentials. *Eur Heart J* 1986;7:34-41.
193. Nachlas MM, Shnitka TK. Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity. *Am J Pathol* 1963;42:379-405.
194. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Lando U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Corday E, Ganz W. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J* 1981;101:593-600.
195. Ytrehus K, Liu Y, Tsuchida A, Miura T, Liu GS, Yang XM, Herbert D, Cohen MV, Downey JM. Rat and rabbit heart infarction: effects of anesthesia, perfusate, risk zone, and method of infarct sizing. *Am J Physiol* 1994;267:H2383-90.
196. Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ. Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am J Pathol* 1985;121:522-30.
197. Lopez Farre A, Riesco, A., Espinosa, G., Digiuni, E., Cernadas, M.R. A, V., et al. Effect of endothelin-1 on neutrophil adhesion to endothelial cells and perfused heart. *Circulation* 1993;88:1166-1171.
198. Haller H, Schaberg, T., Lindschau, C., Lode, H., and Distler, A. Endothelin increases [Ca²⁺]_i protein phosphorylation and O₂ production in human alveolar macrophages. *Am. J. Physiol.* 1991;261:L478-L484.
199. Brugge E, and Ytrehus, K. Endothelin-1 can reduce infarct size through protein kinase C and KATP channels in the isolated



rat heart. *Cardiovasc. Res.* 1996;32:920-929.

200. Grover GJ, Sleph, P.G., Fox, M., and Trippodo, N.C. Role of endothelin-1 and big endothelin-1 in modulating coronary vascular tone, contractile function and severity of ischemia in rat hearts. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992;263:1074-1082.

201. Petrukhina V, Medvedeva, N., Postnikov, A., Kalenikova, E., Gavrilova S, Storozhilova, A., et al. Chronic ECE inhibition improves cardiac contractility and pump function via changes in nitric oxide system in rat model of acute myocardial ischemia in vivo. *Proceedings of the 7th International Conference on Endothelin, Edinburgh, G.B., 16-19 September 2001.* 2001:107.

202. Gonon AT, Gourin, A.V., Middelveld, R.J.M., Alving, K., and, Pernow J. Limitation of infarct size and attenuation of myeloperoxidase activity by an endothelin A receptor antagonist following ischemia and reperfusion. *Basic Res. Cardiol.* 2001;96:454-462.

203. Grover GJ, Dzwonczyk, S., and Parham, C.S. The endothelin-1 receptor antagonist BQ-123 reduces infarct size in a canine model of coronary occlusion and reperfusion. *Cardiovasc. Res.* 1993;27:1613-1618.

204. Yuan W-J, and Lin, L. Study on the role of endothelin-1 in acute ischemic arrhythmias. *Proceedings of the 7-th International Conference on Endothelin, Edinburgh, GB, Sept. 16-19,* 2001:115.

205. Richard V, Kaeffer, N., Hogie, M., Tron, C., Blanc, T., and Thuillez, C. Role of endogenous endothelin in myocardial and coronary endothelial injury after ischemia and reperfusion in rats: studies with bosentan, a mixed ETA-ETB antagonist. *Br. J. Pharmacol.* 1994;113:869-874.

206. Dagassan PH, Breu, V., Clozel, M., and Clozel, J.P. Role of endothelin during reperfusion after ischemia in isolated perfused rat hearts. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1994;24:867-874.

207. McMurdo L, Thiemermann, C., and Vane, J.R. The effects of the endothelin ETA receptor antagonist, FR 139317, on infarct size in a rabbit model of acute myocardial ischemia and reperfusion. *Br. J. Pharmacol.* 1994;112:75-80.



208. Vago H, Soos, P., and Zima, E., Geller, L., Szabo, G.T., Kekesi, V., et al. Endothelin-A receptor antagonist LU 135252 has no electrophysiological and antiarrhythmic effects during myocardial ischemia-reperfusion on dogs. *Proceedings of the 7th International Conference on Endothelin, Edinburgh, G.B., 16-19 September 2001*. 2001:113.
209. Basso C, Thiene, G., Della Barbera, M., Angelini, A., Kirchengast, M. et al, S. Endothelin-A receptor antagonist administration immediately after experimental myocardial infarction with reperfusion does not affect scar healing in dogs. *Cardiovasc. Res* 2002;55:113–121.
210. Gonon AT, Wang, Q.D., and Pernow, J. The endothelin A receptor antagonist LU 135252 protects the myocardium from neutrophil injury during ischemia/reperfusion. *Cardiovasc. Res.* 1998;39:674–682.
211. Gourine AV, Gonon, A.T., and Pernow, J. Involvement of nitric oxide in cardioprotective effect of endothelin receptor antagonist during ischemiareperfusion. *Am. J. Physiol.* 2001;280:H1105–H1112.
212. Kurzelewski M, Czarnowska, E., and Beresewicz, A. Selective ET-A blockade prevents neutrophil adhesion in the isolated post-ischemic guinea pig heart by protecting coronary endothelium. *Proceedings of the 7th International Conference on Endothelin, Edinburgh, G.B., 16-19 September 2001*. 2001:109.
213. Sun M, Dawood, F., Wen, W.-H., Penninger, J., and Liu, P. Excessive tumor necrosis factor activation post-infarction contributes to the early susceptibility to myocardial rupture: evidence from TNF -/- transgenic knockout models. *Can. J. Cardiol.* 2001;17(Suppl. C):119.
214. Borgeson DD, Grantham, J.A., Williamson, E.E., Luchner, A., Redfield MM, Opgenorth, T.J., and Burnett, J.C., Jr. Chronic oral endothelin type A receptor antagonism in experimental heart failure. *Hypertension* 1998;31:766–770.
215. Moe GW, Albernaz, A., Naik, G.O., Kirchengast, M., and, Stewart DJ. Beneficial effects of long-term selective endothelin type A receptor blockade in canine experimental heart failure. *Cardiovasc. Res.* 1998;39:571–579.



216. Spinale FG, Walker, J.D., Mukherjee, R., Iannini, J.P., Keevrr, A.T. G, K.P. Concomitant endothelin receptor

subtype-A blockade during progression of pacing-induced congestive heart failure in rabbits. *Circulation* 1997;95:1918-1929.

217. Ono K, Matsumori, A., Shioi, T., Furukuwa, Y., and Sasayama, S. Contribution of endothelin-1 to myocardial injury in a murine model of myocarditis. *Circulation* 1999;100.

218. Pandey SA, Stewart, D.J., Cernacek, P., Dawood, F., Wen, W.H., and Liu P. Chronic endothelin-1 blockade preserves myocardial contractility in dilated cardiomyopathy. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998;31:S306-S308.

219. Iwanaga Y, Kihara, Y., Hasegawa, K., Inagaki, K., Yoneda, T., Kaburagi S, Araki, M., and Sasayama, S. Cardiac

- endothelin-1 plays a critical role in the functional deterioration of left ventricles during the transition from compensatory hypertrophy to congestive heart failure in salt-sensitive hypertensive rats. *Circulation* 1998;98:2065-2073.

220. Yamauchi-Kohno R, Miyauchi, T., Hoshino, T., Kobayashi, T., Aihara H, Sakai, S., Yabana, H., Goto, K., Sugishita, Y., and, Murata S. Role of endothelin in deterioration of heart failure due to cardiomyopathy in hamsters. *Circulation* 1999;99:2171-2176.

221. Pfeffer JM, Finn, P.V., Zornoff, L.A., and Pfeffer, M.A. Endothelin-A receptor antagonism during acute myocardial infarction in rats. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2000;14:579-587.

222. Pfeffer MA, Pfeffer, J.M., Steinberg, C.M., and Finn, P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation* 1985;72:406-412.

223. Mulder P, Richard, V., Bouchart, F., Derumeaux, G., Munter, K., and Thuillez C. Selective ETA receptor blockade prevents left ventricular remodeling and deterioration of cardiac function in experimental heart failure. *Cardiovasc. Res.* 1998;39:600-608.

224. Mulder P, Boujedaini, H., Richard, V., Derumeaux, G., Henry, J.P., Renet S, Wessale, J., Opgenorth, T., and Thuillez, C. Selective endothelin-A versus combined endothelin-A/endothelin-B



- receptor blockade in rat chronic heart failure. *Circulation* 2000;102:491–493.
225. Mulder PR, V., Derumeaux, G., Hogie, M., Henry, J.P., Lallemand F, Compagnon, P., Mace, B., Comoy, E., Letac, B., and Thuillez C. Role of endogenous endothelin in chronic heart failure. Effect of long-term treatment with an endothelin antagonist on survival, hemodynamics, and cardiac remodeling. *Circulation* 1997;96:1976–1982.
226. Fraccarollo D, Galuppo, P., Bauersachs, J., and Ertl, G. Collagen accumulation after myocardial infarction: effects of ETA receptor blockade and implications for early remodeling. *Cardiovasc. Res.* 2002;54:559–567.
227. Hu K, Gaudron, P., Schmidt, T.J., Hoffman, K.D., and Ertl, G. Aggravation of left ventricular remodeling by a novel specific endothelin ETA antagonist EMD94246 in rats with experimental myocardial infarction. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998;32:505–508.
228. Oie E, Yndestad, A., Robins, S.P., Bornerheim, R., Asberg, A., and Attramadal H. Early intervention with a potent endothelin-A/endothelin-B receptor antagonist aggravates left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Basic Res. Cardiol.* 2002;97:239–247.
229. Dingenmanse J, Clozel, M, van Giersbergen, P.L. Entry-into humans studies with tezosentan, an intravenous dual endothelin receptor antagonist. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2002;39:795–802.
230. Torre-Amione G, Young, J.B., and Durand, J., Bozkurt, B., Mann, D.L. K, I., and Pratt, C.M. Hemodynamic effects of tezosentan, an intravenous dual endothelin receptor antagonist, in patients with class III to IV congestive heart failure. *Circulation* 2001;103:973–980.
231. Clozel M, Qiu, C., Qiu, C.-S., Hess, P., and Clozel, J.P. Short-term endothelin receptor blockade with tezosentan has both immediate and long-term beneficial effects in rats with myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol* 2002;39:142–147.
232. Ohuchi T, Kuwaki, T., Ling, G.Y., Dewit, D., Ju, K.H., Onodera, M. C, W.H., Yanagisawa, M., and Kumada, M. Elevation of blood pressure by genetic and pharmacological disruption of the ETB receptor in mice. *Am. J. Physiol.* 1999;276:R1041–R1077.



233. Ivy DD, Parker, T.A., and Abman, S.H. Prolonged endothelin B receptor blockade causes pulmonary hypertension in the ovine fetus. *Am. J. Physiol.* 2000;279:L758-L765.
234. Bauersachs J, Fraccarollo, D., Galupo, P., Widder, J., and Ertl, G. Endothelin-receptor blockade improves endothelial vasomotor dysfunction in heart failure. *Cardiovasc. Res* 2000;47:142-149.
235. Berger R, Stanek, B., Hulsmann, M., Frey, B., Heher, S., Pacher, R. aN, T. b. Effects of endothelin A receptor blockade on endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2001;103:981-986.
236. Andreis PG, Tortorella, C., Malendowicz, L.K., and Nussdorfer, G.G. Endothelins stimulate aldosterone secretion from dispersed rat adrenal zona glomerulosa cells, acting through ETB receptors coupled with the phospholipase C-dependent signaling pathway. *Peptides* 2001;22:117-122.
237. Belloni A, Rossi, G.P., Andreis, P.G., Neri, G., Albertin, G., Pessina AC, and Nussdorfer, G.G. Endothelin adrenocortical secretagogue effect is mediated by the B receptor in rats. *Hypertension* 1996;27:1153-1159.
238. Sutsch G, Bertel, O., Rickenbacher, P., Clozel, M., Yandle, T.G., Nicholls MG, and Kiowski, W. Regulation of aldosterone secretion in patients with chronic heart failure by endothelins. *Am. J. Cardiol.* 2000;85:973-976.
239. Sawaki M, Wada, A., Tsumamoto, T., Ohnishi, M., Fujii, M., Matsumoto T, and Kinoshita, M. Chronic effects of orally active selective endothelin-B-receptor antagonist in experimental congestive heart failure. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2000;36:S323-S326.
240. Sakai S, Miyauchi, T., and Yamaguchi, I. Long-term endothelin receptor antagonist administration improves alterations in expression of various cardiac genes in failing myocardium of rats with heart failure. *Circulation* 2000;101:2849-2853.
241. Smith PJW, Stewart, D.J., Picard, P., Liu, P.P., Dawood, F., Wen, W.-H. W, D.J., and Monge, J.C. The effects of estrogen replacement on infarct size, cardiac remodelling, and the



- endothelin system following myocardial infarction in ovariectomized rats. *Circulation* 2000;102:2983-2989.
242. R.J. Myerburg KMKaAC. Sudden cardiac death: structure, function, and time-dependence of risk. *Circulation* 1992;85 (Suppl I):pp. 12-110.
243. A. Garjani CLW, I.J. Zeitlin, C. Wilson and S.J. Slee. Effects of endothelin-1 and the ETA-receptor antagonist, BQ123, on ischemic arrhythmias in anesthetized rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;25:pp. 634-642.
244. Aguilar AM RF, Moya A, Beltran J, Garcia J, San Martin E, Sancho S, Such L. Intravenous BQ-123 and phosphoramidon reduce ventricular ectopic beats and myocardial infarct size in dogs submitted to coronary occlusion and reperfusion. *Gen Pharmacol* 2000;35:143-147.
245. Raschack M JF, Rozek-Schaefer G. The endothelin-A antagonist LU135252 suppresses ischemic ventricular extrasystoles and fibrillation in pigs and prevents hypoxic cellular decoupling. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31:145-148.
246. Vago H SP, Zima E, Geller L, Kekesi V, Andrasi T, Szabo T, Juhasz-Nagy A, Merkely B. The ET-A receptor antagonist LU135252 has no electrophysiological or anti-arrhythmic effects during myocardial ischemia/reperfusion in dogs. *Clin. Sci.* 2002;103:223S-227S.
247. Z.S. Kyriakides DTK, T.M. Kolettis, A. Tasouli, A. Antoniadis and D.J. Webb. Acute endothelin-A receptor antagonism prevents normal reduction of myocardial ischaemia on repeated balloon inflations during angioplasty. *Circulation* 2000;102:pp. 1937-1943.
248. F. Duru MB, T.F. Lüscher and R. Candinas. Endothelin and cardiac arrhythmias: do endothelin antagonists have a therapeutic potential as antiarrhythmic drugs? *Cardiovasc Res* 2001;49:272-280.
249. E.J. Kelso JPS, B.J. McDermott, C.N. Scholfield and B. Silke. Stimulation of L-type Ca²⁺ current by the endothelin receptor A-selective antagonist, BQ-123 in ventricular cardiomyocytes isolated from the rabbit myocardium. *Biochem Pharmacol* 1998;55:897-902.
250. T.R. Crockett GAS, N.W. McGowan, K.A. Kane and C.L. Wainwright. Anti-arrhythmic and electrophysiological effects of the endothelin receptor antagonists, BQ-123 and PD161721. *Eur J Pharmacol* 2001;432:71-77.



251. T.M. Kolettis ZSK, D. Leftheriotis, A. Papalambrou, D.T. Kremastinos and D.J. Webb. Electrophysiologic effects of endothelin receptor-A blockade in patients with coronary artery disease. *J Interv Card Electrophysiol* 2003;8:173-179.

252. Clements-Jewery H HD, Curtis MJ. Phase 2 ventricular arrhythmias in acute myocardial infarction: a neglected target for therapeutic antiarrhythmic drug development and for safety pharmacology evaluation. *Br J Pharmacol* 2005;145:551-564.

253. Fenoglio Jr JJ KH, Friedman PL, Albala A, Wit AL. Time course of infarct growth toward the endocardium after coronary occlusion. *Am J Physiol*. 1979;236:H356-H350.

254. Douglas SA NA, Feuerstein GZ, Elliott JD, Ohlstein EH. SB 209670 inhibits the arrhythmogenic actions of endothelin-1 in the anesthetized dog. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31 Suppl 1:S99-102.

- 255. Geshi E NA, Arata Y, Nakatani M, Katagiri T. Effect of non-selective endothelin blockade, TAK-044, on the ischemic cellular injury of rat heart. *Basic Res Cardiol*. 1999;94:94-101.

256. Rosengren A WL, Gitt K, Behar S, Battler A, Hasdai D. Sex, age, and clinical presentation of acute coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2004;25:663-670.

257. Yasuda M KM, Tahara A, Itagane H, Toda I, Akioka K, Teragaki M, Oku H, Takeuchi K, Takeda T. Circulating immunoreactive endothelin in ischemic heart disease. *Am Heart J*. 1990;119:801-806.

258. Duru F BM, Luescher TF, Candinas R. Endothelin and cardiac arrhythmias: do endothelin antagonists have a therapeutic potential as antiarrhythmic drugs? *Cardiovasc Res* 2001;49:272-280.

259. Wang QD LX, Lundberg JM, Pernow J. Protective effects of non-peptide endothelin receptor antagonist bosentan on myocardial ischaemic and reperfusion injury in the pig. *Cardiovasc Res* 1995;29:805-812.

260. Proven A RH, Conway SJ, Berridge MJ, Horton JK, Capper SJ, Bootman MD. Inositol 1,4,5-trisphosphate supports the arrhythmogenic action of endothelin-1 on ventricular cardiac myocytes. *J Cell Sci*. 2006;119:3363-3375.

261. Merkely B GL, Toth M, Kiss O, Kekesi V, Solti F, Vecsey T, Horkay F, Tenczer J, Juhasz-Nagy A. Mechanism of endothelin-induced malignant ventricular arrhythmias in dogs. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31 Suppl 1:S437-S439.



262. Becker R MB, Bauer A, Geller L, Fazekas L, Freigang KD, Voss F, Senges JC, Kuebler W, Schoels W. Ventricular arrhythmias induced by endothelin-1 or by acute ischemia: a comparative analysis using three-dimensional mapping. *Cardiovasc Res* 2005;45:310-320.
263. Kelso EJ SJ, McDermott BJ, Scholfield CN, Silke B. Receptor-mediated effects of endothelin on the L-type Ca⁺⁺ current in ventricular cardiomyocytes. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;286:662-669.
264. McCabe C HM, Kane KA, Wainwright CL. Electrophysiological and haemodynamic effects of endothelin ETA and ETB receptors in normal and ischaemic working rabbit hearts. *Br J Pharmacol* 2005;146:118-128.
265. Alexiou K DT, Simsch O, Laule M, Hundertmark J, Baumann G, Stangl K. Arrhythmogenic effects induced by coronary conversion of pulmonary big endothelin to endothelin: aggravation of this phenomenon in heritable hyperlipidemia. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1773-1778.
266. Corr PB GR. Autonomic neural influences on the dysrhythmias resulting from myocardial infarction. *Circ Res* 1978;43:1-9.
267. Wennmalm A K-PE, Wennmalm M. Role of the coronary endothelium in the regulation of sympathetic transmitter release in isolated rabbit hearts. *Acta Physiol Scand.* 1989;136:81-87.
268. Schomig A HM, Richardt G. Catecholamine release and arrhythmias in acute myocardial ischaemia. *Eur Heart J.* 1991;12 Suppl F:38-47.
269. Nagayama T KF, Matsumoto T, Fukushima Y, Yoshida M, Suzuki-Kusaba M, Hisa H, Matsumura Y, Kimura T, Satoh S. Role of endogenous endothelins in catecholamine secretion in the rat adrenal gland. *Eur J Pharmacol.* 2000;406.
270. Crockett TR SI, Kane KA, Wainwright CL. Sarafotoxin 6c protects against ischaemia-induced cardiac arrhythmias in vivo and in vitro in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2000;36:S297-S299.
271. Li W KD, Van Winkle DM, Habecker BA. Infarction alters both the distribution and noradrenergic properties of cardiac sympathetic neurons. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286:H2229-H2236.
272. Lameris TW dZS, Alberts G, Boomsma F, Duncker DJ, Verdouw PD, Veld AJ, van den Meiracker AH. Time course and mechanism of myocardial catecholamine release during transient ischemia in vivo. *Circulation* 2000;101:2645-2650.



273. Isaka M KA, Imamura M, Kawakami H, Yasuda K. Endothelin receptors, localized in sympathetic nerve terminals of the heart, modulate norepinephrine release and reperfusion arrhythmias. *Basic Res Cardiol*. 2007;102:154-162.

274. Fraccarollo D HK, Galuppo P, Gaudron P, Ertl G. Chronic endothelin receptor blockade attenuates progressive ventricular dilation and improves cardiac function in rats with myocardial infarction: possible involvement of myocardial endothelin system in ventricular remodeling. *Circulation* 1997;96:3963-3973.

275. Gelzer AR AT, Radicke D, Nydam D, Candinas R, Lutter G. Effects of acute systemic endothelin receptor blockade on cardiac electrophysiology in vivo. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;44:564-570.

276. Zheng ZJ CJ, Giles WH, Mensah GA. Sudden cardiac death in the United States, 1989 to 1998. *Circulation* 2002;104:2158-2163.

277. Baltogiannis GG TD, Mitsi AC, Hatzistergos KE, Elaiopoulos D, Fotiadis DI, Kyriakides ZS, Kolettis TM. Endothelin receptor--a blockade decreases ventricular arrhythmias after myocardial infarction in rats. *Cardiovasc Res* 2005;67:647-654.

277.Pfeffer M.A, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990;81:1161-72.

278.Sutton S.J.MG, Sharpe Norman. Left ventricular remodeling after myocardial infarction. Pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000;101:2981-8.

279.Cleutjens J.P, Kandala J.C, Guarda E, et al. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *Journal of molecular and cellular cardiology* 1995;27:1281-92.

280.Warren S.E, Royal H.D, Markis J.E, et al. Time course of left ventricular dilation after myocardial infarction: influence of intact related artery and success of coronary thrombolysis. *Journal of American College of Cardiology* 1988;11:12-9.

281.Lew W.Y.W, Chen Z, Guth B, et al. Mechanisms of augmented segment shortening in nonischemic areas during acute ischemia of the canine left ventricle. *Circulation Research* 1985;56:351-8.

282.Anversa P, Beghi C, Kikkawa Y, et al. Myocardial response to infarction in the rat: morphometric measurement of infarct size and myocyte cellular hypertrophy. *American journal of pathology* 1985;118:484-92.



283. Yamazaki T, Komuro I, Kudoh S, et al. Angiotensin II partly mediates mechanical stress-induced cardiac hypertrophy. *Circulation Research* 1995;77:258-65.
284. Bogoyevitch M.A, Glennon P.E, Anderson M.B, et al. Endothelin-1 and fibroblast growth factors stimulate the mitogen activated protein kinase signaling cascade in cardiac myocytes: The potential role of the cascade in the integration of two signaling pathways leading to myocyte hypertrophy. *Journal of Biological Chemistry* 1994;269:1110-9.
285. Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of Angiotensin II induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts: critical role of the AT-1 receptor subtype. *Circulation research* 1993;73:413-23.
286. Lowes B.D, et al. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *New England Journal Of Medicine* 2002;346:1357-65.
287. Olson E.N. A decade of discoveries in cardiac biology. *Nature Medicine* 2004;10(5):467-74.
288. MacLellan W.R, Schneider M.D. death by design. Programmed cell death in cardiovascular biology and disease. *Circulation research* 1997;81:137-44.
289. Chien K.R. Genomic circuits and the integrative biology of cardiac diseases. *Nature* 2000;407:227-32.
290. Hirota H, et al. Loss of a gp130 cardiac muscle cell survival pathway is a critical event in the onset of heart failure during biomechanical stress. *Cell* 1999;97:189-98.
291. Gerdes A.M. Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. *Journal of cardiac failure* 2002;8(6):S264-S8.
292. Maron B.J. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA* 2002;287(10):1308-20.
293. Weber K.T, Jalil JE, Janicki J.S, Pick R. Myocardial collagen remodeling in pressure overload hypertrophy. A case for interstitial heart disease. *American Journal of Hypertension* 1989;2:931-40.
294. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 1999;79(1):215-62.
295. Sugden P.H. Signaling in myocardial hypertrophy: life after calcineurin? *Circulation Research* 1999;84(6):633-46.
296. Liao J.K. Shedding growth factors in cardiac hypertrophy. *Nature Medicine* 2002;8(1):20-1.



297.Asakura M, Kitakaze M, Takashima S, Liao Y, Ishikura F, Yoshinaka T, Ohmoto H, Node K, Yoshino K, Ishiguro H, Asanuma H, Sanada S, Matsumura Y, Takeda H, Beppu S, Tada M, Hori M, Higashiyama S. Cardiac hypertrophy is inhibited by antagonism of ADAM12 processing of HB-EGF: metalloproteinase inhibitors as a new therapy. *Nature Medicine* 2002;8(1):35-40.

298.Terracio L, Rubin K, Gullberg D, Balog E, Carver W, Jyring R, Borg T.K. Expression of collagen binding integrins during cardiac development and hypertrophy. *Circulation Research* 1991;68(3):734-44.

299.Ross R.S, Borg T.K. Integrins and the myocardium. *Circulation Research* 2001;88(11):1112-9.

300.Gerdes A.M, Capasso J.M. Structural remodeling and mechanical dysfunction of cardiac myocytes in heart failure. *Journal of molecular and cellular Cardiology* 1995;27(3):849-56.

- **301.**Gerdes A.M. Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. *Journal of cardiac failure* 2002;8(6 Suppl):S264-S8.

302.Paul W.M, Fedak T, Subodh V, Richard D. W, Ren-Ke Li. Cardiac remodeling and failure From molecules to man (Part I). *Cardiovascular Pathology* 2005;14:1-11.

303.Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling. *NATURE* 2002; 415:240-3.

