

Α

Αρ. 464 9



178

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Δ/ντής: Δ.Σιδεράς, Καθηγητής Καρδιολογίας
καί
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ
Δ/ντής: Α.Τσελέπης, Αναπληρωτής Καθηγητής.

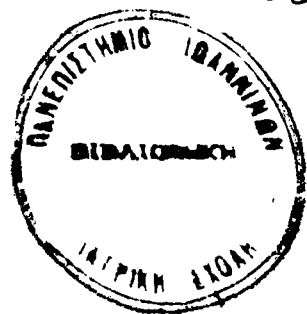
**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ
ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (ΡΑΦ) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ
ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ ΠΡΟ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΤΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΚΟΠΩΣΗΣ.**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ Φ. ΓΡΑΙΚΑΣ
ΙΑΤΡΟΣ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2000





«Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα».

N.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Ιωάννης Γουδέβενος: Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας,
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Αλέξανδρος Τσελέπης: Αναπληρωτής Καθηγητής,
Τμήμα Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Δημόκριτος Τσουκάτος: Επίκουρος Καθηγητής,
Τμήμα Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

- Δημήτριος Σιδεράς:** Καθηγητής Καρδιολογίας,
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- Ιωάννης Γουδέβενος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας,
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- Σταύρος Κωνσταντόπουλος:** Καθηγητής Παθολογίας-Πνευμονολογίας,
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- Κωνσταντίνος Σιαμόπουλος:** Καθηγητής Παθολογίας Νεφρολογίας,
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- Αλέξανδρος Τσελέπης:** Αναπληρωτής Καθηγητής Χημικού
Τμήματος, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- Δημόκριτος Τσουκάτος:** Επίκουρος Καθηγητής Χημικού Τμήματος,
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ:

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) είναι ένα φωσφολιπιδείας με πολλές και ισχυρές βιολογικές δράσεις, συντίθεται από μεγάλο αριθμό κυττάρων που συμμετέχουν σε φλεγμονώδεις διεργασίες, των αιμοπεταλίων συμπεριλαμβανομένων. Ο PAF μπορεί να προκαλέσει αύξηση της μεμβρανικής διαπερατότητας και της ικανότητας των αιμοπεταλίων για συσσώρευση.

Η παρούσα μελέτη σκοπό έχει να συμβάλει στη παραπέρα κατανόηση του ρόλου του PAF και των αιμοπεταλίων στην ισχαιμία που προκαλείται με δοκιμασία κόπωσης σε στεφανιαίους ασθενείς.

Η πραγματοποίηση της μελέτης αυτής θα ήταν αδύνατη χωρίς την αμερίστη βοήθεια που μου προσφέρθηκε από τους κ.κ. Ι.Γουδέβενο, όσον αφορά στο κλινικό σκέλος και Α.Τσελέπη, Δ.Τσουκάτο, στο βιοχημικό σκέλος τους οποίους και ευχαριστώ θερμά.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω, επίσης, στον Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Δ.Σιδερή για της χρησιμότερες υποδείξεις με βάση τις οποίες η μελέτη αυτή πήρε τη τελική της μορφή.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
B. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	9
I. ΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.....	10
α) Ο ρόλος της στεφανιαίας κυκλοφορίας στην αιμάτωση του μυοκαρδίου.	10
β) Παράγοντες που καθορίζουν την αιματική άρδευση του μυοκαρδίου κάθε στιγμή.	11
β1) Οι ανάγκες του μυοκαρδίου σε οξυγόνο.	11
β2) Η προσφορά οξυγόνου στο μυοκάρδιο.	12
β3) Η στεφανιαία αγγειακή αντίσταση.	16
γ) Το καρδιαγγειακό σύστημα κατά την άσκηση, η δοκιμασία κόπωσης.	18
γ1) Φυσιολογία της άσκησης.	18
γ2) Παθοφυσιολογία της μυοκαρδικής ισχαιμικής απάντησης.	20
II. ΤΟ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ.	25
α). Το φυσιολογικό ενδοθήλιο.	25
α1) Ανατομική και λειτουργική οργάνωση του ενδοθηλίου.	25
α2) Βασικές λειτουργίες του ενδοθηλίου.	27
β) Το δυσλειτουργικό ενδοθήλιο.	33
β1) Η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, ερεθίσματα και συνέπειες.	33
β2) Ουσίες που προκαλούν την προσήλωση λευκοκυττάρων.	34
β3) Προθρομβωτικές ιδιότητες του ενεργοποιημένου ενδοθηλίου.	35
β4) Αγγειόσπασμος και ενεργοποιημένο ενδοθήλιο.	35
γ) Η παραγωγή του αυξητικού παράγοντα (growth factor).	36
δ) Ουσίες που αναστέλλουν την διαδικασία που οδηγεί σε δυσλειτουργία το ενδοθήλιο.....	36
ε) Η αναγέννηση του ενδοθηλίου μετά από αγγειακή βλάβη ή κατά την ανάπτυξη παράπλευρης κυκλοφορίας.....	37
III. ΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ.	38
α) Οι γλυκοπρωτεΐνες των αιμοπεταλίων.	40

β) Μεταβολή του σχήματος του αιμοπεταλίου σαν αποτέλεσμα της ενεργοποίησής του.	41
γ) Τα αιμοπεταλιακά κυστίδια και ο μηχανισμός έκκρισης.	42
δ) Τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα.	44
δ1) Οι αναστολείς της κυκλο-οξυγενάσης.	45
δ2) Η διπυριδαμόλη.	45
δ3) Άλλοι αντιαιμοπεταλιακοί παράγοντες.	45
IV. Ο ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (PAF).	48
α) Η δομή του PAF.	48
β) Η σύνθεση του PAF.	51
β1) Βιοσυνθετική πορεία με ανάπλαση.	51
β2) Εξ'αρχής βιοσυνθετική πορεία.	57
γ) Η αποικοδόμηση του PAF.	58
δ) Η ετερογένεια του PAF.	60
ε) Οι βιολογικές δράσεις του PAF.	62
στ) Ο πιθανός ρόλος του PAF στην παθογένεια της αθηρωμάτωσης.	66
ζ) Ο ρόλος του PAF στην προσκόλληση των ουδετεροφίλων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο. ..	67
η) Η αιμοδυναμική δράση του PAF.	70
θ) Η ηλεκτροφυσιολογική δράση του PAF.	71
ια) Ο ρόλος του PAF στην ισχαιμία και επαναιμάτωση.	72
Γ. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.	74
I. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.	75
II. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ.	75
α) Ο προς μελέτη πληθυσμός.	75
β) Το πρωτόκολλο της Δοκιμασίας Κόπωσης.	76
γ) Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν.	77
δ) Η μέτρηση της τάσης των αιμοπεταλίων για συσσώρευση.	77
ε) Ο προσδιορισμός της ενεργότητας της PAF-ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH).	79

στ) Η απομόνωση και ο καθαρισμός του PAF.	79
ζ) Μετρήσεις της βιολογικής δραστηριότητας του PAF.	80
η) Άλλες βιοχημικές παράμετροι.	81
θ) Στατιστική ανάλυση.	81
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.	83
α) Ευρήματα από τη Δοκιμασία Κόπωσης.	83
β) Η λιπιδαιμική φυσιολογία των ασθενών.	84
γ) Η συσσωρευτική απόκριση των αιμοπεταλίων στον PAF.	84
δ) Οι μετρήσεις των επιπέδων του PAF στο ολικό αίμα.	85
ε) Η ενεργότητα της PAF-ακετυλοϋδρολάσης.	85
IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.	90
Δ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	96
E. SUMMARY.	98
ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.	100
Z. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.	121

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.

Οι νόσοι του καρδιαγγειακού συστήματος αποτελούν το συχνότερο αίτιο θανάτου στις δυτικές χώρες. Το έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι ένα από τα συχνότερα αίτια επείγουσας ιατρικής θεραπευτικής παρέμβασης ενώ η αντιμετώπιση των διαφόρων στηθαγγικών συνδρόμων καταλαμβάνει ένα μεγάλο μέρος της καρδιολογικής θεραπευτικής φροντίδας. Παρόλο που η θνησιμότητα και πιθανά η επίπτωση των νόσων του καρδιαγγειακού εμφανίζει πτωτική τάση σε αρκετές αναπτυγμένες χώρες, χιλιάδες ασθενείς θα χρειασθεί να αντιμετωπισθούν στο άμεσο μέλλον. Για το λόγο αυτό, τεράστια είναι συμβολή στη θεραπεία που προσφέρει η μελέτη του κοινού παθογενετικού μηχανισμού των ισχαιμικών συνδρόμων που δεν είναι άλλος από τον σχηματισμό θρόμβου στον αυλό του αγγείου.

Από τον προηγούμενο αιώνα ο Γερμανός παθολογοανατόμος Rudolf Virchow διατύπωσε την υπόθεση ότι τρεις παράγοντες ευθύνονται για τη θρομβογένεση: i) η βλάβη στο αγγείο, ii) η αλλαγή στη ροή του αίματος και iii) η αλλαγή της πηκτικότητας του αίματος. Η "τριάδα του Virchow" αποτέλεσε τη θεμελιώδη θεωρητική βάση πάνω στην οποία στηρίχθηκαν οι μετέπειτα παρατηρήσεις που αφορούσαν στη φλεβική και αρτηριακή θρόμβωση.

Ειδικότερα στις νόσους του καρδιαγγειακού συστήματος η ενδαγγειακή θρόμβωση αποτελεί βασικό στοιχείο του παθογενετικού μηχανισμού. Παθολογοανατομικά, αγγειογραφικά, αγγειοσκοπικά καθώς και ευρήματα από το ενδαγγειακό υπερηχογράφημα, επιβεβαιώνουν πανηγυρικά την ύπαρξη ενδαγγειακών θρόμβων τόσο στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου όσο και στα υπόλοιπα ισχαιμικά σύνδρομα. Έτσι μόλις πρόσφατα έγινε

αντιληπτό ότι θρόμβοι πλούσιοι σε αιμοπετάλια που αρχικά συσσωρεύονται σε περιοχές όπου το ενδοθήλιο έχει υποστεί ρήξη ή έχει εμφανίσει ρωγμή, ευθύνονται για την εκδήλωση των διαφόρων ισχαιμικών συνδρόμων.

Οι αρτηριακοί θρόμβοι αποτελούνται κυρίως από αιμοπετάλια και σχηματίζονται σε περιοχές βλάβης του αρτηριακού αγγειακού ενδοθηλίου όπου κυριαρχούν συνθήκες υψηλής ροής αίματος. Όταν η ενδοθηλιακή βλάβη βρίσκεται σε αρχικά στάδια, όταν δηλαδή έχουν επέλθει μόνο λειτουργικές και όχι μορφολογικές αλλοιώσεις, δεν προκαλείται σημαντική εναπόθεση αιμοπεταλίων και σχηματισμός θρόμβου. Τα πολύ λίγα αιμοπετάλια που έχουν συγκεντρωθεί στη δυσλειτουργούσα αγγειακή περιοχή είναι πιθανό να αλληλεπιδρούν με το ελαφρά αλλοιωμένο ενδοθήλιο και να συμμετέχουν με απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων στη διαδικασία υπερπλασίας του έσω χιτώνα του αγγείου.

Αντίθετα σε προχωρημένα στάδια αγγειακής βλάβης όταν ο έσω χιτώνας έχει απογυμνωθεί από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ή επιπλέον παρουσιάζει και μικρές ρωγμές, τότε η περιοχή της βλάβης καλύπτεται από ένα ή περισσότερα στρώματα αιμοπεταλίων και/ή από τοιχωματικό θρόμβο. Στη περίπτωση αυτή η απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων από τα αιμοπετάλια συμβάλλει ουσιαστικά στην επιτάχυνση της διαδικασίας που οδηγεί στην υπερπλασία του έσω χιτώνα.

Σε ακόμα πιο προχωρημένα στάδια, σε περίπτωση δηλαδή σοβαρής αγγειακής βλάβης όπου βαθύτερα αγγειακά στρώματα εκτίθενται στον αυλό του αγγείου, παρατηρείται μεγάλη αιμοπεταλιακή συσσώρευση με συνεπακόλουθο σχηματισμό θρόμβου. Μια τέτοιας έκτασης αγγειακή βλάβη πυροδοτεί το σχηματισμό θρομβίνης μέσω δύο οδών: i) της ενδογενούς

(ενεργοποιούμενης από την αιμοπεταλιακή επιφάνεια) και ii) της εξωγενούς (της εξαρτώμενης από ιστικούς παράγοντες). Στη δεύτερη αυτή ο ρόλος του αιμοπεταλίου είναι να διευκολύνει τις αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα μεταξύ των παραγόντων πήξης.

Η παραδοχή ότι η αγγειακή βλάβη επιφέρει την αιμοπεταλιακή πηκτική απάντηση, είναι θεμελιώδους σημασίας στο να γίνει κατανοητός ο κοινός παθογενετικός μηχανισμός μιας ποικιλίας αγγειακών νόσων που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση και την στεφανιαία νόσο. Η παραδοχή αυτή άνοιξε ένα νέο κεφάλαιο στη θεραπευτική αντιμετώπιση των νόσων του καρδιαγγειακού συστήματος με την είσοδο φαρμάκων αντιπηκτικών, αντiaiμοπεταλιακών, ινωδολυτικών.

Στις παρατηρήσεις αυτές και στα φάρμακα που προέκυψαν από αυτές, οφείλεται η εκπληκτική πρόοδος στην αντιμετώπιση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου που επιτεύχθηκε την τελευταία δεκαετία. Ο κίνδυνος για πρώιμο θάνατο στους εμφραγματίες, έχει μειωθεί κατά το ήμισυ αφού παρακολουθούνται πλέον σε ειδικές στεφανιοκομιακές μονάδες όπου είναι δυνατή η χορήγηση θρομβόλυσης και ασπιρίνης. Ο κίνδυνος για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα σε αυτούς τους ασθενείς μπορεί τώρα να ελαττωθεί σημαντικά με την αντιμετώπιση των παραγόντων κινδύνου (π.χ.υπερλιπιδαιμία, κάπνισμα, παχυσαρκία, υπέρταση κλπ.) σε συνδυασμό με συστηματική χορήγηση αντiaiμοπεταλιακών φαρμάκων.

Η παρούσα μελέτη φιλοδοξεί να συμβάλει στην κατανόηση του ρόλου του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor-PAF) και των αιμοπεταλίων στην ισχαιμία που προκαλείται με δοκιμασία κόπωσης σε στεφανιαίους ασθενείς.

Ο PAF είναι ένας αιμοπεταλιακός ενεργοποιητής που ενέχεται στη διαδικασία συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Η κυτταρική δομή του PAF (1-Ο-αλκυλ-2-ακετυλ-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη) περιγράφηκε το 1979. Πρόκειται για ένα φωσφολιπίδιο που εκτός από τα αιμοπετάλια, ασκεί ισχυρή βιολογική δράση πάνω σε ποικιλία ιστών. Λειτουργεί σαν ένας διακυτταρικός μεσολαβητής ή αγγελιαφόρος. Η δράση του ασκείται μέσω υποδοχέων που βρίσκονται πάνω στη μεμβράνη των κυττάρων στόχων. Τέτοιους υποδοχείς διαθέτουν αρκετά είδη κυττάρων όπως αιμοπετάλια, ουδετερόφιλα, λεμφοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, μονοκύτταρα/μακροφάγα, λευκοκύτταρα και λεία μυϊκά κύτταρα.

Στο γενικό μέρος γίνεται συνοπτική περιγραφή της φυσιολογίας του καρδιαγγειακού συστήματος σε ηρεμία και σε κόπωση, ακολούθως αναλύεται η λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου, των αιμοπεταλίων και τέλος αναπτύσσονται η δομή, τα μονοπάτια βιοσύνθεσης και η βιολογική δράση του PAF.

Στο ειδικό μέρος παρατίθενται το υλικό, οι μέθοδοι, τα αποτελέσματα και ο σχολιασμός αυτών.

B. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.

I. ΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.

α) Ο ρόλος της στεφανιαίας κυκλοφορίας στην αιμάτωση του μυοκαρδίου:

Η καρδιά σαν αερόβιο όργανο, βασίζεται αποκλειστικά στην οξείδωση υποστρωμάτων για την παραγωγή της απαιτούμενης ενέργειας προκειμένου να ανταποκριθεί στην αντλητική της αποστολή.

Η προσφορά οξυγόνου στην καρδιά πραγματοποιείται με τη στεφανιαία κυκλοφορία. Οι στεφανιαίες αρτηρίες φέρουν οξυγονωμένο αίμα στα στεφανιαία τριχοειδή αγγεία από όπου το οξυγόνο προσλαμβάνεται από τα μυοκαρδιακά κύτταρα με διάχυση. Ο μυοκαρδιακός ιστός διαθέτει αυξημένη ικανότητα για απόσπαση του προσαγόμενου οξυγόνου σε σχέση με τους άλλους ιστούς. Για το λόγο αυτό περί το 70 με 80 % του οξυγόνου που περιέχεται στη στεφανιαία αιματική κυκλοφορία αποδίδεται τελικά στο μυοκάρδιο. Το ποσοστό αυτό είναι από τα υψηλότερα συναντώμενα στον ανθρώπινο οργανισμό. Ο ρυθμός απόσπασης οξυγόνου είναι ίδιος τόσο σε ηρεμία όσο και σε καταστάσεις όπου οι ενεργειακές απαιτήσεις του μυοκαρδίου είναι αυξημένες. Έτσι οι αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις εξυπηρετούνται αποκλειστικά με αύξηση της προσφοράς οξυγονωμένου αίματος.

β) Παράγοντες που καθορίζουν την αιματική άρδευση του μυοκαρδίου κάθε στιγμή:

Είναι τρεις: β1) οι ανάγκες του σε οξυγόνο, β2) η επαρκής ροή αίματος στην στεφανιαία κυκλοφορία και β3) η αντίσταση που προβάλλει το στεφανιαίο αγγειακό δίκτυο στη ροή του αίματος.

β1) Οι ανάγκες του μυοκαρδίου σε οξυγόνο εξαρτώνται κυρίως από:

i) Τη Καρδιακή Συχνότητα : Είναι η πιο εύκολα μετρούμενη παράμετρος και πιθανά βρίσκεται σε άμεση σχέση με το ρυθμό μυοκαρδικής κατανάλωσης οξυγόνου.

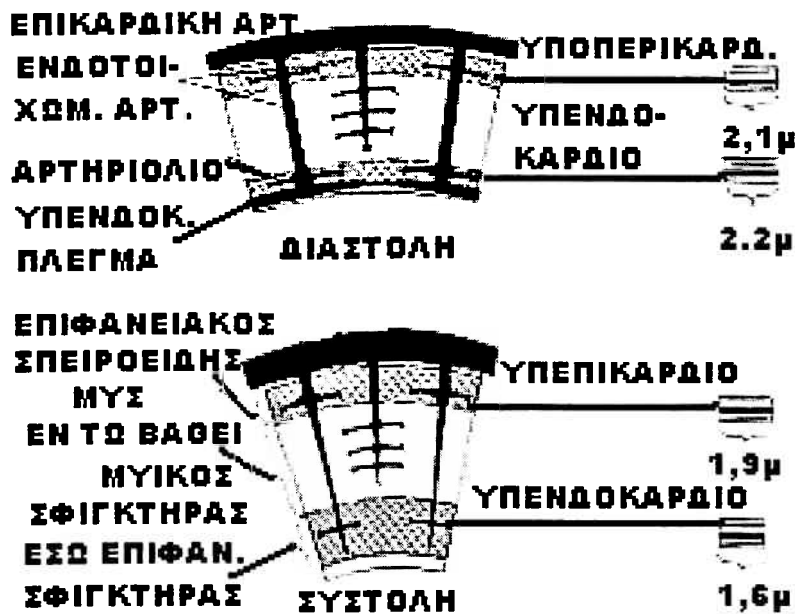
ii) Τη Συστολική Τοιχωματική Τάση : Αυτή εξαρτάται από τη κοιλιακή συστολική πίεση και την ακτίνα της αριστερής κοιλίας. Σύμφωνα με τη σχέση Laplace, είναι ανάλογη της ακτίνας της κοιλιακής κοιλότητας και αντιστρόφως ανάλογη του πάχους του κοιλιακού τοιχώματος.

iii) Τη Μυοκαρδική Συσπαστικότητα : Δείκτη της μυοκαρδικής συσπαστικότητας αποτελεί ο ρυθμός ανόδου της πίεσης κατά τη διάρκεια της ισοογκωτικής συστολής, dP/dt .³

iv) Άλλους δευτερεύοντες παράγοντες όπως η βράχυνση απέναντι σε φορτίο (φαινόμενο Fenn), η διατήρηση της κυτταρικής βιωσιμότητας σε βασικό επίπεδο, η εκπόλωση, η ενεργοποίηση, η απευθείας μεταβολική δράση των κατεχολαμινών, η πρόσληψη λιπαρών οξέων κλπ.⁴

β2) Η προσφορά οξυγόνου στο μυοκάρδιο: εξασφαλίζεται από τη κυκλοφορία του αίματος στο στεφανιαίο αγγειακό δίκτυο. Η στεφανιαία αιματική κυκλοφορία ρυθμίζεται κυρίως από :

i) Ανατομικούς Παράγοντες : Κατά την διάρκεια της διαστολής, ενόσω η αορτική βαλβίδα παραμένει κλειστή, η αορτική διαστολική πίεση εφαρμόζεται ανεμπόδιστα μέσω των διατεταμένων κόλπων του Valsalva στα στεφανιαία στόμια. Έτσι το αορτικό τόξο μαζί με τους κόλπους του Valsalva δρουν σαν μια μικρή δεξαμενή, με αποτέλεσμα τη διατήρηση μιας σχεδόν ομοιόμορφης ροής αίματος στο στεφανιαίο δίκτυο καθ'όλη τη διάρκεια της διαστολής. Τόσο η αριστερή όσο και η δεξιά στεφανιαία αρτηρία διασχίζουν την επικαρδική επιφάνεια της καρδιάς. Τα μεγάλα αυτά αγγεία καθώς και οι μείζονες κλάδοι τους, χρησιμεύουν σαν αγωγοί και φυσιολογικά προβάλλουν μικρή αντίσταση στη ροή του αίματος. Τα επικαρδικά αγωγά αγγεία μπορούν να συσπώνται σε απάντηση άλφα αδρενεργικής διέγερσης και να διαστέλλονται υπό την επίδραση νιτρογλυκερίνης. Από τα αγγεία αυτά ξεκινούν άλλα μικρότερα διατιτραίνοντα το μυοκαρδικό τοίχωμα (ενδοτοιχωματικά αγγεία). Από τα ενδοτοιχωματικά αγγεία εκφύονται άλλα, πολλαπλάσια τον αριθμό και μικρότερης διατομής ονομαζόμενα αρτηριόλια. Μια μεγάλη πτώση πίεσης παρατηρείται μέσα στα ενδοτοιχωματικά αγγεία και στα ακόμα μικρότερα αρτηριόλια, για τον λόγο αυτό ονομάζονται "αγγεία αντίστασης". **(ΕΙΚ.Ια, σελ.13)** Τα αρτηριόλια καταλήγουν σε πυκνό τριχοειδικό δίκτυο (4000 τριχοειδή ανα τετραγωνικό χιλιοστόμετρο μυοκαρδικής διατομής). Το δίκτυο αυτό δεν είναι ομοιογενώς βατό λόγω της ύπαρξης προτριχοειδικών σφιγκτήρων που ρυθμίζουν τη ροή ανάλογα με τις ανάγκες του μυοκαρδίου. Η πυκνότητά του ελαττώνεται σε περίπτωση κοιλιακής υπερτροφίας.⁵



ΕΙΚΟΝΑ Ια: Επιμήκης διατομή του αριστερού κοιλιακού τοιχώματος σε διαστολή και συστολή.

Η περιοχή του υπενδοκαρδίου βρίσκεται περισσότερο εκτεθειμένη στον κίνδυνο ισχαιμίας εξαιτίας της μεγαλύτερης εξάρτησης της στη διαστολική αιμάτωση και στο μεγαλύτερο βαθμό συμπίεσης των αγγείων της κατά τη συστολή.

ii) Τα παράπλευρα αγγεία : Είναι αναστομωτικές επικοινωνίες μεταξύ τμημάτων της ίδιας ή διαφορετικών στεφανιαίων αρτηριών χωρίς τη μεσολάβηση τριχοειδικού δικτύου. Στην ανθρώπινη καρδιά τόσο η συμμετοχή, όσο και η έκταση της παράπλευρης κυκλοφορίας στην αιματική ροή, ποικίλλουν αρκετά. Σε φυσιολογικές συνθήκες τα παράπλευρα αγγεία έχουν γενικά διάμετρο μικρότερη των 40μ και φαίνεται ότι ο λειτουργικός τους ρόλος είναι μικρός ή ακόμα και μηδενικός. Όταν όμως η μυοκαρδική αιμάτωση ελαττώνεται εξαιτίας στενώσεων που αναπτύσσονται στα μεγάλα αγγεία τότε τα παράπλευρα αγγεία μεγενθύνονται και η ροή μέσα από αυτά αυξάνεται.⁶ Η άσκηση, η σοβαρή αναιμία και η ισχαιμία που οφείλεται σε βαθμιαία (και όχι απότομη) στένωση-απόφραξη των στεφανιαίων αγγείων, ευνοούν την ανάπτυξη της παράπλευρης κυκλοφορίας. Η αιμάτωση που

παρέχεται από τη παράπλευρη κυκλοφορία θεωρείται ίση με αυτή ενός στεφανιαίου αγγείου που φέρει στένωση του αυλού του της τάξης του 90%.⁷ Αν και δεν υπάρχει ομοφωνία όσον αφορά την ανάπτυξη της παράπλευρης κυκλοφορίας, δύο πράγματα είναι σαφή: α) γίνεται αγγειογραφικά ορατή όταν η στεφανιαία απόφραξη είναι πλήρης ή σχεδόν πλήρης και β) η παρουσία παράπλευρης κυκλοφορίας μπορεί μερικές φορές να προλάβει την εμφάνιση εμφράγματος σε περίπτωση ολικής απόφραξης του αγγείου.

iii) Τη πίεση αιμάτωσης : Η ροή του αίματος στο στεφανιαίο αγγειακό δίκτυο εξαρτάται από την οδηγό πίεση και την αντίσταση που προβάλλεται σε αυτή από το δίκτυο. Ειδικά στο στεφανιαίο δίκτυο η αντίσταση επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη συμπίεση που αυτό υφίσταται κατά την φάση της συστολής. Σαν πίεση αιμάτωσης (ή αποτελεσματική οδηγός πίεση) ορίζεται η διαφορά πίεσης μεταξύ των στεφανιαίων αρτηριών και είτε του δεξιού κόλπου είτε της αριστερής κοιλίας κατά τη διαστολή (στο βαθμό που η στεφανιαία φλεβική επιστροφή εκβάλλει πρωτίστως στις δύο αυτές κοιλότητες). Η αποτελεσματική οδηγός πίεση αιμάτωσης δεν παραμένει σταθερή κατά τη διάρκεια του καρδιακού κύκλου. Όταν η αορτική βαλβίδα είναι ανοιχτή το εξωθούμενο αίμα ρέει με ταχύτητα παρακάμπτοντας τα στεφανιαία στόμια με αποτέλεσμα πτώση της πίεσης αιμάτωσης λόγω του φαινομένου Venturi. Επιπρόσθετα, φασικές μεταβολές στη πίεση του δεξιού κόλπου και της αριστερής κοιλίας που εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της διαστολής τροποποιούν έστω και ελαφρά την αποτελεσματική οδηγό πίεση αιμάτωσης.

iv) Παράγοντες που δεν σχετίζονται με το αγγειακό δίκτυο: Πρόκειται αφενός για συμπιεστικές δυνάμεις (ενδομυοκαρδικές, ασκούμενες επί των ενδομυοκαρδικών αγγείων) και αφετέρου για μεταβολικούς, νευρικούς και

ορμονικούς παράγοντες η δράση των οποίων προκαλεί μεταβολές στη διατομή των αγγείων αντίστασης. Η ενδομυοκαρδική τοιχωματική τάση μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια του καρδιακού κύκλου εξαρτώμενη τόσο από τις συνθήκες φόρτισης όσο και από τη συσπαστικότητα.⁸ Κατά τη διάρκεια της συστολής η τοιχωματική τάση φθάνει στις ψηλότερες τιμές της με αποτέλεσμα τα ενδομυοκαρδικά αγγεία να συμπιέζονται. Για το λόγο αυτό, η αιμάτωση του αριστερού κοιλιακού μυοκαρδίου πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της διαστολής. Μερικές φορές κατά την συστολή μπορεί να παρατηρηθεί ακόμα και αναστροφή της ροής. Είναι εύκολα κατανοητό ότι η ταχυκαρδία μπορεί να προκαλέσει ισχαιμία στο βαθμό που η αύξηση της καρδιακής συχνότητας ελαττώνει τον συνολικό διαστολικό χρόνο ενώ παράλληλα αυξάνει τις μυοκαρδικές απαιτήσεις σε οξυγόνο. Οι συμπιεστικές δυνάμεις που ασκούνται στο μυοκάρδιο της δεξιάς κοιλίας είναι πολύ μικρότερες γι αυτό η αιμάτωσή του δεν διακόπτεται κατά τη διάρκεια της συστολής. Οι δυνάμεις αυτές ασκούνται κυρίως στις υπενδοκαρδιακές ζώνες της αριστερής κοιλίας. Κατά τη διάρκεια του καρδιακού κύκλου και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, επικρατούν μεγάλες διαφορές όσον αφορά την άσκηση δυνάμεων, και επομένως την αιματική ροή, μεταξύ των επικαρδικών και υπενδοκαρδικών ζωνών. Σε σκυλιά βρέθηκε ότι η αιματική ροή στην υπενδοκάρδια ζώνη είναι 1.25 φορές μεγαλύτερη αυτής της επικαρδικής ζώνης. Αυτό επιτυγχάνεται με διάταση των υπενδοκάρδιων αγγείων. Παρεμβάσεις που ελαττώνουν την διαφορά πίεσης αιμάτωσης κατά τη διαστολή (π.χ. πειραματική απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου, αύξηση της αριστερής κοιλιακής διαστολικής πίεσης και πρόκληση ταχυκαρδίας) ελαττώνουν την υπενδοκαρδική αιμάτωση προκαλώντας ακόμα και ισχαιμία της ζώνης αυτής. Στην υπενδοκάρδια ζώνη

η τοιχωματική τάση, η αγγειακή αντίσταση και οι μεταβολικές απαιτήσεις είναι μεγαλύτερες αυτών της υπεπικάρδιας στιβάδας. Για το λόγο αυτό το αγγειακό δίκτυο της υπενδοκάρδιας ζώνης βρίσκεται σε μεγαλύτερη αγγειοδιαστολή σε σχέση με αυτό της υπεπικαρδικής ζώνης. Έτσι, τα περιθώρια της υπενδοκάρδιας ζώνης για περαιτέρω αγγειοδιαστολή είναι περιορισμένα ενώ η υπεπικάρδια περιοχή διατηρεί ακέραιη την αγγειοδιασταλτική της εφεδρεία. Καθώς η αιμάτωση ελλοιπώνεται ακόμα περισσότερο, οι βαθύτερες περιοχές του μυοκαρδίου καθίστανται ισχαιμες με συνέπεια την ελάττωση της ενδοκυττάριας τάσης του οξυγόνου, της συσπαστικότητας καθώς επίσης και την αυξημένη παραγωγή γαλακτικού οξέος. Συνεπώς, η επιρρόπεια του υπενδοκαρδίου για ισχαιμία οφείλεται στο συνδυασμό ελαττωμένης αγγειοδιασταλτικής εφεδρείας του αγγειακού του δικτύου και μεγαλύτερης τοιχωματικής τάσης που εφαρμόζεται στη στιβάδα αυτή.

β3) Η στεφανιαία αγγειακή αντίσταση : Η αντίσταση που προβάλλουν τα στεφανιαία αγγεία στην ροή του αίματος επηρεάζεται κυρίως από:

i) Νευρογενείς παράγοντες: Οι στεφανιαίες αρτηρίες διαθέτουν πλούσια παρασυμπαθητική και συμπαθητική νεύρωση. Η ενεργοποίηση των α_1 και α_2 αδρενεργικών υποδοχέων των στεφανιαίων αγγείων, από την αδρεναλίνη που απελευθερώνεται στους νευρώνες ή κυκλοφορεί ελεύθερη, προκαλεί στεφανιαία αγγειοσύσπαση.⁹ Αντίθετα οι β_1 και β_2 υποδοχείς ενεργοποιούμενοι προκαλούν στεφανιαία αγγειοδιαστολή. Η διέγερση του παρασυμπαθητικού επιφέρει αγγειοδιαστολή αν και η έκταση της επίδρασής του στο στεφανιαίο αγγειακό δίκτυο δεν είναι ακόμα σαφής.

ii) Μυογενείς παράγοντες : Αύξηση της πίεσης αιμάτωσης προκαλεί διάταση των λείων μυικών ινών του τοιχώματος των στεφανιαίων αγγείων με αποτέλεσμα σύσπαση αυτών, αύξηση της αντίστασης του αγγειακού δικτύου και επιστροφή της αιματικής ροής μέσα σε φυσιολογικά όρια παρα την αυξημένη πίεση αιμάτωσης.¹⁰

iii) Μεταβολικούς παράγοντες: Περιοχικές αλλαγές στο μεταβολισμό του μυοκαρδίου μπορούν να παίξουν σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της στεφανιαίας αιματικής ροής στη συγκεκριμένη περιοχή. Παράγοντες όπως το οξυγόνο, το διοξείδιο του άνθρακα, μεταβολίτες με αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες (π.χ. η αδενosίνη που συγκεντρώνεται σε υποαιματούμενες περιοχές του μυοκαρδίου) έχει βρεθεί ότι συμμετέχουν επίσης στο μηχανισμό ρύθμισης της στεφανιαίας αιματικής ροής. Υπάρχει μια στενή σχέση ανάμεσα στη μυοκαρδική κατανάλωση οξυγόνου (MVO₂) και τη στεφανιαία αιματική ροή.¹¹ Υποστηρίζεται ότι καθώς η καρδιά αυξάνει την ενεργειακή της κατανάλωση αυξάνονται και οι ποσότητες των παραγόμενων αγγειοδιασταλτικών μεταβολιτών που με τη σειρά τους προκαλούν ελάττωση της στεφανιαίας αγγειακής αντίστασης και αύξηση της αιματικής ροής έτσι ώστε να διασφαλίζεται η σταθερή προσφορά οξυγόνου στο μυοκαρδικό ιστό.

iv) Το ενδοθηλίο: Τα τελευταία χρόνια έχει αναγνωρισθεί ο ρόλος του αγγειακού ενδοθηλίου σαν ενός μεγάλου παρακρινικού αδένου με ικανότητα παραγωγής ισχυρών αγγειοδραστικών, αντιπηκτικών και ινωδολυτικών ουσιών. Ο ρόλος του ενδοθηλίου θα αναλυθεί λεπτομερώς σε ειδικό κεφάλαιο.

Στο ΠΙΝΑΚΑ Ια συνοψίζονται οι παράγοντες που επηρεάζουν τις απαιτήσεις του μυοκαρδίου και την προσφορά οξυγόνου σε αυτό:

ΠΙΝΑΚΑΣ Ια.

ΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΙΜΑΤΩΣΗ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

A. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΡΥΘΜΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΟΞΥΓΟΝΟΥ:

- 1) Καρδιακή συχνότητα.
- 2) Συστολική τοιχωματική τάση.
- 3) Μυοκαρδική συσπαστικότητα (dP/dt).
- 4) Δευτερεύοντες παράγοντες (δράση κατεχολαμινων, πρόσληψη λιπαρών οξέων)

B. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΡΥΘΜΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΠΡΟΣΦΟΡΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ.

- 1) Ανατομικοί.
- 2) Η παράπλευρη κυκλοφορία.
- 3) Η πίεση αιμάτωσης.
- 4) Ενδοθηλιακοί.

Γ. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΡΥΘΙΖΟΥΝ ΤΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ.

- 1) Νευρογενείς.
- 2) Μυογενείς.
- 3) Μεταβολικοί.
- 4) Ενδοθηλιακοί.

γ) Το καρδιαγγειακό σύστημα κατά την άσκηση, η δοκιμασία κόπωσης:

γ1) Φυσιολογία της άσκησης: Κατά τη διάρκεια της άσκησης οι αυξημένες απαιτήσεις του οργανισμού (και ειδικότερα του μυοσκελετικού συστήματος) σε οξυγόνο εξυπηρετούνται με αύξηση της καρδιακής συχνότητας, του κυψελιδικού αερισμού και της φλεβικής αιματικής επιστροφής σαν αποτέλεσμα συμπαθητικοτονικής αγγειοσύσπασης. Παράλληλα μεγιστοποιείται βαθμιαία ο τόνος του συμπαθητικού νευρικού συστήματος ενώ ταυτόχρονα αποσύρεται αυτός του παρασυμπαθητικού με αποτέλεσμα πρόκληση αγγειοσύσπασης στις περισσότερες τοπικές κυκλοφορίες εκτός αυτών του μυϊκού ιστού, του εγκεφάλου και της καρδιάς. Η

νορεπινεφρίνη που απελευθερώνεται στη κυκλοφορία απο τα συμπαθητικά μεταγαγγλιονικά νεύρα προάγει τη μυοκαρδική συσπαστικότητα.

Με τη πρόοδο της άσκησης η αιματική ροή προς τους σκελετικούς μύες αυξάνεται, η απόσπαση οξυγόνου τριπλασιάζεται, οι ολικές περιφερικές αντιστάσεις ελαττώνονται, η συστολική αρτηριακή πίεση, η μέση αρτηριακή πίεση και η πίεση σφυγμού αυξάνονται. Η διαστολική αρτηριακή πίεση παραμένει αμετάβλητη ή αυξάνεται κατα δέκα περίπου χιλιοστά στήλης υδραργύρου. Το πνευμονικό αγγειακό δίκτυο μπορεί φυσιολογικά να δεχθεί μέχρι και εξαπλάσια καρδιακή παροχή χωρίς να αυξάνονται ουσιαστικά οι πνευμονικές αντιστάσεις, η πίεση ενσφήνωσης και η πίεση του δεξιού κόλπου. Κατά τη διάρκεια εργώδους άσκησης η καρδιακή παροχή αυξάνεται κατα τέσσερις έως έξη φορές.¹² Η μέγιστη καρδιακή συχνότητα που μπορεί να επιτευχθεί ελαττώνεται με τη πάροδο της ηλικίας και όταν εκτελείται δοκιμασία κόπωσης, υπολογίζεται με βάση τον τύπο 220 μείον τα έτη της ηλικίας.¹³

Μετά το τέλος της άσκησης οι αιμοδυναμικές μεταβολές επανέρχονται στη βασική γραμμή. Οι αλλαγές που επέρχονται κατά την άσκηση έχουν σαν αποτέλεσμα την αύξηση των αναγκών του μυοκαρδίου σε οξυγόνο. Ετσι ένα στεφανιαίο δίκτυο με στενώσεις στα μεγάλα αγωγά αγγεία μπορεί να αρδεύει επαρκώς το μυοκάρδιο σε κατάσταση ηρεμίας και να ανεπαρκεί όταν οι απαιτήσεις σε οξυγόνο, και επομένως σε αιματική παροχή, αυξηθούν. Η ανεπαρκής προσφορά οξυγόνου σε ένα μυοκάρδιο που λειτουργεί με αυξημένες ανάγκες επιφέρει την μυοκαρδική ισχαιμική απάντηση.

Στηριγμένη σε αυτή την αρχή η δοκιμασία κόπωσης μπορεί να εκτιμήσει την πιθανότητα ύπαρξης στεφανιαίας νόσου σε άτομα

ασυμπτωματικά σε ηρεμία. Επιπλέον με τη δοκιμασία αυτή μπορεί να εκτιμηθεί η πρόγνωση, η λειτουργική ικανότητα και η αποτελεσματικότητα της θεραπείας σε διαγνωσμένους ήδη στεφανιαίους ασθενείς.

γ2) Παθοφυσιολογία της μυοκαρδικής ισχαιμικής απάντησης: Όπως ήδη επισημάνθηκε, η καρδιά σαν αερόβιο όργανο με περιορισμένη ικανότητα για παραγωγή ενέργειας μέσω του αναερόβιου μεταβολισμού, είναι αναγκασμένη να αποσπά τη μέγιστη δυνατή ποσότητα οξυγόνου από τη στεφανιαία κυκλοφορία ήδη από την ηρεμία. Επομένως η αύξηση της προσφοράς οξυγόνου προς το μυοκάρδιο επιτυγχάνεται μόνο με αύξηση της αιμάτωσης. Στα φυσιολογικά άτομα υπάρχει γραμμική συσχέτιση ανάμεσα στη μυοκαρδική κατανάλωση οξυγόνου και στη στεφανιαία αιματική ροή. Η αύξηση της αιματικής ροής επιτυγχάνεται με ελαττώση των αντιστάσεων των στεφανιαίων αρτηριών.

Σε ασθενείς με αθηρωματική στένωση ενός επικαρδικού αγγείου η αιματική παροχή μπορεί να αυξηθεί ως ένα ορισμένο επίπεδο, εάν όμως οι ανάγκες του μυοκαρδίου σε παροχή είναι μεγαλύτερες, τότε η προσφορά οξυγόνου δεν είναι επαρκής και εμφανίζεται ισχαιμία. Η ισχαιμία προκαλεί διαταραχές της συστολικής και διαστολικής κοιλιακής λειτουργίας, ηλεκτροκαρδιογραφικές αλλοιώσεις και στηθάγχη. Το υπενδοκάρδιο είναι πιο επιρρεπές σε ισχαιμία επειδή η αυξημένη τοιχωματική τάση που ασκείται στη στιβάδα αυτή αυξάνει ακόμα περισσότερο τις απαιτήσεις για οξυγόνο.

Η συνολική κατανάλωση οξυγόνου από ένα ασκούμενο μετράται σε μεταβολικά ισοδύναμα, METs (Metabolic Equivalent, MET = Μεταβολικό ισοδύναμο). Ένα MET εκφράζει τη κατανάλωση οξυγόνου που

πραγματοποιείται απο ένα ανδρα ηλικίας 40 ετών, βάρους 70 κιλών σε ύπτια θέση και σε κατάσταση ηρεμίας. Είναι ίσο με κατανάλωση 3.5ml οξυγόνου ανά kg βάρους, ανά λεπτό. Η κατανάλωση οξυγόνου που απαιτείται για πραγματοποίηση διαφόρων δραστηριοτήτων, ή πρωτοκόλλων κόπωσης (π.χ. Bruce), εκτιμάται σε πολλαπλάσια του MET.

Το πρωτόκολλο Bruce είναι ένα πρωτόκολλο δυναμικής, ιστονικής άσκησης που χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση της καρδιαγγειακής εφεδρείας. Με τη χρήση κυλιόμενου τάπητα, η ταχύτητα κύλισης και η κλίση του οποίου αυξάνονται ανά τρία λεπτά με προκαθορισμένο τρόπο, επιτυγχάνεται αύξηση της μυοκαρδικής κατανάλωσης οξυγόνου ως το επιθυμητό επίπεδο. Την άσκηση ακολουθεί περίοδος ανάνηψης κατά τη διάρκεια της οποίας το καρδιαγγειακό σύστημα επιστρέφει βαθμιαία στην αρχική κατάσταση ηρεμίας.¹⁴ Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας ο ασθενής είναι συνεχώς συνδεδεμένος με ηλεκτροκαρδιογράφο έτσι ώστε να εκτιμηθεί και να καταγραφεί η ηλεκτροκαρδιογραφική εκδήλωση μιας πιθανά ισχαιμικής απάντησης.

Η τελευταία αυτή εκφράζεται ηλεκτροκαρδιογραφικά με μετατόπιση του διαστήματος ST. Στους ασθενείς με μυοκαρδική ισχαιμία το διάστημα ST στην αρχή επιπεδώνεται και καθώς η άσκηση επιτείνεται, εμφανίζεται κατάσπαση. Αρχικά η κατάσπαση αφορά περιορισμένο αριθμό απαγωγών ενώ στην συνέχεια εξαπλώνεται σε περισσότερες απαγωγές. Ταυτόχρονα υπάρχει η πιθανότητα να εμφανισθεί στηθαγχική συνδρομή απο μέρους του ασθενούς.

Οι αλλοιώσεις του διαστήματος ST μπορούν να επιμένουν κατά τα πρώτα λεπτά της ανάνηψης (ιδίως όταν οι κατασπάσεις του ST έχουν κατιούσα φορά) αλλά στη συνέχεια αμβλύνονται και εξαφανίζονται μέσα σε

πέντε με δέκα λεπτά. Σε δέκα τοις εκατό των ασθενών η ισχαιμική απάντηση μπορεί να εμφανισθεί μόνο κατά τη φάση της ανάνηψης. Έτσι πτώση του σημείου J μεγαλύτερη ή ίση του 0.1 mV (1mm) από την ισοηλεκτρική γραμμή συνοδευόμενη από 1) επιπέδωση του διαστήματος ST (κλίση < 1 mV/sec) και 2) κατάσπαση μεγαλύτερη ίση του 0.1 mV για 60 έως 80 msec μετά το σημείο J για τρία συνεχόμενα επάρματα θεωρούνται σαν ηλεκτροκαρδιογραφική εκδήλωση της ισχαιμικής απάντησης. (ΕΙΚ. Ιβ-σελ. 24)

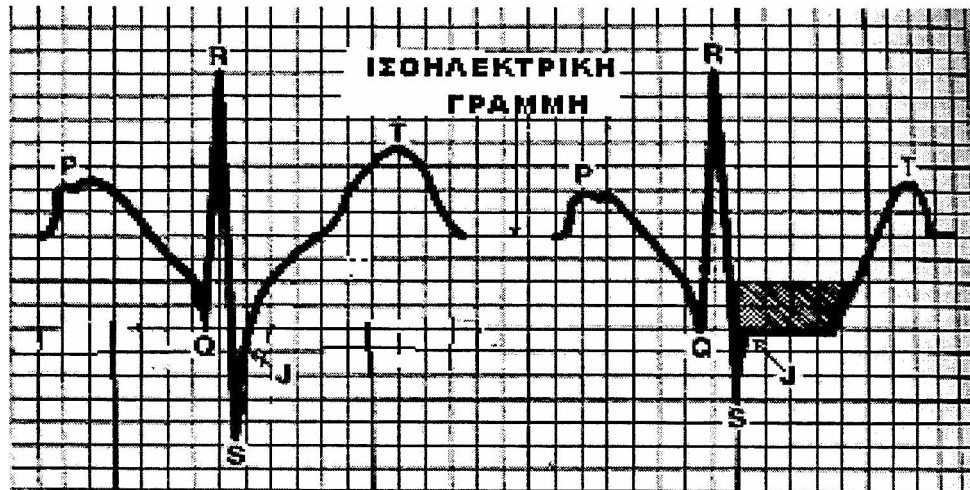
Πιο σπάνια η ισχαιμική απάντηση μπορεί να εκδηλωθεί με ανάσπαση του διαστήματος ST. Η κατά τη κόπωση προκαλούμενη κατάσπαση του διαστήματος ST δεν συσχετίζεται καλά ούτε με το τοίχωμα εκείνο του μυοκαρδίου που ισχαιμεί αλλά ούτε και με το αγγείο που πιάσχει.¹⁵

Ο μηχανισμός μετατόπισης του διαστήματος ST δεν είναι απολύτως σαφής. Σε φυσιολογικά άτομα η διάρκεια του δυναμικού ηρεμίας της ενδοκαρδικής στιβάδας είναι μεγαλύτερη αυτής της επικαρδικής στιβάδας και η κοιλιακή εκπόλωση βαίνει από το επικάρδιο στο ενδοκάρδιο. Σε ύπαρξη ισχαιμίας η διάρκεια του δυναμικού ηρεμίας βραχύνεται και αναπτύσσονται βαθμιαίες ηλεκτρικές διαφορές δυναμικού, με αποτέλεσμα την κατάσπαση ή ανάσπαση του διαστήματος ST ανάλογα με την απαγωγή που την καταγράφει.¹⁶

Η δοκιμασία κοπώσης, σαν διαγνωστική μέθοδος, διαθέτει μέση ευαισθησία και μέση ειδικότητα που ανέρχονται στο 68% και 77% αντίστοιχα.¹⁷ Ειδικά σε ασθενείς με πολυαγγειακή στεφανιαία νόσο η μέση ευαισθησία αυξάνεται στο 81% και η μέση ειδικότητα μειώνεται ελαφρά στο 66%.¹⁸ Το ηλεκτροκαρδιογράφημα κόπωσης είναι πιθανότερο να εμφανισθεί παθολογικό σε ασθενείς με πιο σοβαρές στενώσεις των στεφανιαίων αγγείων,

με πιο εκτεταμένη στεφανιαία νόσο και σε πιο εργώδη άσκηση. Πρώιμη εμφάνιση κατάσπασης του διαστήματος ST, έντονη κατάσπαση, καταγραφή των αλλοιώσεων σε περισσότερες από πέντε απαγωγές και επιμονή των αλλοιώσεων για μεγάλο χρονικό διάστημα κατά την ανάνηψη, σχετίζονται με σοβαρή μυοκαρδική ισχαιμία και μεγαλύτερη πιθανότητα για πιο εκτεταμένη στεφανιαία νόσο. Πάντως σύμφωνα με το θεώρημα του Bayes, η διαγνωστική ισχύς της δοκιμασίας κόπωσης είναι μέγιστη όταν η πιθανότητα για ύπαρξη στεφανιαίας νόσου πριν την ασκήση, ανέρχεται στο 30 με 70%.¹⁹ Η αύξηση του ύψους του R και η αναστροφή του κύματος U είναι δύο άλλα ηλεκτροκαρδιογραφικά σημεία σχετικά λιγότερο ευαίσθητα για ύπαρξη ισχαιμίας.

Όπως ήδη τονίστηκε η δοκιμασία κόπωσης εκτός από διάγνωση μπορεί να δώσει και πρόγνωση. Έτσι ασυμπτωματικά άρρενα άτομα με θετική δοκιμασία έχουν εννιαπλάσιο κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακού συμβάμματος (στηθάγχη, έμφραγμα μυοκαρδίου, θάνατος) τα επόμενα πέντε χρόνια σε σύγκριση με αυτούς που έχουν αρνητική δοκιμασία. Ο κίνδυνος αυξάνεται ακόμα περισσότερο όταν η δοκιμασία είναι έντονα θετική.²⁰ Ασθενείς με γνωστή στεφανιαία νόσο και άριστη ανοχή στην κόπωση (>10 METS) έχουν άριστη πρόγνωση ανεξάρτητα με την έκταση της υποκείμενης στεφανιαίας νόσου. Αντίθετα αυτοί που έχουν έντονα θετική κόπωση εμφανίζουν ετήσια θνησιμότητα της τάξης του 5%.²¹



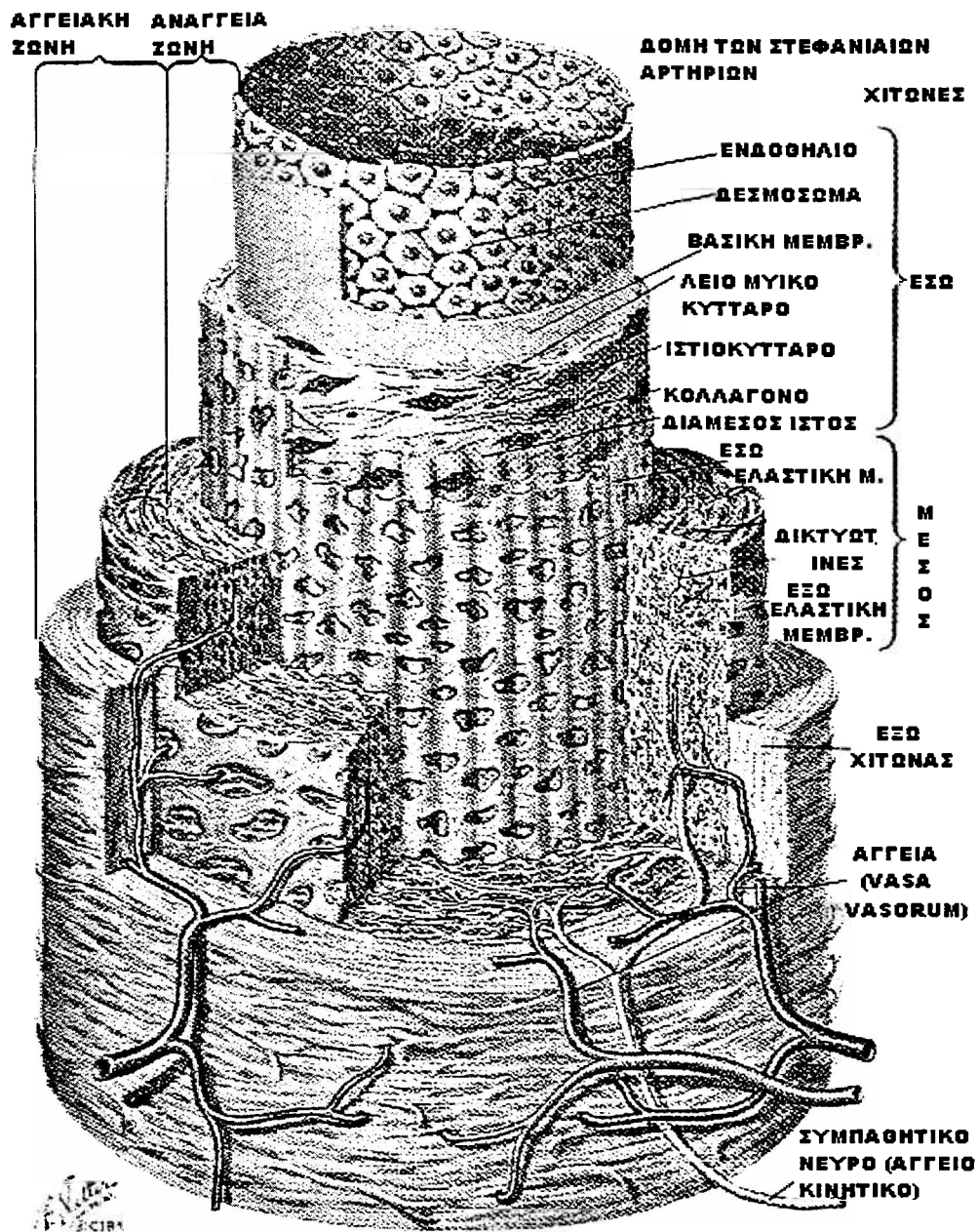
ΕΙΚΟΝΑ Ιβ: Αριστερά: Ένα σύμπλεγμα QRS πριν την δοκιμασία κόπωσης. Δεξιά: Το ίδιο σύμπλεγμα κατά την διάρκεια της δοκιμασίας κόπωσης με αλλοιώσεις τυπικές για ύπαρξη μυοκαρδικής ισχαιμίας.

II. ΤΟ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ.

Το αγγειακό ενδοθήλιο αποτελεί στην ουσία μία μεμβράνη που καλύπτει εσωτερικά τον αυλό των αγγείων ολόκληρου του κυκλοφορικού συστήματος. (ΕΙΚ. IIα, σελ. 26) Η μεμβράνη αυτή σχηματίζεται από ένα συνεχές στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων μεταξύ των οποίων υπάρχει μικρή ποσότητα μεσοκυττάρου ιστού. Μόλις πρόσφατα έγινε αντιληπτό σαν ένα εξιδεικευμένο όργανο με πολλαπλές λειτουργίες, η ακεραιότητα του οποίου είναι βασική για τη διατήρηση της αγγειακής φυσιολογίας. Το αγγειακό ενδοθήλιο είναι εκτεθειμένο συνεχώς σε συστηματικά και τοπικά ερεθίσματα και απαντά ανάλογα, συμμετέχοντας στη διατήρηση της ομοιόστασης του κυκλοφορικού συστήματος.

α) Το φυσιολογικό ενδοθήλιο:

α1) *Ανατομική και λειτουργική οργάνωση του ενδοθηλίου:* Πρόκειται για ένα αδιάβροχο εκλεκτικό φραγμό που χρησιμεύει στο να παρεμποδίζει την επαφή των ενδοαγγειακών με το εξωαγγειακά στοιχεία. Η θέση αυτή, του επιτρέπει να βρίσκεται σε δυναμική αλληλεπίδραση τόσο με τα κύτταρα που κυκλοφορούν ενδοαυλικά (αιμοπετάλια, λευκοκύτταρα κλπ), όσο και με αυτά που βρίσκονται εγκατεστημένα στο αγγειακό τοίχωμα (λεία μυϊκά κύτταρα). Μια άλλη επίσης σημαντική λειτουργία του ενδοθηλίου είναι αυτή του αισθητήρα διαφόρων "σημάτων" προερχόμενων από τις δομές με τις οποίες βρίσκεται σε επικοινωνία. Τέτοια σήματα μπορούν να είναι ουσίες όπως ορμόνες, κυτοκίνες, βακτηριακά προϊόντα, ή ακόμα μηχανικά ερεθίσματα προκαλούμενα από την παλμική ροή του αίματος, ενδοαυλική τάση κλπ.



ΕΙΚΟΝΑ 11α: Ιστολογία του στεφανιαίου επικαρδικού αγγείου μέσου μεγέθους. Διακρίνονται τρία ιστικά περιβλήματα-χιτώνες: 1) Ο έσω, 2) Ο μέσος ή μυϊκός και 3) Ο έξω. Ο έσω χιτώνας βρίσκεται σε επαφή με το κυκλοφορούν αίμα και αποτελείται από ένα στρώμα πολυγωνικών ενδοθηλιακών κυττάρων, πάχους μικρότερου του ενός μικρού. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα βρίσκονται σε σύνδεση με τα γειτονικά τους είτε με απλή επαφή είτε με δεσμοσωμικές γέφυρες. Η ενδοθηλιακή μεμβράνη εδράζεται πάνω στη βασική μεμβράνη που αποτελεί το όριο μεταξύ ενδοθηλιακού και υπενδοθηλιακού χώρου. Τα βαθύτερα στρώματα του έσω χιτώνα σχηματίζονται από λεία μυϊκά κύτταρα, λεπτές ελαστικές ίνες, ίνες κολλαγόνου, ιστοκύτταρα και διάμεσο ιστό. Ο υποκείμενος μέσος χιτώνας αποτελείται κυρίως από λεία μυϊκά κύτταρα. Τέλος ο έξω χιτώνας φέρει τα vasa vasorum, και δίκτυο παρασυμπαθητικής και συμπαθητικής νεύρωσης.

Ο ενήλικος άνθρωπος διαθέτει 10^{12} αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία μπορούν να καλύψουν περιοχή εμβαδού αρκετών χιλιάδων τετραγωνικών μέτρων.²² Όπως ήδη τονίστηκε, το ενδοθήλιο παρεμβάλλεται μεταξύ κυκλοφορούντος αίματος και όλων των υπολοίπων ιστών χρησιμεύοντας σαν ένας μη θρομβογόνος φραγμός στην εξαγγείωση των έμμορφων συστατικών του αίματος. Παράλληλα αποτελεί το σημείο στο οποίο διενεργείται η ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών και μεταβολιτών ανάμεσα στα στεφανιαία τριχοειδή και στα μυοκαρδικά κύτταρα.

Ειδικότερα τα τελευταία 15 χρόνια, το ενδοθήλιο έχει αναγνωρισθεί σαν ο μεγαλύτερος και πιο δραστήριος παρακρινικός αδένας με ικανότητα παραγωγής ισχυρών αγγειοδραστικών, αντιπηκτικών, προπηκτικών και ινωδολυτικών ουσιών. **(ΠΙΝΑΚΑΣ IIα, σελ. 28)**

α2) Βασικές λειτουργίες του ενδοθηλίου:

i) Εκλεκτική διαπερατότητα: Τα ενδοθηλιακά κύτταρα βρίσκονται σε στενή επαφή μεταξύ τους σχηματίζοντας μια συνεχή μεμβράνη που παρεμποδίζει τη, μέσω αυτής, διέλευση μακρομορίων (π.χ. αλβουμίνη). Ταυτόχρονα όμως η μεμβράνη αυτή χαρακτηρίζεται από εκλεκτική διαπερατότητα. Η εκλεκτική διακίνηση ουσιών μέσω της ενδοθηλιακής μεμβράνης πραγματοποιείται με σύστημα μικροκυστιδίων, μικροσωληνίσκων και με τους διακυτταρικούς διάυλους επικοινωνίας. Επιπρόσθετα, ο γλυκοκάλυκας που βρίσκεται πάνω στο ενδοθήλιο (αποτελούμενος κυρίως από γλυκοζοαμινογλυκάνες) μπορεί να απορροφήσει ορισμένα μακρομοριακά συμπλέγματα όπως αυξητικούς παράγοντες (growth factors) και κυτοκίνες.

ΠΙΝΑΚΑΣ IIα.

ΟΥΣΙΕΣ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ, Η ΔΡΩΣΕΣ ΜΕΣΩ, ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ.

A. ΑΓΓΕΙΟΔΙΑΣΤΑΛΤΙΚΕΣ.

1. Παραγόμενες από το αγγειακό ενδοθήλιο.

Αδενοσίνη.
EDRF (NO).
EDHF.
Λευκοτριένια.
PGE₂.
PGF_{10a}.
PGI₂.

2. Δρώσεις μέσω του αγγειακού ενδοθηλίου.

Ακετυλοχολίνη.
ADP.
Βραδυκίνη.
Κατεχολαμίνες.
Ισταμίνη.
Λευκοτριένια.
Σεροτονίνη.

B. ΑΓΓΕΙΟΣΥΣΠΑΣΤΙΚΕΣ.

1. Παραγόμενες από το αγγειακό ενδοθήλιο.

Ενδοθηλίνη.
Λευκοτριένια.

2. Δρώσεις μέσω του αγγειακού ενδοθηλίου.

Αγγειοτασίνη.
Βαζοπρεσίνη.

Γ. ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΕΣ, ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΕΣ, ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΕΣ.

1. Παραγόμενες από το αγγειακό ενδοθήλιο.

Αδενοσίνη.
EDRF (NO).
Γλυκοζοαμινογλυκάνες.
Ενεργοποιητής του πλασμινογόνου.
PGE₁, PGE₂, PGE₃.
Θρομβομοδουλίνη.
Ιστικός Παράγων (TF).

2. Δρώσεις μέσω του αγγειακού ενδοθηλίου.

Ηπαρίνη.

Δ. ΠΡΟΠΗΚΤΙΚΕΣ.

1. Παραγόμενες από το αγγειακό ενδοθήλιο.

Κολλαγόνο.
Σύμπλεγμα FVIII-VWF.
Ινωδονεκτίνη.

ADP=Διφωσφορική αδενοσίνη, EDHF= Ενδοθηλιογενής υπερπολωτικός παράγοντας (endothelium-derived hyperpolarizing factor), EDRF= Ενδοθηλιογενής χαλαρωτικός παράγοντας (endothelium-derived relaxing factor), πρόσφατα ο παράγοντας αυτός αναγνωρίστηκε ως νιτρικό οξείδιο (NO), FVIII=Παράγοντας πήξης, VWF=Παράγοντας von Willebrand.

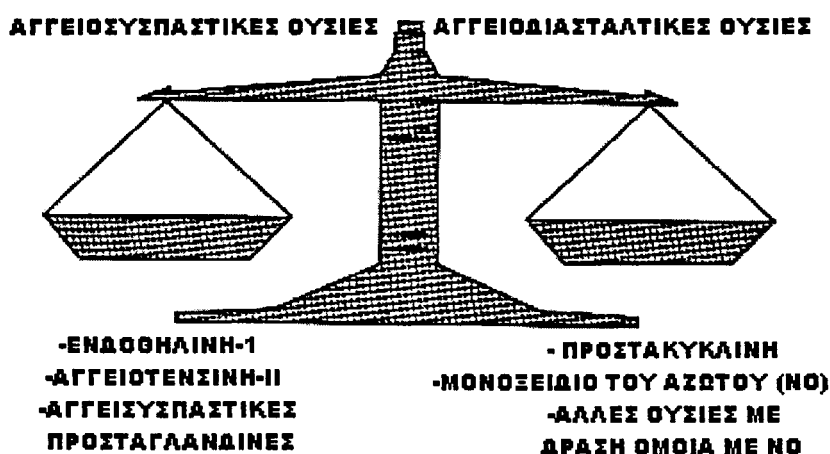
Η διαπερατότητα της ενδοθηλιακής μεμβράνης μπορεί να τροποποιηθεί σε απάντηση φυσιολογικών ή παθολογικών ερεθισμάτων. Για παράδειγμα η ισταμίνη που εκλύεται σε διάφορες φλεγμονώδεις διεργασίες προκαλεί άνοιγμα των διακυτταρικών συνδέσεων και ταχεία εξαγγείωση υγρού πλούσιου σε πρωτεΐνη.²³ Παρόμοια απάντηση μπορεί να προκληθεί και από τη θρομβίνη αλλά και άλλες ουσίες.

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι οι λιποπρωτεΐνες χαμηλής και πολύ χαμηλής πυκνότητας (LDL, VLDL) μπορούν να διαπεράσουν την ενδοθηλιακή μεμβράνη συνδεδεμένες σε ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται πάνω σε αυτή.²⁴ Σε καταστάσεις υπερλιπιδαιμίας η πρόσληψη των λιποπρωτεϊνών αυτών είναι αυξημένη και δίνει έναρξη στη διαδικασία της αθηρωμάτωσης.

ii) Διατήρηση ισορροπίας μεταξύ αιμόστασης και θρόμβωσης: Το ενδοθηλιακό κύτταρο είναι σε θέση να εμφανίζει είτε αντιπηκτική/αντιθρομβωτική είτε πηκτική/θρομβωτική συμπεριφορά. Στη πρώτη οφείλεται η μη θρόμβωση του αίματος που περιέχεται μέσα στην ενδοθηλιακή του δεξαμενή. Το ενδοθήλιο αδυνατεί να ενεργοποιήσει το μηχανισμό πήξης και να πυροδοτήσει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, με άλλα λόγια δεν συμπεριφέρεται θρομβογόνα. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν την προστακυκλίνη PGI₂ (μεταβολίτη του αραχιδονικού οξέος) μια ουσία με ισχυρή δράση ανασταλτική της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Επιπρόσθετα μια σειρά φυσιολογικοί αντιθρομβωτικοί μηχανισμοί όπως αυτός της ηπαρίνης-αντιθρομβίνης, της πρωτεΐνης C-θρομβομοδουλίνης και ο μηχανισμός του ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (TF), συνδέονται άμεσα με το ενδοθήλιο. Από την άλλη πλευρά, το ενδοθηλιακό κύτταρο έχει τη δυνατότητα να εμφανίσει ενεργό “προθρομβωτική” συμπεριφορά. Συνθέτει

νιτρικό οξείδιο (NO) και διαλευκάνθηκε το βιοχημικό συνθετικό του μονοπάτι μέσα από τη δράση μιας ή και περισσότερων συνθετασών. Διαλευκάνθηκαν επίσης και οι κυτταρικοί μηχανισμοί μέσω των οποίων εξυπηρετείται η αγγειοδιασταλτική του δράση. Το NO μαζί με την προστακυκλίνη, που επίσης έχει ισχυρή αγγειοδιασταλτική δράση (μέσα όμως από διαφορετικούς μηχανισμούς), και μια σειρά άλλους παράγοντες, σχηματίζουν την ομάδα των “φυσικών” αντιυπερτασικών ουσιών που προέρχονται από το ενδοθήλιο.

Αντίθετη προς τους παράγοντες αυτούς, αγγειοσυσπαστική δράση, διαθέτουν μια σειρά ενδοθηλιακών ουσιών. **(ΕΙΚ. IIγ)** Στις ουσίες αυτές συμπεριλαμβάνεται η αγγειοτασίνη II, ο προερχόμενος από τα αιμοπετάλια παράγων ανάπτυξης και η ενδοθηλίνη-1. Η τελευταία αυτή θεωρείται σαν ο πλέον ισχυρός αγγειοσυσπαστικός παράγοντας.



ΕΙΚΟΝΑ IIγ. Η ενδοθηλιακή αγγειοσυσπαστική/αγγειοδιασταλτική ισορροπία. Διάφορα ενδοθηλιακά παράγωγα συμβάλλουν στην ρύθμιση του αγγειακού τόνου σε τοπικό επίπεδο δρώντας στους λείους μυς.

iv) Κυτοκίνες και Μόρια που ρυθμίζουν την ανάπτυξη: Το αγγειακό ενδοθήλιο αποτελεί τόπο παραγωγής ενός μεγάλου αριθμού κυτοκινών, αυξητικών και ανασταλτικών παραγόντων, με δυνατότητα να δρουν σε τελείως τοπικό επίπεδο επηρεάζοντας τη συμπεριφορά των παρακείμενων αγγειακών κυττάρων και αλληλεπιδρώντας με στοιχεία του αίματος.

(ΠΙΝΑΚΑΣ IIβ)

ΠΙΝΑΚΑΣ IIβ.

ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΤΡΟΠΟΠΟΙΟΥΝ ΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ.

Κυτοκίνες	Αυξητικοί παράγοντες
Ιντερλευκίνη-1(αλφα)	Platelet-derived growth factor (PDGF-A,B)
Ιντερλευκίνη-1(βήτα)	Insuline-like growth factor (IGF-1)
Ιντερλευκίνη-6	Basic fibroblast growth factor (bFGF)
Ιντερλευκίνη-8	Heparin-binding EGF-like factor
Monocyte chemotactic protein (MCP-1)	Transforming growth factor-beta
Colony stimulating factors (GM-/M-CSF)	

Επομένως, το ενδοθήλιο, θα μπορούσε να θεωρηθεί σαν ένας ενδοκρινής αδένας με δυνατότητα έκκρισης ορμονών που δρουν είτε στους παρακείμενους ιστούς είτε σε αυτό το ίδιο.

v) Το ενδοθήλιο σαν φορέας μηχανικών δυνάμεων: Λόγω της άμεσης επαφής του με την αιματική ροή, εκτίθεται σε δυνάμεις-ερεθίσματα. Οι δυνάμεις αυτές δημιουργούνται από την ροή του αίματος υπό μορφή ώσεων (π.χ. δυνάμεις συνάφειας, τοιχωματική τάση, ενδοαυλική πίεση κλπ.). Μερικές από αυτές φαίνεται ότι μεταφέρονται μέσω του ενδοθηλίου σε άλλα στοιχεία του αγγειακού τοιχώματος (κύτταρα, εξωκυττάριο ιστό) ενώ άλλες δρουν απευθείας πάνω στο ενδοθηλιακό κύτταρο τροποποιώντας τη μεταβολική του δραστηριότητα ή ακόμα ρυθμίζοντας (προς τη μία ή την άλλη κατεύθυνση) τη

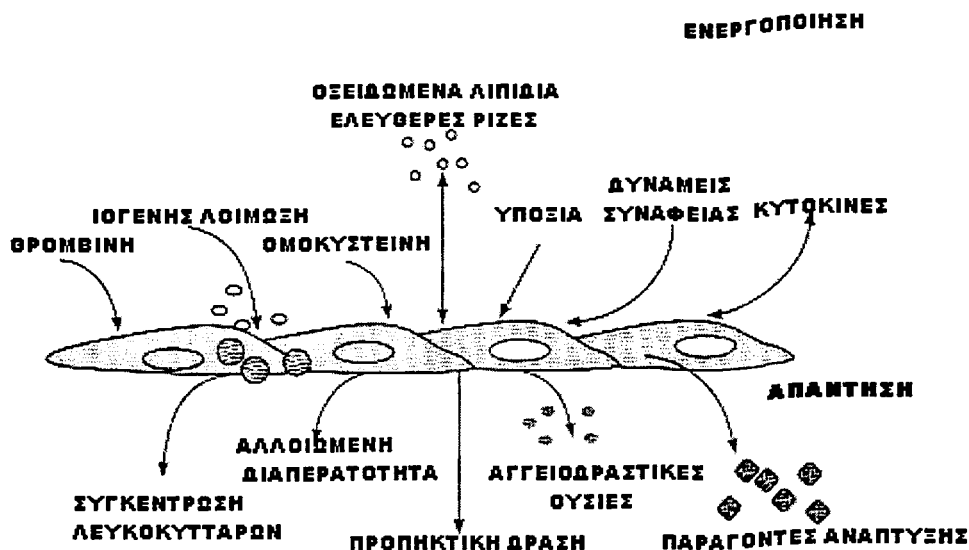
γονιδιακή του έκφραση. Έτσι η παραγωγή ωρισμένων ουσιών αγγειοδιασταλτικών, αγγειοσυσπαστικών, ινωδολυτικών φαίνεται ότι πυροδοτείται από τέτοιου είδους δυνάμεις.^{26,27,28.}

β) Το δυσλειτουργικό ενδοθήλιο:

β1) Η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, ερεθίσματα και συνέπειες: Η διαδικασία της αθηρογένεσης πυροδοτεί την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου. Η απώλεια ενδοθηλιακών κυττάρων έχει σαν αποτέλεσμα την έκθεση της υποκείμενης βασικής μεμβράνης στα κυκλοφορούντα στοιχεία του αίματος. Αιμοπετάλια συγκεντρώνονται στις περιοχές αυτές και εκκρίνουν κοκκία με ουσίες δραστικές όπως PDGF (ουσία που προκαλεί πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων). Στη συνέχεια, εκτός από τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων, παρατηρείται συγκέντρωση λιπιδίων και διήθηση της περιοχής της βλάβης από μονοκύτταρα με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό της πλάκας. Σε όλη αυτή τη παθολογική διεργασία, το ενδοθήλιο φαίνεται ότι παίζει ένα ρόλο παθητικό.

Άλλες παρατηρήσεις επιβεβαιώνουν τον ενεργό ρόλο του ενδοθηλίου στην αθηρογένεση. Έτσι έχουν ανακαλυφθεί μια σειρά από παράγοντες που μπορούν να ενεργοποιήσουν το ενδοθήλιο ακόμα και όταν η ενδοθηλιακή μεμβράνη διατηρεί την ακεραιότητά της.²⁹ Οι παράγοντες αυτοί προκαλούν την έκφραση γονιδίων του ενδοθηλιακού κυττάρου με βλαπτική δράση ενώ ταυτόχρονα αναστέλλουν άλλα με ευεργετική για το αγγειακό τοίχωμα δράση.

(ΕΙΚ. IIδ, σελ. 34)



ΕΙΚΟΝΑ 11δ. Έχει περιγραφεί ένας αριθμός παραγόντων με δυνατότητα ενεργοποίησης του ενδοθηλιακού κυττάρου και πρόκληση βλάβης. Πολλές από τις προκαλούμενες απαντήσεις έχουν βρεθεί να σχετίζονται με την πρόοδο της αθηρωμάτωσης.

β2) Ουσίες που προκαλούν τη προσήλωση λευκοκυττάρων: Τη περασμένη δεκαετία αναγνωρίστηκε η συμμετοχή των μονοκυττάρων και Τ-λεμφοκυττάρων στην ανάπτυξη της αθηρωματικής βλάβης. Τα κύτταρα αυτά προσλαμβάνοντας μεγάλες ποσότητες λιπιδίων, μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα και σχηματίζουν τις λιπώδεις γραμμώσεις. Παράλληλα παράγουν αυξητικούς παράγοντες (με δράση στα λεία μυϊκά κύτταρα) και κυτοτοξικές ουσίες (με δράση στα γειτονικά της βλάβης κύτταρα).

Τα μονοκύτταρα πριν εισχωρήσουν (διαπηδήσουν) στον υπενδοθηλιακό χώρο προσηλώνονται στο ενδοθήλιο και ειδικά στις περιοχές που εμφανίζουν επιρρέπεια σε βλάβη. Η προσήλωσή τους προκαλείται από ουσίες που παράγονται στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα και βρίσκονται πάνω στη κυτταρική τους επιφάνεια όπως οι σελεκτίνες και οι χημοκίνες. Άλλες ουσίες μη προερχόμενες από το ενδοθηλιακό κύτταρο όπως

η οξειδωμένη LDL και η υδρολυμένη VLDL μπορούν να προκαλέσουν προσήλωση μονοκυττάρων σε περιοχές επιρρεπείς σε βλάβη.^{30,31}

β3) Προθρομβωτικές ιδιότητες του ενεργοποιημένου ενδοθηλίου: Διάφοροι ενεργοποιητές όπως η ενδοτοξίνη, η ιντερλευκίνη-1, ο παράγοντας νέκρωσης όγκου, η θρομβίνη καθώς επίσης και διαταραχές στη ροή, μπορούν να ενεργοποιήσουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα την παραγωγή ιστικού παράγοντα που δίνει έναρξη στο σχηματισμό θρόμβου μέσα από την εξωγενή οδό.³² Το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο χάνει επιπλέον την ικανότητα ενεργού συμμετοχής στην ινωδολύση σε περίπτωση λύσης του θρόμβου.

β4) Αγγειόσπασμος και ενεργοποιημένο ενδοθήλιο: Η δυνατότητα των αιμοφόρων αγγείων να συσπώνται σε απάντηση ορμονικών και παρακρινικών αγγειοδραστικών ουσιών επηρεάζεται από το μέγεθος της αγγειακής νόσου. Η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο ρυθμίζεται η παραγωγή αγγειοδραστικών ουσιών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, θεωρείται απαραίτητη προκειμένου να γίνουν στη συνέχεια κατανοητές κλινικές καταστάσεις όπως η αγγειακή απόφραξη. Η ενδοθηλίνη-1 είναι ο κύριος ρυθμιστής της αγγειακής αντίδρασης, είναι ένας ισχυρότατος αγγειοσυσπαστικός παράγοντας. Η έκκρισή της από το ενδοθηλιακό κύτταρο, ρυθμίζεται από οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες και δυνάμεις συνάφειας ασκούμενες στον αγγειακό αυλό.^{33,34} Η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (lysoPC), η ιντερφερόνη-γ, η ιντερλευκίνη-1β και η θρομβίνη καταστέλλουν την έκκρισή της.

Επιπρόσθετα το ενδοθήλιο ασκεί έλεγχο στον αγγειακό τόνο με έκκριση αγγειοχαλαρωτικών ουσιών όπως το νιτρικό οξύ. Έχει παρατηρηθεί μία αντίστροφη σχέση ανάμεσα στην αγγειοχάλαση και στην

ύπαρξη αθηροσκληρυντικής πλάκας πιθανά μέσω μείωσης της παραγωγής νιτρικού οξειδίου. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η οξειδωμένη LDL πιθανά δρά ανασταλτικά στο μηχανισμό αγγειοχάλασης το προερχόμενο από το ενδοθήλιο, ενώ η HDL έχει την αντίθετη δράση.^{35,36}

γ) Η παραγωγή του αυξητικού παράγοντα (growth factor) από το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο:

Όπως αναφέρθηκε προηγούμενα το ενδοθήλιο αποτελεί μια πηγή παραγωγής αυξητικών παραγόντων υπεύθυνων για τη συγκέντρωση και πολλαπλασιασμό λείων μυϊκών κυττάρων που είναι βασική προϋπόθεση για το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας. Ένας από τους παράγοντες αυτούς είναι ο αιμοπεταλιογενής αυξητικός παράγοντας (platelet derived growth factor-PDGF). Αύξηση της παραγωγής του PDGF προκαλούν τα αυξημένα επίπεδα σακχάρου στο αίμα (σακχαρώδης διαβήτης), ουσίες όπως η ιντερλευκίνη-6, το υπεροξειδίο του υδρογόνου, τα χαμηλού μοριακού βάρους προϊόντα αποδόμησης του ινωδογόνου, η α-θρομβίνη, καθώς επίσης και μηχανικές δυνάμεις (συνάφειας) που ασκούνται στο αγγειακό τοίχωμα.³⁷

δ) Ουσίες που αναστέλλουν τη διαδικασία που οδηγεί σε δυσλειτουργία το ενδοθήλιο:

Ανήκουν σε δύο κατηγορίες, στις αντιφλεγμονώδεις και στις αντιοξειδωτικές. Η πρώτη περιλαμβάνει ουσίες όπως η 3-δεαζαδενοσίνη (αναστέλλει τη παραγωγή του PDGF) ενώ στη δεύτερη ανήκει η α-τοκοφερόλη ή βιταμίνη E (αναστέλλει την γένεση οξειδωμένης LDL και ενισχύει τη παραγωγή προστακυκλίνης).^{38,39}

ε) Η αναγέννηση του ενδοθηλίου μετά από αγγειακή βλάβη ή κατά την ανάπτυξη παράπλευρης κυκλοφορίας:

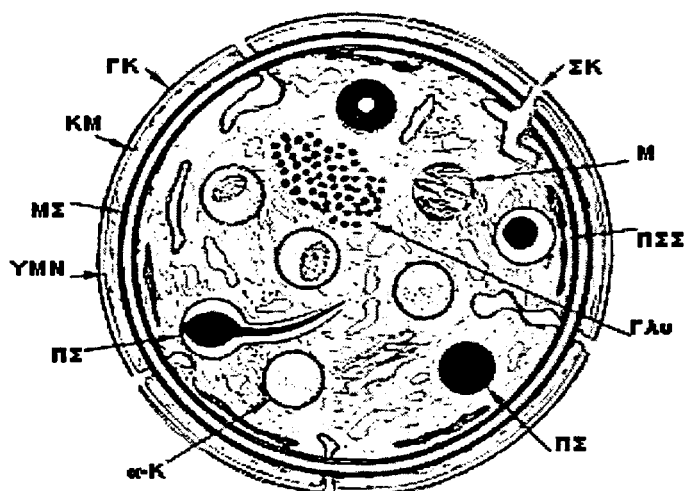
Εχει παρατηρηθεί τόσο πειραματικά όσο και *in vivo* (αγγειοπλαστική) ότι το ενδοθήλιο έχει την ικανότητα να αναγεννάται και να καλύπτει περιοχές που έχουν απενδοθηλιοποιηθεί. Ταυτόχρονα όμως, στις περιοχές αυτές, σημειώνεται δευτερογενώς μεγάλη πάχυνση του έσω χιτώνα που οφείλεται σε μετανάστευση και πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων. Η δευτερογενής αυτή αντίδραση δεν παρατηρείται μόνο σε περίπτωση που η βλάβη εντοπίζεται αποκλειστικά στην ενδοθηλιακή μεμβράνη και δεν επεκτείνεται σε βαθύτερα αγγειακά στρώματα. Η αναγέννηση του ενδοθηλίου ξεκινά από τα σημεία εκείνα που πρόσκεινται στη βλάβη και πραγματοποιείται τόσο με μετανάστευση όσο και με πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Οι αυξητικοί παράγοντες φαίνεται ότι παίζουν βασικό ρόλο.⁴⁰

Κατά την ανάπτυξη της παράπλευρης κυκλοφορίας η κάλυψη των νέων αγγείων με ενδοθήλιο πραγματοποιείται κυρίως με μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων.⁴¹

III. ΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ.

Αν και θεωρούνται κύτταρα, τα αιμοπετάλια, είναι ουσιαστικά απύρρηνα κυτταρικά τμήματα προερχόμενα από τα μεγακαρυοκύτταρα του μυελού των οστών. Τα τελευταία αυτά, υπό τη δράση ορμονών όπως η θρομβοποιητίνη ή πιθανά οι κυτοκίνες, δημιουργούν κυτταρικές προεκβολές οι οποίες στη συνέχεια αποσπώνται και σχηματίζουν τα αιμοπετάλια.

Η διάρκεια της ζωής τους στη κυκλοφορία είναι περίπου δέκα μέρες και η συγκέντρωσή τους στο αίμα ανέρχεται στα 150.000-400.000/μl. Τα φυσιολογικά αιμοπετάλια έχουν διάμετρο 3.6-0.7 μm και όγκο 7.06-4.85 fl. Ο μέσος όγκος τους αυξάνεται όταν παραστεί ανάγκη για αυξημένη θρομβοποίηση ενώ αντίθετα ελαττώνεται πιθανά όσο αυξάνεται η ηλικία τους. Η πυκνότητά τους δεν διαφέρει σημαντικά από άτομο σε άτομο (περί το 5%) και καθορίζεται από τον αριθμό των περιεχομένων α-κοκκίων. Το 70% βρίσκεται στην κυκλοφορία ενώ το 30% είναι καθηλωμένο στον σπλήνα. (ΕΙΚ. IIIα)



ΕΙΚΟΝΑ IIIα. Η δομή του αιμοπεταλίου: Η εξωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης καλύπτεται από ένα περίβλημα πλούσιο σε γλυκοπρωτεΐνη τον Γλυκοκάλυκα (ΓΚ). Ο γλυκοκάλυκας φέρει υποδοχείς ειδικούς για την πρόσδεση αιμοπεταλιακών ενεργοποιητών και αναστολέων. Αμέσως

από κάτω υπάρχει η Κυτταρική Μembrάνη (ΚΜ) αποτελούμενη από διπλό στρώμα φωσφολιποπρωτεϊνών. Διαθέτει τη μοναδική ιδιότητα να αναδιατάσσει τις φωσφολιποπρωτεΐνες υπό την επίδραση διαφόρων ενεργοποιητών. Στην αναδιάταξη αυτή οφείλεται η ικανότητα του αιμοπεταλίου να προσδένει ενεργοποιημένους παράγοντες πήξης. Τόσο η κυτταρική μεμβράνη όσο και ο Υπομεμβρανική Περιοχή Νηματιδίων (ΥΜΝ), αναδιπλώνονται κατά τόπους προς το εσωτερικό του κυττάρου και με τον τρόπο αυτό σχηματίζεται ένα Σύστημα Καναλιών (ΣΚ) που συνδέει το εσωτερικό του κυττάρου με την επιφάνεια του. Τα υπομεμβρανικά ινίδια είναι ινίδια ακτίνης που διατάσσονται παράλληλα και σχηματίζουν ψευδοτόδια όταν το αιμοπετάλιο ενεργοποιείται. Το Μικροσωληνώδες Σύστημα (ΜΣ), κείμενο στη περιφέρεια, συμμετέχει επίσης στο σχηματισμό του κυτταρικού σκελετού και σε αυτό οφείλεται το πλακώδες σχήμα των αιμοπεταλίων όταν αυτά βρίσκονται σε ανενεργή κατάσταση. Το αιμοπεταλιακό κυτταρόπλασμα περιέχει μικροϊνίδια, υπομεμβρανικά ινίδια, μικροσωληνίσκους διατεταγμένους διαμετρικά και Γλυκογόνο (Γλυ). Στα περιεχόμενα έμμορφα συστατικά του κυτταροπλάσματος, περιλαμβάνονται Μιτοχόνδρια (Μ) και Πυκνά Σωματίδια (ΠΣ) που αποτελούν αποθηκευτικούς χώρους για ADP, 5-ΗΤ και ασβέστιο. Εκτός από τα πυκνά σωματίδια περιέχονται και δύο τύποι κοκκίων: τα λυσοσώματα και τα α-Κοκκία (α-Κ) μέσα στα οποία αποθηκεύονται πρωτεΐνες συγκόλλησης μερικές από τις οποίες εκκρίνονται κατά την ενεργοποίηση του κυττάρου (von Willebrand, θρομβοσπονδίνη, ινωδοεκτίνη). Κατά την ενεργοποίηση, η περιεχόμενη στα α-κοκκία Ρ-σελεκτίνη μετακομίζει στην επιφάνεια του κυττάρου. Άλλες ουσίες που περιέχονται στα κοκκία αυτά είναι ο αιμοπεταλιακός παράγοντας-4, η β-θρομβογλοβουλίνη και ο PDGF. Το Πυκνό Σωληναριακό Σύστημα (ΠΣΣ) και το Σύστημα Καναλιών (ΣΚ) αποτελούν μεμβρανικά συστήματα αντίστοιχα του σαρκοπλασματικού δικτύου άλλων κυττάρων.

Τα αιμοπετάλια κυκλοφορούν σαν μη ενεργοποιημένοι, λείοι, πλακώδεις σχηματισμοί που δεν βρίσκονται σε καμία αλληλεπίδραση με τα άλλα στοιχεία του αίματος ή το ενδοθήλιο που καλύπτει τον αυλό των αγγείων. Διαθέτουν μηχανισμό αναγνώρισης της διακοπής της συνέχειας του ενδοθηλίου, περιοχών, δηλαδή, όπου το υπενδοθήλιο βρίσκεται εκτεθειμένο στον αυλό του αγγείου. Εκεί, πάνω στην εκτεθειμένη υπενδοθηλιακή περιοχή, συσσωρεύονται και ενεργοποιούνται. Η έκθεση των υπενδοθηλιακών ιστών, είτε οφείλεται σε τραυματισμό του αγγείου και αιμορραγία είτε σε σπάσιμο αθηρωματικής πλάκας, πυροδοτεί την ίδια απάντηση από τη μεριά των

αιμοπεταλίων. Η απάντηση αυτή σε γενικές γραμμές συνίσταται στην αιμοπεταλιακή ενεργοποίηση, συσσώρευση και σχηματισμό θρόμβου αποτελούμενου από ινώδες και αιμοπετάλια. Σε περίπτωση μηχανικής, χημικής βλάβης του αγγείου ή ύπαρξης ραγισμένης αθηρωματικής πλάκας τα αιμοπετάλια υφίστανται περίπλοκες δομικές μεταβολές προκειμένου να είναι ικανά για συμμετοχή στη διαδικασία της αιμόστασης.⁴² (ΕΙΚ. IVζ-σελ. 65)

Εκτός από τη συμμετοχή τους στην αιμόσταση, φαίνεται ότι παίζουν και βασικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας του αγγείου. Για τη τελευταία αυτή λειτουργία υπάρχουν, προς το παρόν, μόνο έμμεσες ενδείξεις. Μελέτες έδειξαν ότι η τάση για αιμορραγία που εμφανίζουν οι θρομβοκυτοπενικοί ασθενείς, δεν οφείλεται μόνο στην έλλειψη αιμοπεταλίων αλλά και στην έλλειψη “παραγόντων ακεραιότητας των αγγείων” που φαίνεται ότι περιέχονται στα αιμοπετάλια.⁴³

Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προάγουν τη δραστηριότητα του ενδογενούς συστήματος πήξης. Η φωσφολιποειδική μεμβράνη τέτοιων αιμοπεταλίων προσφέρεται σαν το καταλυτικό περιβάλλον για την παρασκευή της “τενάσης” και της “προθρομβινάσης”, δύο συμπλεγμάτων που ενεργοποιούν το παράγοντα X και την προθρομβίνη. Η μετατροπή της αιμοπεταλιακής μεμβράνης σε τόπο κατάλληλο για τη παραγωγή αυτών των ουσιών πυροδοτείται από τη παρουσία θρομβίνης ή κολλαγόνου.⁴⁴

α) Οι γλυκοπρωτεΐνες των αιμοπεταλίων:

Στην αιμοπεταλιακή μεμβράνη υπάρχουν αρκετά είδη γλυκοπρωτεϊνών που ανήκουν στην ομάδα της ιντεγρίνης και χρησιμεύουν σαν υποδοχείς παραγόντων προσκόλλησης:

1. Η γλυκοπρωτεΐνη IB (GPIb ή GPIb-IX), είναι υπεύθυνη για την ηλεκτραρνητικότητα της επιφάνειας της μεμβράνης. Κατά το σχηματισμό του θρόμβου χρησιμεύει σαν υποδοχέας του παράγοντα vWF.⁴⁵

2. Το γλυκοπρωτεϊνικό σύμπλεγμα IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) λειτουργεί σαν υποδοχέας μόνο μετά την ενεργοποίηση του αιμοπεταλίου από ενεργοποιητές όπως το κολλαγόνο, η θρομβίνη, η επινεφρίνη, η διφωσφορική αδενοσίνη και η θρομβοξάνη. Είναι υποδοχέας κυρίως του ινωδογόνου αλλά και του παράγοντα vWF.

β) Μεταβολή του σχήματος του αιμοπεταλίου σαν αποτέλεσμα της ενεργοποίησής του:

Το δισκοειδές σχήμα του αιμοπεταλίου αλλάζει δραματικά κάτω από την επίδραση ενεργοποιητών (π.χ. θρομβίνης). Η περιφέρεια ενός μη διεγερμένου αιμοπεταλίου περιβάλλεται από ένα σπείραμα που σχηματίζεται από μικροσωληνίσκους. Το μικροσωληνώδες αυτό σπείραμα μαζί με την ακτίνη κάτω από το πλασμίλημα ευθύνονται για το δισκοειδές σχήμα. Το σύστημα των μικροσωληνίσκων βρίσκεται σε επικοινωνία με την επιφάνεια του κυττάρου μέσω αναδιπλώσεων αυτής. **(ΕΙΚ. IIIα-σελ. 38, IIIβ-σελ. 43)** Σε περίπτωση ενεργοποίησης, το σχήμα μετατρέπεται άμεσα σε σφαιρικό και δημιουργούνται κυτταρικές προσεκβολές. Με το τρόπο αυτό, το αιμοπετάλιο, παίρνει τη μορφή μιας αγκαθωτής σφαίρας. Η μορφή αυτή προσφέρει περισσότερες ευκαιρίες για αλληλεπιδράσεις με άλλα αιμοπετάλια και παρακείμενα κύτταρα. Για τη μορφολογική αλλαγή, υπεύθυνη είναι κυρίως η ακτίνη μια πρωτεΐνη αποτελούμενη από δύο αλυσίδες (β- και γ-ακτίνη). Η ακτίνη αποτελεί το 20% του πρωτεϊνικού περιεχόμενου του αιμοπεταλίου,

περίπου η μισή είναι πολυμερισμένη και σχηματίζει νημάτια (F-actin), ενώ η άλλη μισή βρίσκεται σε μονομερή μορφή (G-actin). Όταν το αιμοπετάλιο ενεργοποιηθεί, το ποσοστό F-actin αυξάνεται στο 80%. Οι κυτταρικές προσεκβολές του ενεργοποιημένου κυττάρου περιέχουν F-actin. Σε περίπτωση που η ακτίνη βγεί στην κυκλοφορία δρα σαν ενεργοποιητής των αιμοπεταλίων.

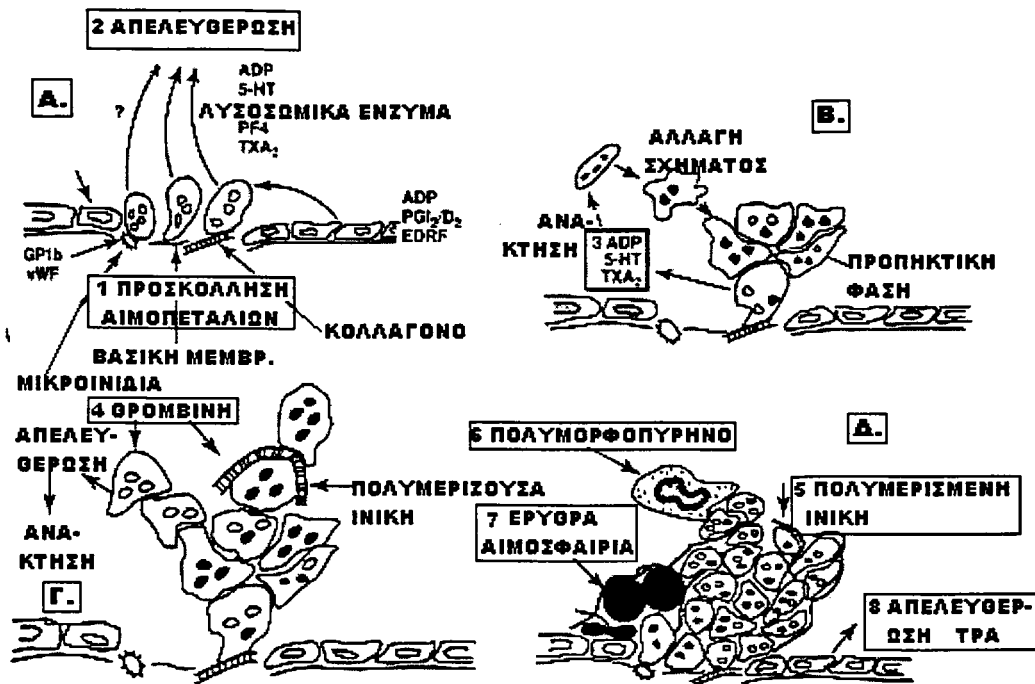
Ο αιμοπεταλιακός κυτταρικός σκελετός αποτελείται βασικά από ακτίνη και βρίσκεται σε επικοινωνία με την λιπιδιακή μεμβράνη. Η ενεργοποίηση του κυττάρου προκαλεί αναδιοργάνωση του σκελετού μέσω μετατροπής της ακτίνης από G-actin σε F-actin.

γ) Τα αιμοπεταλιακά κυστίδια και ο μηχανισμός έκκρισης:

Στα πολύ πρώιμα στάδια της διαδικασίας της αιμόστασης, τα αιμοπετάλια συγκεντρώνονται πάνω στον εκτεθιμένο υπενδοθηλιακό ιστό, έρχονται σε επαφή μεταξύ τους και αρχίζουν να ενεργοποιούνται. Σαν συνέπεια της ενεργοποίησης απελευθερώνουν ουσίες που αλληλεπιδρούν με τα αγγειακά κύτταρα **(ΕΙΚ.IIIβ-σελ. 43)** και με την επιφάνεια των αιμοπεταλίων.

Τα αιμοπετάλια περιέχουν δύο κατηγορίες εκκριτικών κοκκίων σύμφωνα με την πυκνότητά τους στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Τα πιο πυκνά καλούνται β και περιέχουν αδενοσινονουκλεοτίδια (ATP, ADP), ασβέστιο και σεροτονίνη ενώ τα α που είναι και λιγώτερο πυκνά, περιέχουν ένζυμα, παράγοντες ανάπτυξης και πρωτεΐνες με συσσωρευτική και πηκτική δράση.⁴⁶

Όταν τα αιμοπετάλια ενεργοποιηθούν το περιεχόμενο των κοκκίων απελευθερώνεται στο περιβάλλοντα αυτά χώρο.



ΕΙΚΟΝΑ IIIβ. Πρωτοπαθής και δευτεροπαθής αιμόσταση: Α. Ο υπενδοθηλιακός ιστός εκτίθεται απογυμνωμένος από ενδοθήλιο εξ αιτίας μιας αγγειακής βλάβης με αποτέλεσμα στιγμιαία συγκέντρωση των αιμοπεταλίων πάνω στο κολλαγόνο, στη βασική μεμβράνη, και στα μικροϊνίδια παρουσία του παράγοντα vW, και της αιμοπεταλιακής γλυκοπρωτεΐνης Ib (GPIb). Το κολλαγόνο που είναι ένας ισχυρός αιμοπεταλιακός ενεργοποιητής, προκαλεί απελευθέρωση ADP και σεροτονίνης (5-HT) καθώς και πολλές άλλες πρωτεΐνες από τα πυκνά κοκκία. Η θρομβοξάνη A₂ (TxA₂) σχηματίζεται ενζυμικά από το αραχιδονικό οξύ που έχει απελευθερωθεί από τα φωσφολιποειδή. Παράλληλα, κινητοποιούνται ενδοθηλιακοί αμυντικοί μηχανισμοί (θρομβορυθμιστικοί) με σκοπό το περιορισμό της έκτασης του σχηματιζόμενου θρόμβου. Β: Οι ουσίες ADP, 5-HT και TxA₂ προσελκύουν και άλλα αιμοπετάλια τα οποία προσκολληόμενα πάνω στο αρχικό αιμοπεταλιακό στρώμα μεταβάλλουν την μορφολογία τους. Η TxA₂ και η 5-HT προκαλούν αγγειοσυσπασση με συνέπεια την ελάττωση της αιματικής ροής και την αύξηση της επαφής μεταξύ των κυττάρων. Στην φάση αυτή, οι φωσφολιποπρωτεΐνες της ενεργοποιημένης αιμοπεταλιακής μεμβράνης, καταλύουν τη σύνθεση πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην αλυσιδωτή διαδικασία της πήξης. Γ: Ο σχηματισμός θρομβίνης έχει σαν συνέπεια τη περαιτέρω ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, την απελευθέρωση δραστικών ουσιών από αυτά και τελικά το σχηματισμό ινώδους. Το ινώδες τοποθετείται ανάμεσα στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια καθώς ο θρόμβος γίνεται βαθμιαία συμπαγής. Επιπρόσθετα, η θρομβίνη προκαλεί ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων που βρίσκονται κοντά στην περιοχή της αγγειακής βλάβης. Υπάρχει αυξημένη

δραστηριότητα των γονιδίων που παράγουν το προερχόμενο από τα αιμοπετάλια παράγοντα ανάπτυξης (PDGF), αυξημένη συσσώρευση μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο και σύνδεση ουδετεροφίλων πάνω στην ενδοθηλιακή επιφάνεια. Δ. Στο στάδιο αυτό ο συμπαγής πλέον αιμοπεταλιακός θρόμβος είναι αδιάβροχος και η πολυκυτταρική του σύνθεση προκαλεί αλλοίωση των βιοχημικών του ιδιοτήτων. Τα περιεχόμενα, ακέραια και μεταβολικά ενεργά, ερυθρά αιμοσφαίρια δρουν προθρομβωτικά προκαλώντας την απελευθέρωση δραστικών ουσιών από τα αιμοπετάλια, η δράση τους αυτή δεν αναστέλλεται από την ασπιρίνη. Σε στενή επαφή με τα αιμοπετάλια βρίσκονται και τα ουδετερόφιλα, η επαφή αυτή είναι αποτέλεσμα της δράσης της αιμοπεταλιακής γλυκοπρωτεΐνης P-σελεκτίνης πάνω σε ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια των ουδετεροφίλων. Τα ουδετερόφιλα μειώνουν την ένταση της εκκριτικής λειτουργίας των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και με αυτό το τρόπο ασκούν μια αντιθρομβωτική δράση. Καθώς ο θρόμβος σχηματίζεται, ένας άγνωστος παράγοντας δίνει έναρξη στην ινοδωλυτική αλληλουχία δηλ. την απελευθέρωση ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (TPA) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

δ) Τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα:

Τα φάρμακα αυτά χορηγούνται σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο (στηθάγχη, έμφραγμα, αγγειοπλαστική), με φλεβικά αορτοστεφανιαία μωσχεύματα, με προσθετικές βαλβίδες και με ιστορικό αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων. Σε κάθε μία από τις παραπάνω κλινικές καταστάσεις έχει αποδειχθεί η συμμετοχή των αιμοπεταλίων στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό.^{47,48}

Τέσσερα βασικά προβλήματα καθιστούν δύσκολη την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας: 1) η απουσία σαφών κατευθυντήριων οδηγιών σε σχέση με τις κλινικές εκείνες καταστάσεις στις οποίες μια τέτοια θεραπεία θα πρόσφερε ένα πιθανό όφελος, 2) η ανομοιογένεια των κλινικών μελετών πάνω στις οποίες θα πρέπει να στηριχθεί μια τέτοιου είδους θεραπεία, 3) η έλλειψη συσχέτισης ανάμεσα στην εργαστηριακή και στη κλινική αντιαιμοπεταλιακή δράση των παραγόντων

αυτών και τέλος 4) η αδυναμία ανεύρεσης φαρμάκων που να αναστέλλουν πλήρως το σχηματισμό θρόμβου.

Το ιδανικό αντισταμοπεταλιακό φάρμακο που δεν έχει βρεθεί ακόμα θα πρέπει να ελαττώνει την αρτηριακή θρόμβωση και εμβολή χωρίς να προκαλεί αιμορραγίες ή άλλες ανεπιθύμητες παρενέργειες.

δ1) Οι αναστολείς της κυκλο-οξυγενάσης:

Στην ομάδα αυτή περιλαμβάνονται η ασπιρίνη και άλλοι μη στεροειδείς αντιφλεγμονώδεις παράγοντες όπως η ινδομεθακίνη, η σουλφυνπυραζόνη και η ιβοπρουνφένη. Ειδικά η ασπιρίνη, προκαλεί μη αναστρέψιμη αναστολή της κυκλο-οξυγενάσης. Στο βαθμό που το αιμοπετάλιο δεν μπορεί να συνθέσει νέες ποσότητες ενζύμου μια και μόνο δόση ασπιρίνης είναι αρκετή για αντισταμοπεταλιακή δράση διάρκειας 5 έως 7 ημερών. Έχει βρεθεί ότι μικρές δόσεις ασπιρίνης της τάξεως των 20 έως 100 mg ημερησίως είναι επαρκείς για την αναστολή παραγωγής θρομβοξάνης.⁴⁹ Οι υπόλοιποι αντισταμοπεταλιακοί παράγοντες διαθέτουν πολύ μικρότερη αντισταμοπεταλιακή ισχύ τόσο σε εργαστηριακό όσο και σε κλινικό επίπεδο.

δ2) Η διπυριδαμόλη:

Ο παράγοντας αυτός αναστέλλει την δράση της φωσφοδιεστεράσης και αυξάνει τα επίπεδα του κυκλικού AMP in vitro. Η κλινική της αποτελεσματικότητα είναι περιορισμένη.⁵⁰

δ3) Άλλοι αντισταμοπεταλιακοί παράγοντες:

i) Οι εκλεκτικοί αναστολείς της συνθετάσης της θρομβοξάνης (π.χ. η δαζοξιβένη), σχεδιάστηκαν με σκοπό να ξεπεραστεί το πρόβλημα που δημιουργεί η ασπιρίνη αναστέλλοντας τόσο την σύνθεση της θρομβοξάνης όσο και της προστακυκλίνης. Δυστυχώς οι ουσίες αυτές προκαλούν αύξηση

των επιπέδων προσταγλανδίνης και άλλων ουσιών προδρόμων της θρομβοξάνης με αποτέλεσμα να προκαλούν τελικά ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.⁵¹

ii) Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων της θρομβοξάνης, βρίσκονται προς το παρόν σε εργαστηριακή μελέτη και δεν έχουν ακόμα δοκιμασθεί σε κλινικό επίπεδο.

iii) Οι ανασταλτικές προσταγλανδίνες (PGD₂) χορηγούνται δοκιμαστικά σε φυσιολογικούς εθελοντές και δεν έχουν περάσει σε κλινική χρήση ακόμα.

iv) Η τικλοδιπίνη είναι ένας αναστολέας των αιμοπεταλίων με ασαφή προς το παρόν μηχανισμό δράσης. Προάγει τη τάση για αιμορραγία και την απάντηση των αιμοπεταλίων σε συσσωρευτικούς παράγοντες μέσω αλλοίωσης της απάντησης της μεμβράνης σε διάφορους ενεργοποιητές αυτής.⁵²

v) Η αμπσιξιμάμπη είναι το Fab τμήμα του χιμαιρικού μονοκλωνικού αντισώματος 7E3. Δεσμεύει τον γλυκοπρωτεϊνικό υποδοχέα IIb/IIIa ο οποίος βρίσκεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Με τον τρόπο αυτό αναστέλλεται η σύνδεση του παράγοντα von Willebrand και άλλων παραγόντων (5HT, Epi, PAF, ADP, TXA₂, αγγειοτενσίνη, κολλαγόνο) στον υποδοχέα IIb/IIIa των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Επίσης δεσμεύει τον υποδοχέα βιτρονεκτίνης ($\alpha_v\beta_3$) που βρίσκεται στα αιμοπετάλια και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο υποδοχέας βιτρονεκτίνης μεσολαβεί στις ιδιότητες προ-πήξης των αιμοπεταλίων και τις ιδιότητες των φλεβικών ενδοθηλιακών τοιχωματικών κυττάρων και λείων μυϊκών κυττάρων. Σε κλινικές μελέτες η αμπσιξιμάμπη έχει δείξει σημαντικά αποτελέσματα στην μείωση των θρομβωτικών

επιπλοκών των στεφανιαίων αγγειοπλαστικών επεμβάσεων όπως αγγειοπλαστική με μπαλόνι, αθηρεκτομή και τοποθέτηση stent.^{52α,β,γ,δ,ε}

ν) Άλλοι παράγοντες που βρίσκονται κάτω από κλινικό ή εργαστηριακό έλεγχο: Αναστολείς του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF),⁵³ πεπτιδία αναστέλλοντα την δράση του ινωδογόνου,⁵⁴ γνωστοί ήδη από άλλες δράσεις τους παράγοντες όπως ανταγωνιστές των διαύλων ασβεστίου,⁵⁵ νιτρώδη⁵⁶ κλπ.

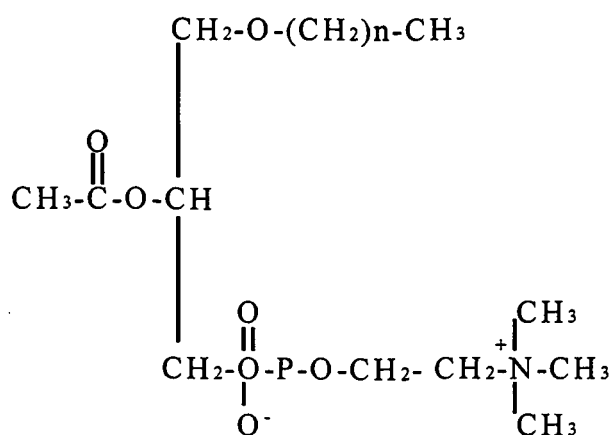
IV. Ο ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

(Platelet Activating Factor - PAF).

α) Η δομή του PAF:

Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF: 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη ή 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-GPC) είναι ένας ισχυρός βιολογικός διαμεσολαβητής της φλεγμονής με δράση σε ένα μεγάλο αριθμό κυττάρων και ιστών.^{58,59,60} **(ΕΙΚ.**

IVα)



ΕΙΚΟΝΑ IVα. Η δομή του PAF. Η βιολογική δραστηριότητα του φωσφολιπιδιού PAF μπορεί να ελαττωθεί κατά πολύ αν αλλοιωθεί μία από τις συστατικές του ομάδες. Κρίσιμα συστατικά που ευθύνονται για την βιολογική δράση του PAF είναι α) μία αλκοόλη με 16 ή 18 άνθρακες συνδεδεμένη με αιθερικό δεσμό στη θέση sn-1, β) ένα οργανικό οξύ βραχείας αλυσού και γ) μία φωσφοχολίνη.

Το φωσφολιποειδές αυτό εντοπίσθηκε στο αίμα κουνελιών στα οποία είχε προκληθεί αναφυλαξία και παρατηρήθηκε ότι είχε την ιδιότητα να ενεργοποιεί προς συσσώρευση τα αιμοπετάλιά τους. Για το λόγο αυτό ονομάστηκε Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF). Στη πραγματικότητα όμως με το όνομα αυτό περιγράφεται μία μόνο από τις πολυάριθμες δράσεις του.

Ανάμεσα στις υπόλοιπες δράσεις συμπεριλαμβάνονται η ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων, η αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και η πρόκληση σημαντικών αιμοδυναμικών μεταβολών. Για τον λόγο αυτό ο PAF θεωρείται σαν διαμεσολαβητής που εμπλέκεται σε πολλές φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες. Οι προφλεγμονώδεις και προθρομβωτικές ιδιότητες που διαθέτει αποτελούν κεντρικό μηχανισμό στα σύνδρομα που αναγράφονται στον **ΠΙΝΑΚΑ IVα-σελ 50**.

Παθολογικές καταστάσεις που αφορούν τα αγγεία όπως τα πρώιμα στάδια της αθηρογένεσης, η βλάβη από επαναιμάτωση, η επανόρθωση μετά από έμφραγμα διαθέτουν σαν κοινό χαρακτηριστικό το φλεγμονώδες στοιχείο και επομένως σε αυτές εμπλέκεται και ο PAF. Εμπλοκή του παρατηρείται και στη θρόμβωση που αποτελεί το κοινό υπόστρωμα τόσο στην αθηρογένεση όσο και στην ισχαιμία αλλά και στο έμφραγμα.

ΠΙΝΑΚΑΣ IVα

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ PAF ΩΣ ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΗΤΗ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ.

A. Πιθανοί φυσιολογικοί ρόλοι του PAF

1. Διάμεση ουσία φυσιολογικής φλεγμονώδους αντίδρασης
 - α) Διακυτταρική επικοινωνία
 - β) Φλεγμονώδης κυτταρική ενεργοποίηση
 2. Σύνδεσμος ανάμεσα στην φλεγμονώδη και στην πηκτική απάντηση
 3. Διατήρηση της φυσιολογικής αρτηριακής πίεσης
 4. Εναρξη του τοκετού
 5. Συμμετοχή στην ωρίμανση του εμβρυϊκού πνεύμονα
-

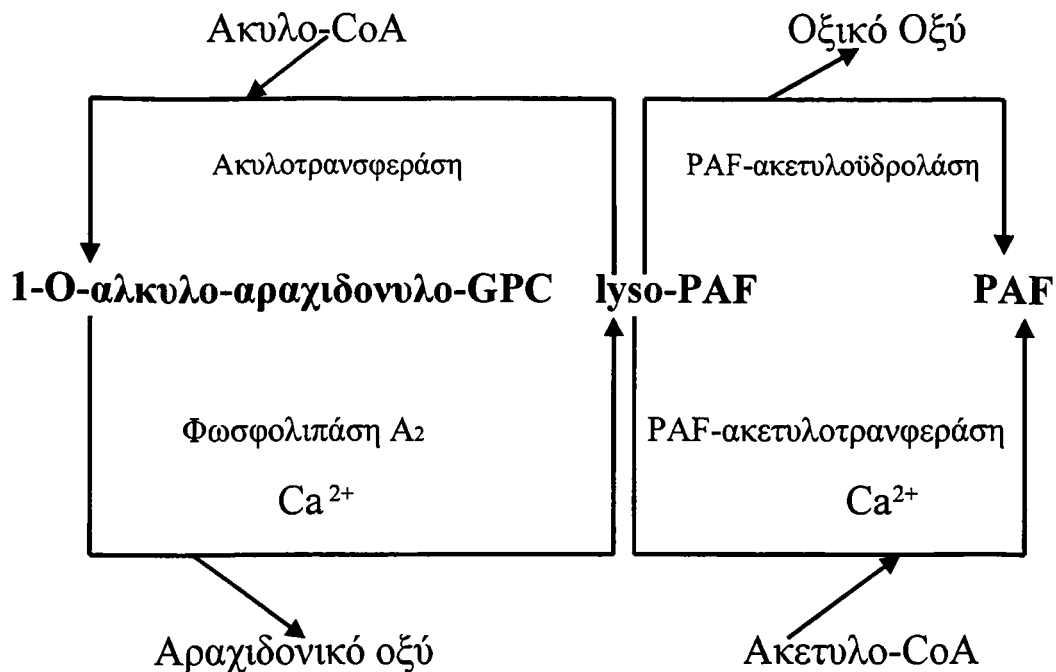
B. Παθολογικές καταστάσεις στις οποίες ο PAF πιθανά έχει κάποιο ρόλο

1. Σόκ
 - α) σηπτικό
 - β) αναφυλακτικό
 - γ) αιμορραγικό
2. Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας των ενηλίκων (ARDS)
3. Αθηροσκλήρωση
4. Θρόμβωση
5. Αγγειακή φλεγμονή
6. Βλάβη απο επαναιμάτωση συμπεριλαμβάνεται και το φαινόμενο μη αποκατάστασης της ροής (non reflow)
7. Γαστροδωδεκαδακτυλικό έλκος
8. Μετσχαιμική εγκεφαλική ισχαιμία
9. Σπειραματονεφρίτις
10. Ασθμα
11. Αλλεργία
12. Κνίδωση προκαλούμενη από το κρύο

β) Η σύνθεση του PAF:

Εχουν περιγραφεί δύο ενζυμικές πορείες βιοσύνθεσής του : β1) Πορεία με αναδιαμόρφωση (*remodeling pathway*): Περιλαμβάνει τη δομική τροποποίηση των γλυκερινεθαιρικών φωσφολιπιδίων που προϋπάρχουν σαν συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών. β2) Πορεία βιοσύνθεσης από την αρχή (*de novo pathway*) των γλυκερινεθαιρικών αναλόγων.

β1) Πορεία με αναδιαμόρφωση (*remodeling pathway*): Είναι η κύρια πορεία βιοσύνθεσης του PAF από διεγερμένα φλεγμονώδη κύτταρα και προϋποθέτει την ύπαρξη ελεύθερου ασβεστίου. Η κυτταρική διέγερση προκαλεί την ενεργοποίηση μιας ενδοκυττάριας φωσφολιπάσης A_2 (PLA₂), η οποία παρουσία Ca^{++} , υδρολύει τη μεγάλη λιπαρή ακυλομάδα από την ενδοκυττάρια 1-O-αλκυλο-2-ακυλο-GPC προς παραγωγή 1-O-αλκυλο-2-λυσοGPC (lyso-PAF). Ο lyso-PAF που παράγεται μπορεί να ακολουθήσει δύο πορείες: είτε επανακυλιώνεται με την δράση μιας ακυλοτρανσφεράσης⁶¹ είτε ακετυλιώνεται με την δράση μιας ακετυλοτρανσφεράσης προς σχηματισμό PAF⁶². Η δράση τόσο της ακυλοτρανσφεράσης όσο και της ακετυλοτρανσφεράσης εξαρτώνται από την ύπαρξη του συνενζύμου A (CoA). Επειδή οι μακρές λιπαρές αλυσίδες στην θέση sn-2 των 1-O-αλκυλο-2-ακυλο-GPC είναι συνήθως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) και κύρια αραχιδονικό οξύ, η βιοσύνθεση του PAF με τη παραπάνω πορεία συνοδεύεται από απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος που είναι η πρόδρομη ένωση για την παραγωγή μιας άλλης ομάδας βιοδραστικών μορίων, των εικοσανοειδών. (ΕΙΚ. IVβ-σελ. 52)

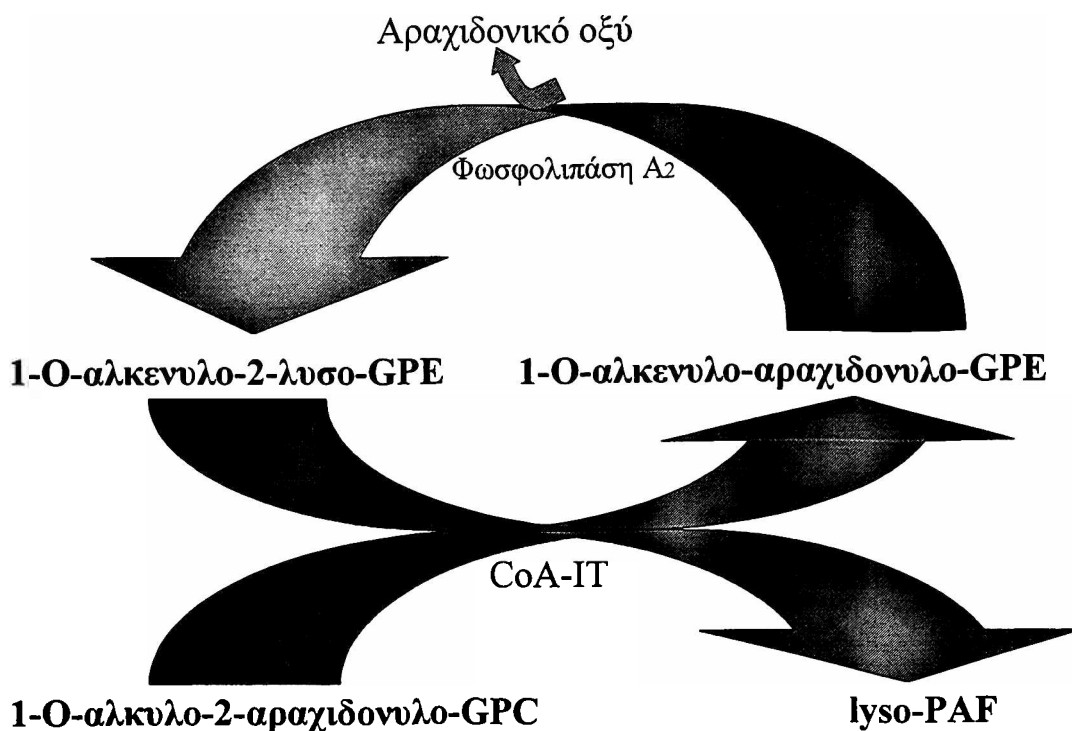


ΕΙΚΟΝΑ IVβ: Πορεία βιοσύνθεσης του PAF με ανάπλαση (remodeling pathway)

Τελευταίες παρατηρήσεις δείχνουν ότι το αρχικό στάδιο της πορείας βιοσύνθεσης του PAF με αναδιαμόρφωση δεν είναι η απλή υδρόλυση των γλυκεθαιρινικών φωσφολιπιδίων από την PLA₂ αλλά συνδυασμός δύο ενεργοτήτων, της PLA₂ και μιας ανεξάρτητης CoA τρανσακυλάσης (CoA-IT). (ΕΙΚ. IVγ-σελ. 52)

Οι PLA₂ από διάφορους ιστούς που έχουν μελετηθεί ως σήμερα δείχνουν εξειδίκευση για φωσφολιπίδια που έχουν αραχιδονικό οξύ στη θέση sn-2 ενώ δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη εξειδίκευση για το είδος του δεσμού στη θέση sn-1 και το είδος της πολικής ομάδας στη θέση sn-3 αφού υδρολύουν το ίδιο καλά τη φωσφατιδυλοχολίνη (PC) και τη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη (PE). Παρ'όλο αυτά δεν υπάρχουν στοιχεία που να συνδέουν άμεσα αυτές τις PLA₂ με τη βιοσύνθεση του PAF. Αντίθετα έχει δειχθεί ότι ο lyso-PAF παράγεται από τις 1-ο-αλκυλο-2-αραχιδονυλο-GPC με τη δράση μιας CoA-IT, που υπάρχει στα ανθρώπινα λευχαιμικά κύτταρα (HL-60)^{63,64} τα ουδετερόφιλα⁶⁵⁻⁶⁹,

τα σιτευτικά κύτταρα (mast cells)⁷⁰ και σε διαφόρους ιστούς ποντικού⁶⁴. Οι μελέτες αυτές έδειξαν καθαρά ότι για να σχηματισθεί δια μέσου της CoA-IT, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η ύπαρξη αραχιδονικού ή άλλου πολυακόρεστου λιπαρού οξέος στη θέση sn-2 της πρόδρομης 1-O-αλκυλο-2-ακυλο-GPC. Η σύνδεση της CoA-IT με τη βιοσύνθεση του PAF έγινε φανερή με πειράματα όπου ο lyso-PAF, που παράγεται δια μέσου της CoA-IT, μετατρέπεται άμεσα σε PAF, παρουσία ακετυλο-CoA, με τη δράση της εξαρτώμενης από το ακετυλο-CoA PAF-ακετυλοτρανσφεράσης⁶³⁻⁶⁵.



ΕΙΚΟΝΑ IVγ: Παραγωγή lyso-PAF με συνδυασμό δράσεων της PLA₂ και της CoA-IT.

Επίσης η ικανότητα της CoA-IT να παράγει 1-ακυλο- και 1-O-αλκενυλο-2-λυσσο-GPC δείχνει ότι η τρανσακυλίωση μπορεί να είναι επίσης ο κύριος μηχανισμός για την παραγωγή του 1-ακυλο-PAF και του 1-O-αλκενυλο-PAF κατά την διέγερση των κυττάρων.

Οποιοδήποτε 2-λυσωφωσφολιπίδιο περιέχει χολίνη ή αιθανολαμίνη μπορεί να αποτελέσει μόριο δέκτη για τη μεταφορά αραχιδονικού οξέος από τις 1-O-αλκυλο-2-αραχιδονυλο-GPC με τη δράση της CoA-IT. Αντίθετα άλλα γλυκερινικά λιπίδια με ελεύθερες υδροξυλομάδες (λυσωφωσφατιδυλοσερίνη, λυσωφωσφατιδυλοϊνοσιτόλη, διακυλογλυκερόλες και μονοακυλογλυκερόλες), η χοληστερόλη, η PC και η PE δεν αποτελούν μόρια δέκτες της ακυλομάδας. Επίσης αν η θέση sn-2 δεν περιέχει ελεύθερη υδροξυλομάδα το μόριο δεν δρα ως δέκτης⁶⁷. Τουλάχιστον στα ανθρώπινα ουδετερόφιλα το κύριο λυσωφωσφολιπίδιο που αποτελεί το υπόστρωμα της CoA-IT για το σχηματισμό lyso-PAF φαίνεται να είναι η 1-O-αλκενυλο-2-λυσω-sn-γλυκερο-3-φωσφοαιθανολαμίνη (1-O-αλκενυλο-2-λυσω-GPE), που προέρχεται από την 1-O-αλκενυλο-2-ακυλο-GPE^{65,71} όταν αυτή υδρολυθεί και από την PLA₂. **(ΕΙΚ. IVγ-σελ. 53)** Έτσι όταν τα ουδετερόφιλα δειγερθούν παρατηρείται απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος σχεδόν αποκλειστικά από την 1-O-αλκενυλο-2-αραχιδονυλο-GPE⁷², που σαν αποτέλεσμα έχει την παραγωγή 1-O-αλκενυλο-2-λυσω-GPE⁶⁵.

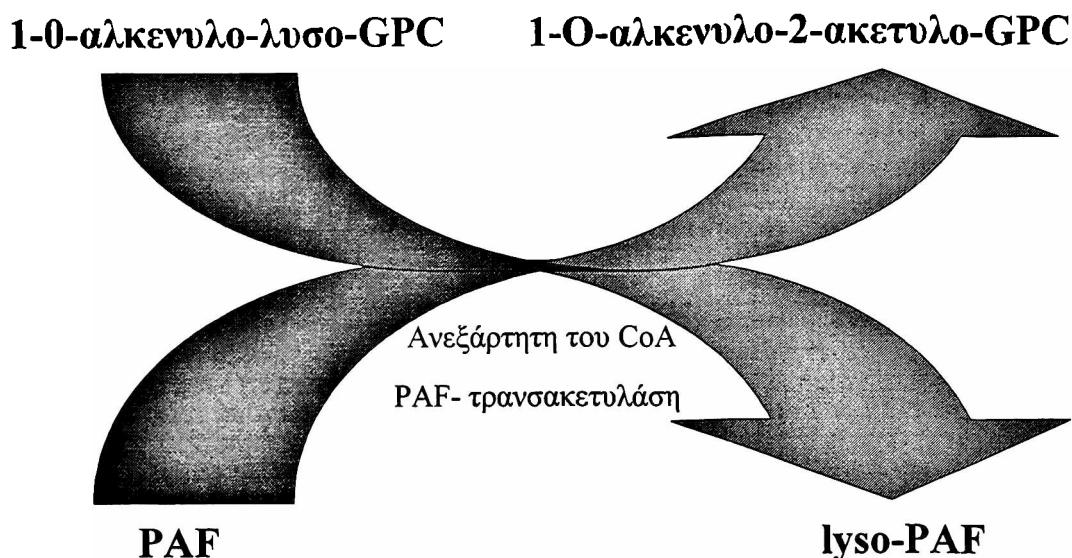
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως ο lyso-PAF, που σχηματίζεται από τη δράση της CoA-IT, μπορεί να επανακυλιωθεί με αραχιδονικό οξύ. Έχει δειχθεί ότι η επανακυλίωση του lyso-PAF προκαλείται από την ίδια την CoA-IT. Η 1-O-αλκενυλο-2-λυσω-GPE, που προκαλεί τον σχηματισμό του lyso-PAF από την CoA-IT, δρα συναγωνιστικά στην επανακυλίωση του lyso-PAF⁶⁸.

Όπως συμβαίνει και με τα υπόλοιπα βιοσυνθετικά ένζυμα του μεταβολισμού του PAF, η CoA-IT βρίσκεται συνδεδεμένη στις μεμβράνες. Πάντως δεν είναι ακόμα γνωστό κατά πόσο οι ενεργότητες που είναι υπεύθυνες για την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος από την 1-ο-αλκυλο-2-αραχιδονυλο-

GPC, την μεταφορά του στην 1-O-αλκενυλο-2-λυσσο-GPE και την επανακυλίωση του lyso-PAF προέρχονται από το ίδιο ένζυμο ή διαφορετικό. Τα χαρακτηριστικά της CoA-IT παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ειδικά στα ανθρώπινα ουδετερόφιλα και στα HL-60, όπου η δράση της έχει συνδεθεί με την παραγωγή του lyso-PAF και του PAF^{63,65,67,73}. Έτσι τα πειραματικά δεδομένα και από τα δύο κυτταρικά συστήματα δείχνουν πως η ενεργότητα της τρανσακυλάσης (απακυλίωση της 1-O-αλκυλο-2-αραχιδονυλο-GPC και επανακυλίωση του lyso-PAF) δεν απαιτεί ύπαρξη Ca^{2+} . Η ενεργότητα της CoA-IT δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων με Ca^{2+} αλλά η καταλυτική δράση αυξάνει παρουσία λυσοφωσφολιπιδίων που παράγονται από την PLA₂. Έχουν ήδη περιγραφεί PLA₂ που είναι εξειδικευμένες για τα πλασμαλογόνα της PC και της PE. Τέλος οι ενεργότητες που είναι υπεύθυνες για την απακυλίωση της 1-O-αλκυλο-2-αραχιδονυλο-GPC και την επανακυλίωση του lyso-PAF αποκλείονται παράλληλα από τους ίδιους αναστολείς και ανταποκρίνονται το ίδιο στην θερμική απενεργοποίηση, γεγονός που ενισχύει την πιθανότητα οι δύο ενεργότητες να προέρχονται από το ίδιο ένζυμο το οποίο εμπλέκεται και στις δύο αντιδράσεις⁶⁷.

Πρόσφατα αναφέρθηκε η ύπαρξη μιας νέας ανεξάρτητης από το CoA PAF-τρανσακετυλάσης, που χρησιμοποιεί τον PAF ως δότη της οξικής ομάδας και μια πλειάδα λυσοφωσφολιπιδίων ή λιπαρών αλκοολών σαν μόρια δέκτες⁷⁴. **(ΕΙΚ. IVδ-σελ. 56)** Οι αλκυλογλυκερόλες, οι ακυλογλυκερόλες και η χοληστερόλη δεν αποτελούν δέκτες της οξικής ομάδας. Σε συγκριτικές μελέτες της ακετυλοτρανσφεράσης και της PAF-τρανσακετυλάσης βρέθηκε ότι η τελευταία συμμετέχει στην κύρια πορεία βιοσύνθεσης του 1-ακυλο-PAF και

του 1-O-αλκενυλο-PAF⁷⁴. (ΕΙΚ. IVδ) Η σημασία της ανεξάρτητης από το CoA PAF-τρανσακετυλάσης στο σχηματισμό 1-O-αλκενυλο-PAF in vivo φαίνεται από το γεγονός ότι επώαση ενεργοποιημένων HL-60 κυττάρων με [³H] PAF είχε σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση [³H]οξικών ομάδων στον 1-O-αλκενυλο-PAF.

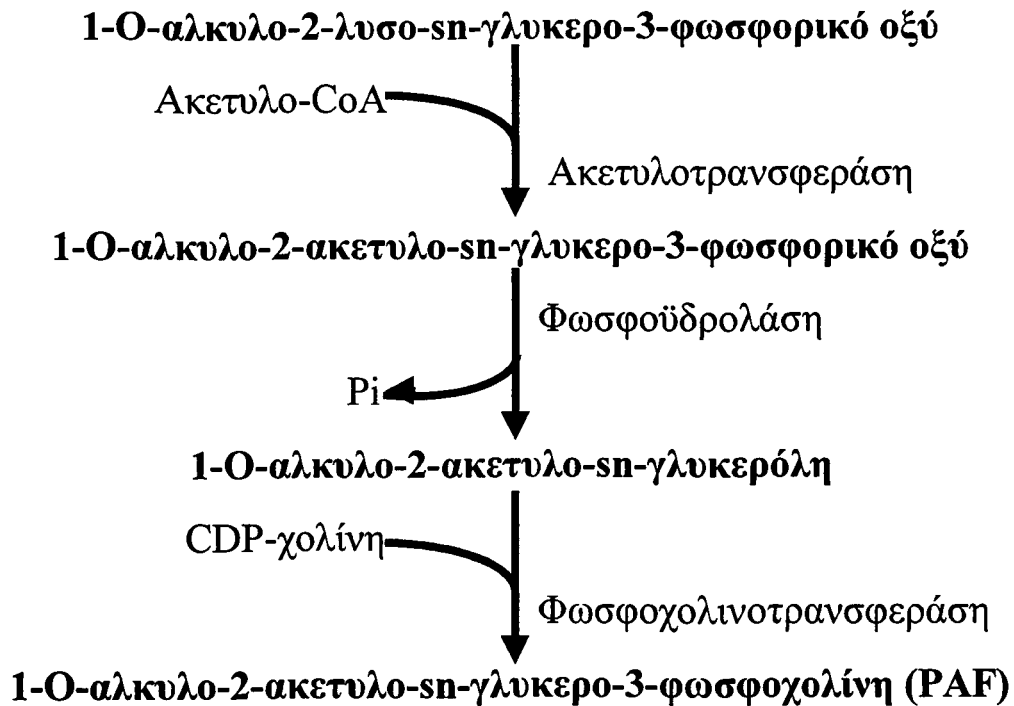


ΕΙΚΟΝΑ IVδ. Μεταφορά οξικής ομάδας από τον PAF με τη δράση της ανεξάρτητης από το CoA PAF-τρανσακετυλάσης.

Δεν παρατηρήθηκε το ίδιο όταν τα κύτταρα επωάστηκαν με ελεύθερες [³H]οξικές ομάδες. Οι ιδιότητες της ανεξάρτητης από το CoA PAF-τρανσακετυλάσης διαφέρουν από αυτές της CoA-IT στο ότι η πρώτη παρουσιάζει ευρύτερο φάσμα υποστρωμάτων δεκτών της μεταφερόμενης ομάδας ενώ ενεργοποιείται ελαφρά από το PMSF. Επίσης οι δύο ενεργότητες διαφέρουν ως προς την ευαισθησία τους στη θερμοκρασία. Όλα αυτά δείχνουν πως οι δύο ενεργότητες αντιστοιχούν σε δύο διαφορετικά ένζυμα. Έχει επίσης αναφερθεί ότι η απομονωμένη από το ανθρώπινο πλάσμα λεκιθινο-χοληστερολική ακυλοτρανσφεράση (Lecithin-Cholesterol

Acyltransferase, LCAT), το ένζυμο που καταλύει τη μεταφορά λιπαρών αλυσίδων από την PC στη χοληστερόλη, μπορεί επίσης να καταλύει τη μεταφορά της οξικής ομάδας από τον PAF στην lyso PC⁷⁵. Οι ενεργότητες της LCAT και της ανεξάρτητης από το CoA PAF-τρανσακετυλάσης φαίνεται να αντιστοιχούν σε δύο διαφορετικά ένζυμα αφού η PAF-τρανσακετυλάση είναι ενδοκυττάρια, έχει μικρότερη μοριακή μάζα και δεν μεταφέρει ούτε μεγάλες ακυλομάδες ούτε οξικές ομάδες από την PC στη χοληστερόλη. Επίσης η ανεξάρτητη από το CoA PAF-τρανσακετυλάση δεν αναστέλλεται από το PMSF ενώ εμφανίζει ευρύτερο φάσμα λιπιδίων αποδεκτών της μεταφερόμενης ομάδας⁷⁴.

β2) Πορεία βιοσύνθεσης του PAF εξ αρχής (de novo pathway): Η πορεία αυτή εμφανίζεται στους διάφορους ιστούς χωρίς να απαιτείται ενεργοποίηση. Οι μικρές ποσότητες PAF, που υπάρχουν φυσιολογικά στα κύτταρα, πιστεύεται ότι σχηματίζονται μέσω αυτής της πορείας. Η πορεία αρχίζει από το 1-Ο-αλκυλο-2-λυσω-sn- γλυκερο-3-φωσφορικό οξύ το οποίο ακετυλιώνεται στη θέση sn-2 με τη δράση της ακετυλο-CoA-τρανσφεράσης. **(ΕΙΚ. IVε-σελ. 58)**⁷⁷ Ακολουθεί φωσφορόλυση στη θέση sn-3 του γλυκερινικού σκελετού με την δράση της φωσφοϋδρολάσης του 1-Ο-αλκυλο-2-ακετυλο-sn- γλυκερο-3-φωσφορικού οξέος^{76,78}. Τέλος με τη δράση της φωσφοχολινοτρανσφεράσης μεταφέρεται η ομάδα της φωσφοχολίνης στη θέση sn-3 και ολοκληρώνεται η εξ αρχής πορεία βιοσύνθεσης του ενζύμου. Με αυτό τον τρόπο πιστεύεται ότι παράγονται συνεχώς μικρές ποσότητες PAF σε ιστούς όπως οι νεφροί με σκοπό να εξυπηρετηθούν ορισμένες βασικές λειτουργίες.



ΕΙΚΟΝΑ IVε. Η πορεία βιοσύνθεσης του PAF εξ αρχής (de novo pathway).

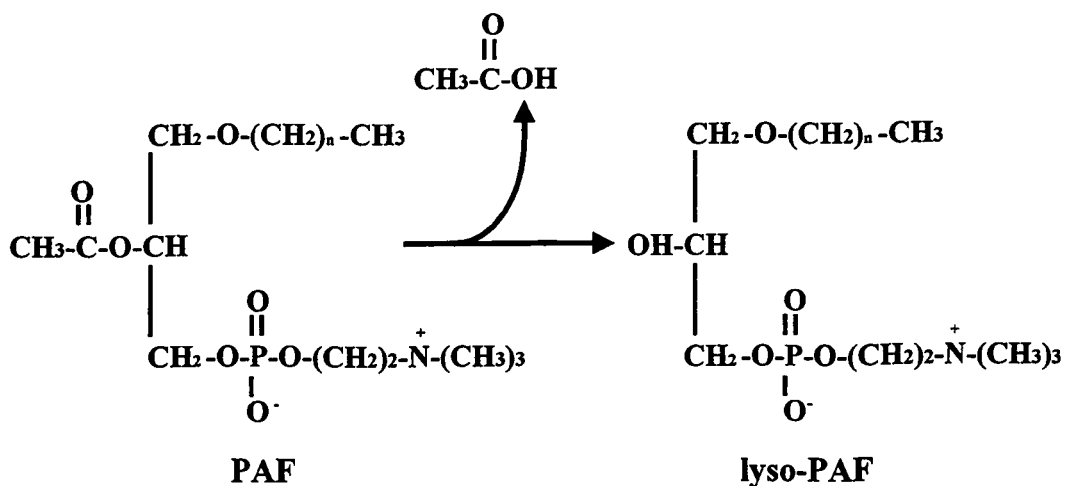
γ) Η αποικοδόμηση του PAF:

Η αποικοδόμηση του PAF γίνεται κυρίως με τη δράση ενός υψηλής εξειδίκευσης ενζύμου της PAF-ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH). (ΕΙΚ. IVβ-σελ. 52, IVστ-σελ. 60) Το ένζυμο αυτό εντοπίζεται, με διάφορες ισομορφές, σε πολλά κύτταρα και ιστούς^{79,80} καθώς και στο πλάσμα συνδεδεμένο πάνω στις λιποπρωτεΐνες^{81,82}. Αποτέλεσμα της δράσης της PAF-AH στον PAF είναι η υδρόλυση της ακετυλομάδας από τη θέση sn-2. (ΕΙΚ. IVστ-σελ. 60) Ο lyso-PAF που παράγεται είναι βιολογικά αδρανής αλλά εμφανίζει κυτταροτοξική δράση λόγω των γενικών απορρυπαντικών ιδιοτήτων των λυσοφωσfolιποειδών. Ο lyso-PAF μπορεί να επανακυλιωθεί και να ενσωματωθεί πάλι στη κυτταρική μεμβράνη με έναν από τους παρακάτω τρόπους: με τη δράση μιας CoA-εξαρτημένης ακυλοτρανσφεράσης, ή μιας

CoA-εξαρτημένης τρανσακυκλάσης ή με την δράση της CoA-IT^{83,84}. Εναλλακτικά η απενεργοποίηση του PAF και των δομικών του αναλόγων μπορεί να γίνει με τη δράση της ανεξάρτητης από το CoA PAF-τρανσακετυλάσης, της PLA₂ καθώς και μιας σειράς άλλων φωσφολιπασών που υπάρχουν στα φλεγμονώδη κύτταρα.

Η PAF-AH του ανθρώπινου πλάσματος είναι μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους περίπου 44 kD, η κυτταρική προέλευση της οποίας παραμένει ακόμα αδιευκρίνιστη. Κατανέμεται κύρια στην LDL (70%) και δευτερευόντως στην HDL (30%)^{81,82}. Η κατανομή αυτή είναι δυναμική και εξαρτάται από το pH. Έτσι σε pH 6.0 παρατηρείται μεταφορά της PAF-AH από την LDL στην HDL, ενώ σε pH 7.4 γίνεται το αντίστροφο. Η PAF-AH παρουσιάζει μεγάλη εξειδίκευση ως προς τη δομή των φωσφολιπιδίων που υδρολύει. Χρησιμοποιεί ως υποστρώματα φωσφολιπίδια που έχουν στη θέση sn-2 μικρή ακυλομάδα, με ιδιαίτερη προτίμηση στην οξική ομάδα. Η ύπαρξη προπιονικής ή βουτυρικής ομάδας στη θέση sn-2 των φωσφολιπιδίων, έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της ταχύτητας υδρόλυσης κατά 95 και 98% αντίστοιχα. Αντίθετα οι PC με μεγάλες λιπαρές αλυσίδες δεν αποτελούν υπόστρωμα για τη PAF-AH. Έτσι το ένζυμο μπορεί και κυκλοφορεί στο πλάσμα με την ενεργό μορφή του χωρίς να προκαλεί υδρόλυση των φωσφολιπιδίων των λιποπρωτεϊνών και των βιολογικών μεμβρανών. Ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό της PAF-AH είναι η ικανότητά της να υδρολύει φωσφολιπίδια που φέρουν στην θέση sn-2 οξειδωμένες λιπαρές αλυσίδες^{85,86}. Η ταχύτητα υδρόλυσης στη περίπτωση αυτή παραμένει υψηλή ακόμα και όταν οι οξειδωμένες λιπαρές αλυσίδες είναι σχετικά μεγάλου μήκους. Η PAF-AH δεν παρουσιάζει ιδιαίτερη ειδίκευση ως προς το είδος του

δεσμού στη θέση sn-1, αφού υδρολύει το ίδιο γρήγορα φωσφολιπίδια με εστερικό ή αιθερικό δεσμό. Αντίθετα δείχνει να προτιμά την ύπαρξη χολίνης σαν πολική ομάδα στη θέση sn-3 των φωσφολιπιδίων, αφού η σταδιακή αφαίρεση μεθυλομάδων από τη χολίνη έχει σαν αποτέλεσμα τη σταδιακή μείωση της ενεργότητας της PAF-AH. Πρόσφατα έγινε δυνατή η κλωνοποίηση του cDNA που κωδικοποιεί την παραγωγή της PAF-AH. Μέσα από τις εργασίες αυτές έγινε κατανοητό ότι η PAF-AH σχετίζεται περισσότερο με τις λιπάσες και τις εστεράσες παρά με τις κλασικές PLA₂.



ΕΙΚΟΝΑ IVστ. Υδρόλυση του PAF από την PAF-ακετυλοϋδρολάση

δ) Η ετερογένεια του PAF:

Μετά την αναγνώριση της δομής του PAF, σαν 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-GPC, αναγνωρίστηκαν δύο μοριακά είδη PAF σαν προϊόντα που εκκρίνονται από διεγερμένα με αντιγόνο βασεόφιλα κύτταρα κουνελιών ευαισθητοποιημένων στην ανοσοσφαιρίνη E (IgE)⁸⁷. Τα μόρια αυτά

διαφέρουν μόνο στον αριθμό ατόμων άνθρακα στην αλκυλομάδα της θέσης sn-1 του γλυκερινικού σκελετού. Το ένα περιέχει 16 άτομα άνθρακα (C 16:0 PAF) και το άλλο 18 άτομα άνθρακα (C 18:0 PAF). Με τη χρήση βελτιωμένων αναλυτικών τεχνικών βρέθηκε ότι και πολλά άλλα διάφορα δομικά ανάλογα του PAF βιοσυντίθενται από τα ενεργοποιημένα κύτταρα και ιστούς. Η ύπαρξη της δομικής αυτής ποικιλίας στα μόρια που συνθέτουν την οικογένεια του PAF οφείλεται σε μεγάλο ποσοστό στο ευρύ φάσμα υποστρωμάτων που μπορούν να χρησιμοποιήσουν τα ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό του PAF. Για παράδειγμα η ενεργοποίηση της PLA₂, της πορείας βιοσύνθεσης του PAF με αναδιαμόρφωση, έχει σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό διαφόρων 2-λυσωφωσφολιπιδίων (1-O-αλκυλο-, 1-O-αλκενυλο-, και 1-O-ακυλο-φωσφολιπίδια). Τα 2-λυσωφωσφολιπίδια μπορούν να ακετυλιωθούν άμεσα από την PAF-ακετυλοτρανσφεράση, παρουσία ακέτυλο-CoA, παράγοντας έτσι διάφορα μοριακά είδη PAF. Κατ'αναλογία στην de novo πορεία βιοσύνθεσης του PAF η χολινοφωσφοτρανσφεράση μεταφέρει φωσφοχολίνη σε διάφορες 1-O-αλκυλο- και 1-O-ακυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερόλες οι οποίες παράγονται από τη δράση της φωσφοϋδρολάσης. Έτσι η ποικιλία στη μοριακή σύνθεση του PAF που βιοσυντίθεται από τα διάφορα κύτταρα και ιστούς ίσως αντανάκλα την ύπαρξη και/ή ενεργοποίηση διαφόρων αναβολικών ενζύμων που παρουσιάζουν ευελιξία ως προς τα υποστρώματα που χρησιμοποιούν. Η ενεργότητα αυτών των ενζύμων και η διαθεσιμότητα των αντιστοίχων υποστρωμάτων διαφέρουν από κύτταρο σε κύτταρο παρέχοντας έτσι μια ακόμα εξήγηση για την ετερογένεια του παραγόμενου PAF ανάμεσα σε διαφορετικά είδη και ιστούς. Η ύπαρξη ποικιλίας αναλόγων του PAF έχει μεγάλη σημασία αφού έχειδειχθεί ότι

οποιαδήποτε δομική αλλαγή του μορίου του PAF επιφέρει σημαντικές μεταβολές στη βιοδραστικότητά του και στην ικανότητά του να αποικοδομείται. Η γνώση μας γύρω από τις παθοφυσιολογικές δράσεις των διαφόρων μορφών PAF και ειδικότερα αυτού που παράγεται από τα φλεγμονώδη κύτταρα, είναι ελλιπής. Αυτό συμβαίνει γιατί στη πλειοψηφία των εργασιών για τον χαρακτηρισμό της βιολογικής δράσης του PAF χρησιμοποιούνται ένα ή το πολύ δύο είδη PAF, ο C16:0 και ο C18:0. Έτσι δεν λαμβάνονται υπόψη οι διαφορές στην ταχύτητα σύνθεσης και αποικοδόμησης των διαφόρων μοριακών ειδών του PAF που θα μπορούσε να επηρεάσει δραματικά το φυσιολογικό ή παθολογικό δυναμικό του συνολικά παραγόμενου PAF. Ο ανταγωνισμός, επίσης, στα διάφορα μόρια του PAF για τους υποδοχείς των κυττάρων στόχων ή για το ενεργό κέντρο της PAF-AH θα είχε προφανείς συνέπειες στα επακόλουθα βιολογικά γεγονότα.

ε) Οι βιολογικές δράσεις του PAF:

Ο PAF δεν προϋπάρχει στον οργανισμό υπο φυσιολογικές συνθήκες αλλά βιοσυντίθεται ταχύτατα από μια πλειάδα κυττάρων ιστών όταν αυτά για διάφορους λόγους διεγερθούν. Οι κυριότερες κυτταρικές πηγές του PAF είναι τα αιμοπετάλια, τα ουδετερόφιλα, τα λεμφοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μονοκύτταρα/μακροφάγα κ.α. Στις περισσότερες περιπτώσεις δεν είναι γνωστή η ακριβής δομή των μορίων του PAF που παράγονται κατά την ενεργοποίηση των κυττάρων. Ο PAF είναι ένας ισχυρότατος βιοδραστικός παράγοντας που μπορεί να δράσει ως αυτακοειδές αλλά και ως παρακρινικό μόριο. Αυτό σημαίνει ότι η δράση του δεν περιορίζεται μόνο στο κύτταρο που τον παράγει αλλά μπορεί να επεκταθεί και στα γειτονικά του κύτταρα. Οι

περισσότερες από τις δράσεις του PAF πάνω στα κύτταρα-στόχους διαμεσολαβούνται από ειδικούς υποδοχείς του PAF στην επιφάνεια των κυττάρων. Τέτοιοι υποδοχείς έχουν βρεθεί σε διάφορα είδη κυττάρων όπως τα αιμοπετάλια, τα λευκοκύτταρα, κ.α.^{88,89}, ενώ με χρήση ειδικών ανταγωνιστών του υποδοχέα του PAF βρέθηκε ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο είδη υποδοχέων^{90,91}. Η ενεργοποίηση παρουσία PAF in vitro προκαλεί μια σειρά από λειτουργικές διαφοροποιήσεις στα κύτταρα-στόχους, οι κυριότερες από τις οποίες συνοψίζονται στον ΠΙΝΑΚΑ IVβ.

ΠΙΝΑΚΑΣ IVβ.

ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ ΑΠΟ ΤΟΝ PAF

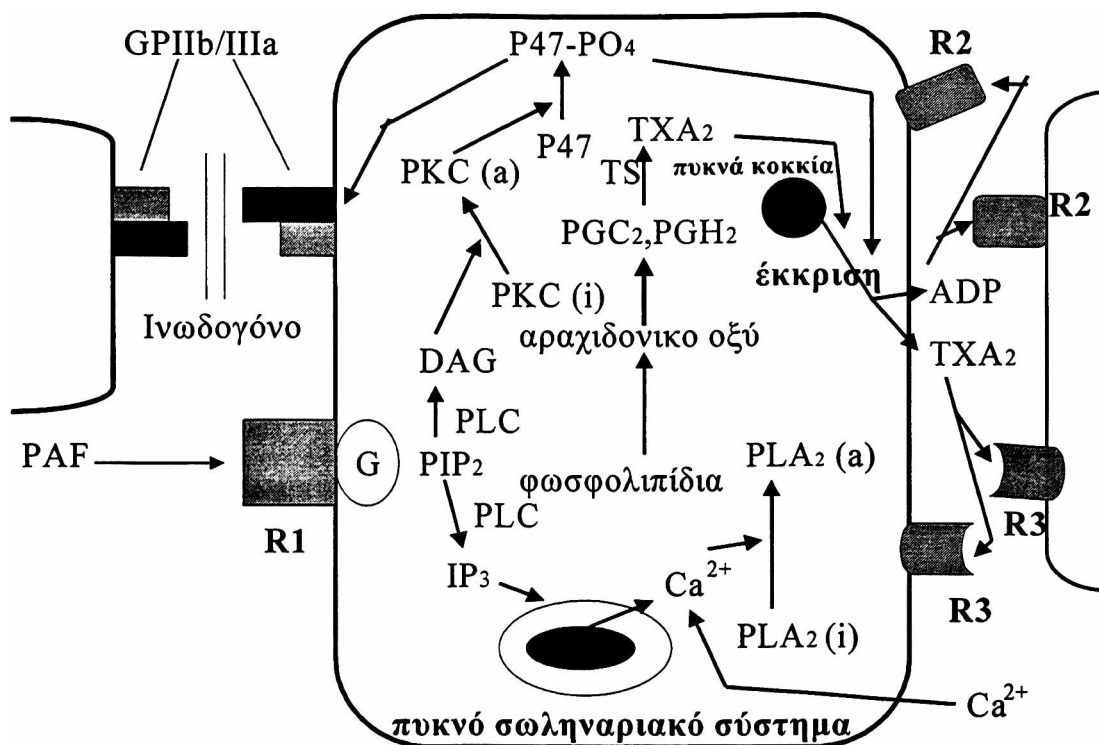
Τύπος κυττάρου	Απόκριση στην ενεργοποίηση με PAF
Αιμοπετάλια	Έκκριση, συσσώρευση, αύξηση ελεύθερου ενδοκυττάρου ασβεστίου, ενεργοποίηση του κύκλου PI, σύνθεση TX, φωσφορυλίωση μιοσίνης, αλλαγή σχήματος.
Ουδετερόφιλα	Αυξημένη προσκόλληση, συσσώρευση, αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου ασβεστίου, ενεργοποίηση του κύκλου του PI, σύνθεση LT, παραγωγή HETE, παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου, έκκριση λυσισωμικών ενζύμων, χημειοταξία.
Ηωσινόφιλα	Σύνθεση LT, παραγωγή ανιόντος υπεροξειδίου, χημειοταξία.
Μονοκύτταρα/Μακροφάγα	Χημειοταξία, αύξηση ελεύθερου ενδοκυττάρου ασβεστίου, σύνθεση TX και PG, παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου, διαφοροποίηση συσσώρευση, παραγωγή TNF, παραγωγή IL.
Ενδοθηλιακά κύτταρα	Αυξημένη προσκόλληση των αιμοπεταλίων και ουδετεροφίλων, έκκριση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, σύνθεση TX και PG, δομικές αλλαγές.
Λεία μυϊκά κύτταρα	Αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου ασβεστίου, ενεργοποίηση κύκλου PI, σύνθεση PG.

PI: φωσφοπυλοϊνοσίτης, TX: θρομβοξάνιο, LT: λευκοτριένιο, HETE: υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ, PG: προσταγλανδίνη, IL: ιντερλευκίνη.

Παρακάτω περιγράφεται ο μηχανισμός της πλέον κλασικής δράσης του PAF, της ενεργοποίησης δηλαδή των αιμοπεταλίων^{92,93}. Αποτέλεσμα της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων είναι η συσσώρευση των κυττάρων και η έκκριση στο περιβάλλον διαφόρων βιοδραστικών ουσιών από αυτά. Η ενεργοποίηση του αιμοπεταλίου αρχίζει αμέσως μετά την σύνδεση του PAF

στον ειδικό υποδοχέα του, που υπάρχει στην επιφάνεια του κυττάρου. **(ΕΙΚ. IVζ-σελ. 65)**. Η μεταφορά του σήματος στο εσωτερικό του κυττάρου επιτυγχάνεται μέσω μιας G-πρωτεΐνης, που είναι συνδεδεμένη με τον υποδοχέα του PAF. Η G-πρωτεΐνη προκαλεί την ενεργοποίηση μιας ενδοκυττάριας φωσφολιπάσης C (PLC). Η PLC καταλύει την υδρόλυση της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PIP₂) προς τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP₃) και διαγλυκερόλη (DAG). Η DAG προκαλεί την ενεργοποίηση της ενδοκυττάριας πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC). Η PKC φωσφορυλιώνει τη κυτοπλασματική πρωτεΐνη P47, συμβάλλοντας στην εμφάνιση στην επιφάνεια του ενεργοποιημένου αιμοπεταλίου του συμπλέγματος γλυκοπρωτεϊνών IIb/IIIa (GP IIb/IIIa). Το σύμπλεγμα αυτό αποτελεί υποδοχέα του ινωδογόνου και συμμετέχει ενεργά στην αλληλεπίδραση του αιμοπεταλίου με τα γειτονικά του κύτταρα. Η IP₃ προκαλεί τη κινητοποίηση των ιόντων Ca²⁺ από το πυκνό σωληναριακό σύστημα προς το κυτόπλασμα. Ταυτόχρονα τα ιόντα Ca²⁺ εισέρχονται στο κυτόπλασμα από τον εξωκυττάριο χώρο. Η αύξηση του ελεύθερου κυτοπλασματικού Ca²⁺ έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της ενδοκυττάριας PLA₂. Η PLA₂ υδρολύει τα μεμβρανικά φωσφολιπίδια ελευθερώνοντας αραχιδονικό οξύ. Το αραχιδονικό οξύ οξυγονώνεται με τη δράση της κυκλοξυγονάσης (CO) δίνοντας δύο ασταθή ενδιάμεσα ενδοϋπεροξειδία (PGG₂ και PGH₂), τα οποία στη συνέχεια μετατρέπονται σε θρομβοξανίο A₂ (TXA₂) με τη δράση της συνθετάσης του θρομβοξανίου (TS). Η μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε TXA₂ αναστέλλεται παρουσία ασπιρίνης, η οποία ακετυλιώνει τη σερίνη του ενεργού κέντρου της CO.

Το TXA_2 εκκρίνεται στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Παράλληλα το ενεργοποιημένο αιμοπετάλιο αλλάζει σχήμα, από δισκοειδές σε σφαιρικό, και εκκρίνει στο περιβάλλον το περιεχόμενο των ενδοκυττάρων κοκκίων του (α-κοκκία και πυκνά κοκκία). Τα πυκνά κοκκία αποτελούν μέρος αποθήκευσης του Ca^{2+} και του ADP. Το εκκρινόμενο ADP, σε συνεργασία με το εκκρινόμενο TXA_2 , συμβάλλουν στην περαιτέρω ενεργοποίηση του αιμοπεταλίου, αλλά και των γειτονικών αιμοπεταλίων, μέσω των ειδικών υποδοχέων τους στην επιφάνεια του κυττάρου. Ενζυμική μετατροπή του εκκρινόμενου ADP έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της ενεργοποιητικής του δράσης. Τελικό αποτέλεσμα είναι η προσέγγιση και η συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Η προσέγγιση των κυττάρων διευκολύνεται με την αλλαγή του σχήματος των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων σε σφαιρικό. Η συσσώρευση επιτυγχάνεται με τους υποδοχείς IIb/IIIa, της επιφάνειας των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, οι οποίοι χρησιμοποιούν το ινωδογόνο ως γέφυρα.



ΕΙΚΟΝΑ IVζ. Ενεργοποίηση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων από τον PAF. R1: υποδοχέας του PAF, R2: υποδοχέας του ADP, R3: υποδοχέας του TXA₂, G: G-πρωτεΐνη, (i): ανενεργό, (a): ενεργοποιημένο ένζυμο.

στ) Ο πιθανός ρόλος του PAF στη παθογένεια της αθηρωμάτωσης:

Ο PAF φαίνεται ότι παίζει ένα σημαντικό ρόλο στη διαδικασία ανάπτυξης της αθηρωμάτωσης επιδρώντας στα κύτταρα που συμμετέχουν στη διαδικασία αυτή (κύτταρα αίματος, κύτταρα αρτηριακού τοιχώματος) είτε αυτοδύναμα είτε ασκώντας συνεργική δράση με άλλους διαμεσολαβητές. Η συγκέντρωση μεγάλων ποσοτήτων LDL, φυσικής ή οξειδωμένης, στον υπενδοθηλιακό χώρο της αρτηρίας οδηγεί σε τοπική ή εκτεταμένη βλάβη του ενδοθηλίου. Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν PAF, ο οποίος είτε δρα στα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα, αυξάνοντας την απογύμνωση του ενδοθηλίου, είτε αλληλεπιδρά με τα κύτταρα του αίματος προκαλώντας την προσκόληση και την είσοδό τους στον υπενδοθηλιακό χώρο. Η πιο εμφανής επίδραση του PAF στα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι η

μεταβολή του σχήματός τους σε μια πιο επιμήκη μορφή⁹⁴. Επώαση με PAF καλλιέργειας ενδοθηλιακών κυττάρων ανθρώπου και βοδιού προκαλεί τη σύνθεση προστακυκλίνης (PGI₂) και θρομβοξανίου (TXA₂) ή έκκριση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου⁹⁵. Ο PAF μπορεί επίσης να προκαλέσει τη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου από τα λευκοκύτταρα και τα μακροφάγα⁹⁶. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη διέγερση των ενδοθηλιακών κυττάρων να παράγουν περισσότερο PAF⁹⁷, αυξάνοντας έτσι την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των ουδετεροφίλων. Οι δραστικές μορφές του οξυγόνου συμβάλλουν επίσης στην τροποποίηση της LDL σε μια οξειδωμένη μορφή, που έχει βρεθεί ότι παίζει κεντρικό ρόλο στον όλο μηχανισμό ανάπτυξης της αθηρωμάτωσης. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από τον PAF οδηγεί στη μεταβολή του σχήματος των κυττάρων καθώς και έκκριση διαφόρων διαμεσολαβητών όπως ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF), ο οποίος δρα στα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλώντας μεταναστευσή τους στον έσω χιτώνα της αρτηρίας, τον πολλαπλασιασμό τους και αγγειοσύσπαση.

Ο lyso-PAF, ο οποίος προκύπτει από την υδρόλυση του PAF από την PLA₂ και την PAF-AH, παρουσιάζει χημειοτακτική δράση ως προς τα μονοκύτταρα του αίματος⁹⁸. Επιπλέον επίδραση του PAF στα μονοκύτταρα έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF) από αυτά. Ο TNF πριμοδοτεί την ενεργοποίηση των πολυμορφοπυρήνων λευκοκυττάρων από τον PAF αυξάνοντας την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου⁹⁹. Ο TNF επίσης ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα να παράγουν δραστικές μορφές οξυγόνου. Οι διάφορες δραστικές μορφές οξυγόνου που παράγονται από τα ενεργοποιημένα κύτταρα, πέρα από τον προφανή ρόλο

που παίζουν στην οξειδωτική τροποποίηση της LDL, διεγείρουν επίσης την ανάπτυξη των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων δρώντας έτσι σαν αυξητικοί παράγοντες.

ζ) Ο ρόλος του PAF στην προσκόλληση των ουδετεροφίλων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο:

Ένα από τα αρχικά στάδια της φλεγμονής είναι η πρόσδεση των ουδετεροφίλων στο ενδοθήλιο και στη συνέχεια η είσοδός τους μέσα στον τραυματισμένο ιστό, με σκοπό την καταστροφή των μικροοργανισμών που προκαλούν τη φλεγμονή. Η μεταφορά των ουδετεροφίλων από την κυκλοφορία του αίματος στον τραυματισμένο ιστό γίνεται σε τρία στάδια. Αρχικά τα κυκλοφορούντα λευκοκύτταρα έρχονται σε επαφή με το ενδοθήλιο αλληλεπιδρώντας με σελεκτίνες, που βρίσκονται στην επιφάνεια του ενδοθηλίου, χωρίς όμως οι αλληλεπιδράσεις αυτές να είναι αρκετά ισχυρές ώστε να σταματήσουν την κίνηση των λευκοκυττάρων. Αυτό γίνεται όταν τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράσουν στην επιφάνειά τους μόρια προσκόλλησης, που ανήκουν στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών (immunoglobulin superfamily member of adhesion molecules), υπό τη διέγερση χημειοτακτικών ουσιών, οπότε έχουμε ισχυρή προσκόλληση λευκοκυττάρων, μέσω ιντεγρινών, στην επιφάνεια του ενδοθηλίου. Τέλος τα λευκοκύτταρα, υπό τη διέγερση χημειοτακτικών ουσιών, διαπερνούν το ενδοθήλιο και εισέρχονται στο εσωτερικό του ιστού¹⁰⁰. Η προσκόλληση των ουδετεροφίλων στην επιφάνεια του ενδοθηλίου εξαρτάται από τον PAF που παράγεται από τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα^{97,101-103}. Είναι έτσι πιθανό η παραγωγή του PAF να αποτελεί σήμα για την έναρξη της προσκόλλησης¹⁰⁴. Ο PAF

παράγεται στο εσωτερικό των ενδοθηλιακών κυττάρων και στη συνέχεια μεταφέρεται στην επιφάνεια της κυτταρικής τους μεμβράνης. Έχει υπολογισθεί ότι 10 λεπτά μετά την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων το ένα τρίτο του παραγόμενου PAF εντοπίζεται στην επιφάνεια του κυττάρου¹⁰⁵. Από αυτό το σημείο φαίνεται πως λαμβάνει χώρα η σηματοδότηση του PAF προς τα ουδετερόφιλα^{104,106}. Είναι γνωστό ότι ο PAF προκαλεί πριμοδοτικές αποκρίσεις από τα ουδετερόφιλα, οι οποίες ίσως να είναι ουσιώδεις για την αλληλεπίδραση ουδετεροφίλων-ενδοθηλιακών κυττάρων¹⁰⁷. Ο PAF συμμετέχει στην αλληλεπίδραση των ενδοθηλιακών κυττάρων με τα λευκοκύτταρα με τρεις διαφορετικούς τρόπους, ανάλογα με το είδος διέγερσης, που προκαλεί την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και ανάλογα με τον εντοπισμό του παραγόμενου PAF στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η πρώτη συσχέτιση του παραγομένου PAF με τη προσκόλληση των ουδετεροφίλων στο ενδοθήλιο έγινε με μελέτη ενδοθηλιακών κυττάρων ενεργοποιημένων με θρομβίνη¹⁰¹. Χρησιμοποιώντας ειδικούς ανταγωνιστές του υποδοχέα του PAF βρέθηκε ότι ο ρόλος του PAF, που παράγεται και εμφανίζεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, είναι καθοριστικός για τη προσκόλληση των ουδετεροφίλων στο αγγειακό τοίχωμα. Κατεργασία των ουδετεροφίλων με PAF είχε σαν αποτέλεσμα την απευαισθητοποίησή τους ως προς τον PAF και την αναστολή της πρόσδεσής τους σε ενεργοποιημένα με θρομβίνη ενδοθηλιακά κύτταρα¹⁰⁸. Ο PAF που παράγεται κατά την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων με θρομβίνη, εμφανίζεται στην επιφάνεια των κυττάρων μαζί με την P-σελεκτίνη και δεσμεύει τα ουδετερόφιλα αλληλεπιδρώντας με ειδικούς υποδοχείς της επιφάνειάς τους^{109,110}. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την είσοδο ασβεστίου στα

ουδετερόφιλα τη προς τα πάνω ρύθμιση (up regulation) του συμπλέγματος ιντεγρινών CD11/CD18 στην επιφάνειά τους, τη πόλωση του κυττάρου και τη πριμοδότηση της σύνθεσης της έκκρισης του PAF. Ο ρόλος του PAF που παράγεται και εκφράζεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων ενεργοποιημένων με κυτοκίνες είναι διαφορετικός σε σχέση με αυτόν στη περίπτωση ενεργοποίησης με θρομβίνη. Ετσι ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων με ιντερλευκίνη-1 (IL-1) ή TNF-α έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση στην επιφάνεια των κυττάρων E-σελεκτίνης¹⁰⁰ μαζί με τον PAF¹¹¹. Ο PAF προκαλεί την είσοδο ιόντων ασβεστίου στα προσκολλημένα ουδετερόφιλα¹¹², ενώ τα πριμοδοτεί να παράγουν δραστικές μορφές οξυγόνου και να εκκρίνουν αραχιδονικό οξύ¹¹³. Η ποσότητα του παραγόμενου PAF δεν απευαισθητοποιεί τα ουδετερόφιλα ως προς τη δράση διάφορων χημειοτακτικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένου και του PAF¹¹². Σε αυτό το μοντέλο ενεργοποίησης των ενδοθηλιακών κυττάρων με κυτοκίνες ο παραγόμενος PAF δεν συμμετέχει στην προσκόλληση των ουδετεροφίλων, αλλά στην είσοδό τους στον υπενδοθηλιακό χώρο. Ετσι οι ειδικοί ανταγωνιστές του υποδοχέα του PAF δεν εμπόδισαν τη προσκόλληση των ουδετεροφίλων, αλλά τη μετακίνησή τους μέσω μονοστοιβάδας ενδοθηλιακών κυττάρων ενεργοποιημένων με κυτοκίνες¹¹⁴. Η διαφορετική δράση του PAF, που εμφανίζεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων ενεργοποιημένων με θρομβίνη ή κυτοκίνες, ίσως να οφείλεται σε άλλα μόρια, που παράγονται κατά την ενεργοποίηση, ή σε ποσοτικές και/ή ποιοτικές διαφορές των μορίων του PAF που παράγονται σε κάθε περίπτωση. Τέλος τα ενδοθηλιακά κύτταρα, που έχουν ενεργοποιηθεί in vitro ή in vivo με PAF, παρουσιάζουν αυξημένη προσκόλληση των λευκοκυττάρων στην επιφάνειά

τους^{108,110,115-117}. Σε αυτή τη περίπτωση ο PAF δρα μέσω του υποδοχέα του στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προκαλεί την έκφραση P-σελεκτίνης καθώς και τη γρήγορη και εκλεκτική εξαφάνιση θειικών πρωτεογλυκανών από την επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, μειώνοντας έτσι δυνάμεις άπωσης λόγω φόρτισης (charged repulsive forces) ανάμεσα στα κύτταρα¹¹⁰.

η) Η αιμοδυναμική δράση του PAF:

Ενδοφλέβια έγχυση PAF σε αναισθητοποιημένους σκύλους ή γουρούνια προκαλεί σημαντική συστηματική υπόταση μέσα σε τριάντα δευτερόλεπτα.¹¹⁸ Τόσο η συστηματική όσο και η πνευμονική αγγειακή αντίσταση αυξάνονται ενώ η καρδιακή παροχή μειώνεται δραματικά. Είναι δυνατή η εμφάνιση οξείας δεξιάς καρδιακής ανεπάρκειας με μείωση της τμηματικής βράχυνσης ενώ ταυτόχρονα ελαττώνεται το μέγεθος και η τελοδιαστολική πίεση της αριστερής κοιλίας με αποτέλεσμα ελάττωση της πλήρωσης της αριστερής κοιλίας και πτώση της καρδιακής παροχής. Έχει περιγραφεί και απευθείας καρδιοκατασταλτική δράση του PAF. Έχει παρατηρηθεί δοσοεξαρτώμενη αγγειοσύσπαση των στεφανιαίων αρτηριών με συνοδό περιοχική ή σφαιρική ισχαιμία και καρδιακή δυσλειτουργία, σε ενδοστεφανιαία χορήγηση PAF in vivo ή σε καρδιακά παρασκευάσματα.¹¹⁹ Μελέτες σε ανθρώπινα ή ζωικά καρδιακά παρασκευάσματα έδειξαν ότι ο PAF διαθέτει αρνητική ινότροπο δράση ανεξάρτητη συνθηκών φόρτισης (προφορτίου-μεταφορτίου), στεφανιαίας αγγειακής ροής ή του τόνου του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Δεν είναι σαφείς οι μηχανισμοί μέσω των οποίων ασκεί τη δράση του στα αγγεία και στο μυοκάρδιο. Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι όταν πειραματόζωα εκτεθούν στον PAF συνθέτουν μεταβολίτες

του αραχιδονικού οξέος.¹²⁰ Μελέτες που χρησιμοποιούσαν ανάγωγα της θρομβοξάνης A₂ διαπίστωσαν ότι οι ουσίες αυτές εμφάνιζαν αιμοδυναμική συμπεριφορά ανάλογη του PAF.¹²¹ Επιπλέον βρέθηκε ότι οι αναστολείς των υποδοχέων της θρομβοξάνης A₂ εξασθενίζουν τη δράση του PAF. Παρόμοια εξασθένηση της αιμοδυναμικής δράσης του PAF επιτυγχάνεται από ανταγωνιστές των υποδοχέων των λευκοτριενίων.

θ) Η ηλεκτροφυσιολογική δράση του PAF:

Εχει αναφερθεί μεγάλη συχνότητα πρόκλησης δευτέρου ή τρίτου βαθμού κολποκοιλιακού αποκλεισμού σε ινδικά χοιρίδια στα οποία χορηγήθηκε PAF.¹²² Γενικά συγκεντρώσεις PAF $<10^{-5}$ M δεν είναι ικανές να αλλοιώσουν τις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες των ινών Purkinje ή των μυοκαρδιακών ινών στα ινδικά χοιρίδια.¹²³

ια) Ο ρόλος του PAF στην ισχαιμία και επαναιμάτωση:

Ασθενείς με κλινικό σύνδρομο ασταθούς στηθάγχης εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντος στο αίμα PAF¹²⁴. Η παρατήρηση όμως αυτή υπόκειται σε περιορισμούς επειδή απαιτούνται πολύ ευαίσθητες μέθοδοι προσδιορισμού του PAF στο βαθμό που οι συγκεντρώσεις του στο αίμα είναι πολύ μικρές και η αποικοδόμησή του, από το ένζυμο ακετυλοϋδρολάση, ταχεία. Ένας άλλος, έμμεσος, τρόπος μελέτης του είναι η παρατήρηση της δράσης ορισμένων αναστολέων των υποδοχέων PAF κατά την διάρκεια πειραματικά προκαλούμενης ισχαιμίας. Ετσι βρέθηκε ότι η χορήγηση του αναστολέα των υποδοχέων PAF CV-6209, σε ποντίκια, αμέσως μετά την έναρξη της ισχαιμίας και πρίν την επαναιμάτωση μετριάζει την μυοκαρδιακή

βλάβη. Ο αναστολέας αυτός διαπιστώθηκε ότι μπορεί να αναστείλει την υπόταση, την στεφανιαία αγγειοσύσπασση και την αυξημένη στεφανιαία αγγειακή διαπερατότητα που προκαλούνται από τον PAF.¹²⁵ Μελέτες που έγιναν με χρήση άλλων αναστολέων των υποδοχέων του PAF διαπίστωσαν επίσης ελάττωση των αρρυθμιών των οφειλόμενων σε ισχαιμία, ελάττωση του μεγέθους του εμφράγματος και ελαττωμένη συσσώρευση αιμοπεταλίων στην εμφραγματική περιοχή¹²⁶. Αρκετές μελέτες της αιπαναιμάτωσης έδειξαν ότι ο PAF δεν είναι προϊόν του απόπληκτου μυοκαρδίου. Αν και η ακριβής δράση του PAF κατά την ισχαιμία-επαναιμάτωση δεν είναι απόλυτα διασαφηνισμένη θα μπορούσε σε γενικές γραμμές να περιγραφεί σαν προφλεγμονώδης και αγγειοδραστική.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εκτιμηθεί η συσσωρευτική δράση του PAF στα αιμοπετάλια ασθενών με στεφανιαία νόσο σε ηρεμία και μετά κόπωση. Η δράση αυτή θα συσχετισθεί με τα επίπεδα του PAF στο πλάσμα, με την ενεργότητα της PAF-AH και με τη λιπιδαιμική εικόνα των ασθενών.

II. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ.

α) Ο προς μελέτη πληθυσμός:

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 44 ασθενείς με διαγνωσμένη στεφανιαία νόσο. Η μέση ηλικία του μελετηθέντος πληθυσμού ήταν 54 ± 11 (SD) χρόνια (διακύμανση 33-73 χρόνια). Για την είσοδο στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν σαν κριτήρια: i) ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου και/ή ii) ύπαρξη αγγειογραφικά διαπιστωμένης σημαντικής ($\geq 75\%$) στένωσης σε τουλάχιστον μία από τις τρεις μείζονες στεφανιαίες αρτηρίες. Την ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν 21 υγιείς εθελοντές με ηλικία κυμαινόμενη από 39 έως 63 χρόνια και μέση ηλικιακή τιμή ίση με 49 ± 10 (SD). Οι υγιείς χαρακτηρίζονταν από λευκό ιατρικό ιστορικό, αρνητική κλινική εξέταση, ακτινογραφία θώρακος και ηλεκτροκαρδιογράφημα ευρισκόμενα μέσα στα φυσιολογικά όρια. Επιπρόσθετα οι εθελοντές δεν κάπνιζαν, δεν ήταν υπέρτασικοί, δεν εμφάνιζαν υπερχοληστερολαιμία. Κανένας τους δεν ανέφερε προκάρδιο πόνο στο παρελθόν, δύσπνοια στην προσπάθεια, αίσθημα παλμών ή συγκοπτικά επεισόδια. Το πρωτόκολλο

εγκρίθηκε από την επιτροπή ιατρικής δεοντολογίας του νοσοκομείου και όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη έδωσαν την γραπτή συγκατάθεσή τους.

β) Το πρωτόκολλο δοκιμασίας κόπωσης:

Η δοκιμασία κόπωσης πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο BRUCE (βλ. Γενικό μέρος, σελ. 18: «Το καρδιαγγειακό σύστημα κατά την άσκηση, η δοκιμασία κόπωσης») πάνω σε κυλιόμενο τάπητα (Marquette Case 15). Η δοκιμασία είχε στόχο την επίτευξη της μέγιστης προβλεπόμενης, για την ηλικία του κάθε ατόμου, καρδιακής συχνότητας. Πλήρες ηλεκτροκαρδιογράφημα και αρτηριακή πίεση λαμβάνονταν πριν την άσκηση και στη συνέχεια κάθε τρία λεπτά τόσο κατά τη διάρκεια της άσκησης όσο και κατά τη διάρκεια της ανάνηψης. Η καρδιακή συχνότητα και ο καρδιακός ρυθμός παρακολουθούνταν στην οθόνη συνεχώς. Η δοκιμασία κόπωσης διακπτόταν πριν την ολοκλήρωση του πρωτοκόλου σε περίπτωση που εμφανίζονταν συμπτωματολογία και/ή ηλεκτροκαρδιογραφικές αλλοιώσεις συμβατές με ισχαιμία. Δύο ανεξάρτητοι παρατηρητές έκριναν το αποτέλεσμα της δοκιμασίας.

Οι δοκιμασίες κόπωσης εκτελέσθηκαν μετά την ένατη πρωινή ώρα και αυτό επειδή έχει διαπιστωθεί ότι τα αιμοπετάλια εμφανίζουν μιά αύξηση της τάσης για συσσώρευση μεταξύ έκτης και ένατης πρωϊνής ώρας. Πριν την δοκιμασία τοποθετούνταν σε φλέβα του αντιβραχίου ένας φλεβοκαθετήρας (βελόνη 22 gauge) με πρόκληση κατά το δυνατόν ελάσσονος τραύματος της περιοχής εισόδου. Από τη διαφλέβια αυτή οδό λαμβάνονταν ποσότητες φλεβικού αίματος πριν και αμέσως μετά τη διακοπή της δοκιμασίας κόπωσης. Πριν από τη λήψη αίματος χορηγούνταν 10 ml φυσιολογικού ορού, στη

συνέχεια πραγματοποιούνταν δύο διαδοχικές λήψεις των 5 και 10 ml με δύο σύριγγες. Τα αρχικά 5 ml απορρίπτονταν και χρησιμοποιούνταν μόνο το δεύτερο δείγμα. Όλοι οι ασθενείς είχαν διακόψει τη λήψη οποιουδήποτε φάρμακου τουλάχιστον τρεις ημέρες πριν την δοκιμασία κόπωσης.

γ) Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν:

Για τη πραγματοποίηση της μελέτης χρησιμοποιήθηκε η 1-O-εξαδεκυλ-2-ακετυλ-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη (PAF) (Bachem, Ελβετίας) και η 1-O-εξαδεκυλ-2-[³H]ακετυλ-sn-γλυκεροφωσφοχολίνη ([³H]PAF), (10Ci. mmol⁻¹) (Dupont-New England Nuclear (Βοστώνη, MA). Η Βόειος αλβουμίνη πλάσματος (Bovine Serum Albumin, BSA), η ανθρώπινη αλβουμίνη πλάσματος (HSA) και το τριχλωροξικό οξύ προέρχονταν από τη Sigma (St. Louis, MO, ΗΠΑ). Η ασπιρίνη με μορφή διαλυτού άλατος λυσίνης ήταν προέλευσης Galenica (Ελλάς), ενώ όλοι οι οργανικοί διαλύτες από τη Lab-Scan (Ιρλανδίας). Σαν αντιπηκτικό χρησιμοποιήθηκε διάλυμα ACD, με σύσταση 0.07M κιτρικό οξύ, 0.11M κιτρικό νάτριο και 0.11M D(+) γλυκόζη. Ο PAF διαλυόταν σε διάλυμα BSA φυσιολογικού ορού, 2.5 mg.ml⁻¹ και ο [³H]PAF σε διάλυμα HSA/PBS και HSA/PBS, 1mg.ml⁻¹, pH=7.4.

δ) Η μέτρηση της τάσης των αιμοπεταλίων για συσώρευση:

10 ml περιφερικού φλεβικού αίματος τοποθετούνταν σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες με διάλυμα ACD σε αναλογία όγκων 9:1. Στη συνέχεια τα δείγματα υφίσταντο φυγοκέντρηση 160g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το τέλος της φυγοκέντρησης απομακρύνονταν τα δύο τρίτα της ανώτερης φάσης αποτελούμενης από πλάσμα πλούσιο σε

αιμοπετάλια (PRP). Η εναπομένουσα ποσότητα έμπαινε και πάλι σε φυγοκέντρηση 3000g για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου προκειμένου να προκύψει ποσότητα πλάσματος φτωχή σε αιμοπετάλια (PPP). Ο αριθμός των αιμοπεταλίων υπολογιζόταν στο αιματοκυτόμετρο σύμφωνα με τη μέθοδο Brecher και Cronkite.¹²⁷ Το PRP αραιώνεται με το ομόλογο PPP έτσι ώστε ο αριθμός των αιμοπεταλίων να 250000 μl^{-1} . 15 λεπτά πριν τη συσσώρευση το PRP επωαζόταν με 0.1 mM ασπιρίνης ενός αναστολέα της κυκλοοξυγενάσης. Η προσθήκη αυτή γινόταν προκειμένου να ανασταλεί η συσσώρευση η οφειλόμενη σε παραγωγή της ενδογενούς TxA_2 . Ένα λεπτό πριν τη συσσώρευση, προστίθονταν επίσης συνδυασμός φωσφοκρεατινίνης /φωσφοκρεατινικής κινάσης (CK/CPK) (ένας εκκαθαριστής του ADP) σε συγκέντρωση περίπου ίση με 5 mM και 4 $\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$ αντίστοιχα. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων μετρήθηκε σε 0.5 ml PRP με τη χρήση μετρητή συσσώρευσης αιμοπεταλίων (μοντέλο 330, Cronolog Corp.) στους 37°C, και συνεχή ανάδευση στις 1200 στροφές το λεπτό. Οι μελέτες συσσώρευσης πραγματοποιούνταν 60 λεπτά μετά την φλεβοκέντηση και ολοκληρώνονταν μέσα σε δύο ώρες. Υπολογίζονταν δύο παράμετροι σε σχέση με την συσσωρευτική απόκριση στον PAF: i) η τιμή EC_{50} του PAF (δηλ. η συγκέντρωση η οποία μπορεί να προκαλέσει το 50% της μέγιστης συσσώρευσης) και ii) η μέγιστη συσσώρευση η πραγματοποιούμενη μετά πάροδο δύο λεπτών από τη προσθήκη του PAF, εκφρασμένη σε επι τοις εκατό ποσοστό μεταβολής της διαπερατότητας του φωτός βαθμονομημένη για κάθε δείγμα (μέγιστο ποσοστό συσσώρευσης).

ε) Ο προσδιορισμός της ενεργότητας της PAF-ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH):

Η ενεργότητα της PAF-AH μετριόταν με τη μέθοδο ιζηματοποίησης με τριχλωροξικό οξύ¹²⁸ χρησιμοποιώντας σαν υπόστρωμα [³H]PAF και πλάσμα αραιωμένο 1:50 με PBS σαν πηγή του ενζύμου. Για τη χημική ανάλυση ρουτίνας, το διάλυμα [³H]PAF σε HSA/PBS αναμιγνυόταν με ίση ποσότητα αραιωμένου πλάσματος σε δοκιμαστικό σωλήνα πολυπροπυλενίου. Η τελική συγκέντρωση [³H]PAF στο μείγμα αντίδρασης ήταν 10 μM και η τελική αραιώση του πλάσματος ήταν 1:100 V/V.

στ) Η απομόνωση και ο καθαρισμός του PAF:

Δύο ml ολικού αίματος αναμιγνύονταν γρήγορα με 10 ml μεθανόλης (θερμοκρασίας -4°C), περιέχουσας 2% οξικό οξύ, μέσα σε ένα γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα. Σε μερικά πειράματα, στο παραπάνω εκχύλισμα, προστέθηκαν 10 ml διαλύματος 20 μM [³H]PAF σε HSA/PBS σαν εσωτερικό πρότυπο σύγκρισης, για την εκτίμηση της απόδοσης της μεθόδου. Το εκχύλισμα του αίματος αναδευόταν ελαφρά για 35 λεπτά στους 25 °C, και στη συνέχεια το πρωτεϊνικό ίζημα διαχωριζόταν με φυγοκέντρηση. Μετά το ίζημα εκχυλιζόταν με 2x5 ml του παραπάνω διαλύτη, για τη ποσοτική εκχύλιση των λιπιδίων. Το συνολικό εκχύλισμα των λιπιδίων μετατρεπόταν στη συνέχεια σε διφασικό σύστημα σύμφωνα με τη μέθοδο Bligh και Dyer¹²⁹, και η χλωροφορμική φάση που περιείχε το σύνολο των λιπιδίων, συμπυκνώνονταν υπο κενό μέχρι ξηρού. Τα λιπίδια παραλαμβάνονταν με μικρό όγκο χλωροφορμίου : μεθανόλης, 1:1 v/v και τοποθετούνταν σε πλάκες χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) (πλάκες πυριτικού G). Η

χρωματογραφία γινόταν με χρήση τριών διαλυτικών συστημάτων: ακετόνης/πετρελαϊκού αιθέρα, 3:1 v/v, χλωροφορμίου/μεθανόλης/όξιου οξέος/νερού, 80:13:8:0:3 v/v και χλωροφορμίου/μεθανόλης/νερού, 65:35:6 v/v. Μετά την ανάπτυξη της χρωματογραφίας στο τρίτο σύστημα διαλυτών, η λωρίδα πυριτίου που αντιστοιχούσε στο R_f του PAF (μεταξύ της πρότυπης σφιγκομυελίνης και της λυσοφωσφατυλχολίνης) περιλαμβανόταν από την πλάκα και εκχυλιζόταν σύμφωνα με τη μέθοδο Bligh και Dyer. Το χλωροφόρμιο αποξηραινόταν σε ρεύμα αζώτου και το αποξηραμένο λιπίδιο διαλυόταν σε 100 μl διαλύματος BSA/φυσιολογικού ορού, 2.5 mgr.ml⁻¹ και στη συνέχεια η βιολογική του δράση δοκιμαζόταν ως προς τη συσσώρευση που προκαλούσε σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού. Στα πειράματα που χρησιμοποιήθηκε ο [³H]PAF σαν εσωτερικό πρότυπο σύγκρισης, 50 μl του εκχυλίσματος αυτού αναμείχθηκαν με 5 ml διαλύματος σπινθηρισμού (Ready protein cocktail, Beckman, Fullerton, CA) και η ραδιενέργεια του [³H] μετρήθηκε με τη χρήση ενός υγρού μετρητή σπινθηρισμού (Tri-Carb 3255, Packard). Το ποσοστό απάντησης της παραπάνω μεθόδου εκχύλισης του PAF από ολικό αίμα, ήταν ίσο με 45±5% (n=4).

ζ) Μετρήσεις της βιολογικής δραστηριότητας του PAF:

Η βιολογική δράση του κεκαθαμένου φωσφολιπιδίου με χρωματογραφία λεπτού στρώματος, δοκιμάστηκε σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού παρουσία ασπιρίνης. Οι συσσωρεύσεις πραγματοποιήθηκαν στον μετρητή συσσώρευσης Chronolog στους 37°C παρουσία φωσφορικής κρεατινίνης (1mM)/ φωσφοκρεατινικής κινάσης (10U.ml⁻¹). Η συσσωρευτική δράση του PAF εκφράστηκε σε pg PAF. ml⁻¹ αίματος με χρήση καμπύλης

βαθμονόμησης που προέκυψε χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα PAF.¹³⁰ Η ειδικότητα της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης από τον PAF διαπιστώθηκε από την ανασταλτική δράση ενός ειδικού ανταγωνιστή του PAF του BN 52021, σε τελική συγκέντρωση 1μM. Ο ανταγωνιστής αυτός προκαλούσε πλήρη αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων που προκαλούνταν από ποσότητα βιολογικά ενεργού φωσφολιπιδίου αντιστιχούσα σε 20 pg PAF.

η) Άλλες βιοχημικές παράμετροι:

Με τη χρήση κατάλληλων ενζυμικών αντιδραστηρίων του εμπορίου (Boehringer Mannheim), μετρήθηκαν επίσης η ολική χοληστερόλη του ορού, τα τριγλυκερίδια, η λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL) (μετά την καθίζηση των LDL και VLDL με χλωριούχο μαγνήσιο και φωσφοβολφραμικό οξύ). Η συγκέντρωση της LDL-χοληστερόλης υπολογίστηκε με τη χρήση της εξίσωσης Friedwald.

θ) Στατιστική ανάλυση:

Τα δεδομένα εκφράστηκαν σε μέσες τιμές \pm SD. Όλες οι μετρήσεις έγιναν δύο φορές και σαν τελική τιμή θεωρήθηκε ο μέσος όρος αυτών. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με την μη παραμετρική στατιστική δοκιμασία Kruskal-Wallis (Kruskal-Wallis test). Τιμές P μικρότερες του 0.05 θεωρήθηκαν σημαντικές. Η θετική προγνωστική αξία και διαγνωστική επάρκεια της συσσωρευσιμότητας των αιμοπεταλίων παρουσία PAF σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο υπολογίστηκε σύμφωνα με τις ακόλουθες εξισώσεις και με τη χρήση του αριθμού των αληθώς και ψευδώς θετικών

(True Positive, TP και False Positive, FP) και αληθώς και ψευδώς αρνητικών (True Negative, TN και False Negative, FN). Θετική προγνωστική αξία(%)= $TP/(TP+FP) \times 100$. Αρνητική Προγνωστική αξία (%)= $TN/(TN+FN) \times 100$. Διαγνωστική επάρκεια(%)= $(TP+TN)/(TP+FP+TN+FN) \times 100$.

Η συσσωρευσιμότητα των αιμοπεταλίων εξαιτίας του PAF θεωρούνταν θετική όταν η τιμή PAF EC₅₀ του ασθενούς ήταν μικρότερη από 15 έως 20 nM.

III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.

Αναλυτικά για κάθε ασθενή τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο **Z.**

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ-σελ. 121.

α) Ευρήματα από τη δοκιμασία κόπωσης:

Ασκήθηκαν 44 ασθενείς με στεφανιαία νόσο, 21 (48%) από αυτούς είχαν θετική δοκιμασία (ομάδα 1) ενώ οι υπόλοιποι 23 είχαν αρνητική δοκιμασία (ομάδα 2). Ολοι οι μάρτυρες είχαν αρνητική δοκιμασία κόπωσης για στεφανιαία νόσο. Στόν πίνακα που ακολουθεί συνοψίζονται τα αποτελέσματα.(ΠΙΝΑΚΑΣ IIIα)

ΠΙΝΑΚΑΣ IIIα.

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΚΟΠΩΣΗΣ ΣΤΙΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΑΣΘΕΝΩΝ

	Μάρτυρες	Ομάδα 1	Ομάδα 2
Διάρκεια άσκ.	10.8±1.8	7.0±1.9	9.5±2.1
Μεγ. Κ. Σ.(σφ/λ)	173±10	143±10	160±18
METS	12.9±1.6	8.4±2.0	11.1±2.0
Ολοκλ. Πρωτοκ.	21	11	23
<u>Αιτία διακοπής</u>			
Κόπωση	-	4	-
Στηθάγχη	-	5	-
Κοιλιακή ταχυκ.	-	1	-

Η διάρκεια άσκησης υπολογίζεται σε πρώτα λεπτά, Μεγ.Κ.Σ. (σφ/λ) = Μεγίστη Καρδιακή Συχνότητα (σφύξεις/λεπτό), Ολοκλ. Πρωτοκ.= Ολοκλήρωση Πρωτοκόλου, Κοιλιακή ταχυκ. = Κοιλιακή Ταχυκαρδία, METS = Μεταβολικά ισοδύναμα κατανάλωσης οξυγόνου (βλ. Δοκιμασία Κόπωσης, Γενικό Μέρος).

β) Η λιπιδαιμική φυσιогνωμία των ασθενών:

Όπως φαίνεται στον ΠΙΝΑΚΑ ΙΙΙβ-σελ. 87, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων πλάσματος ανάμεσα στις διάφορες ομάδες. Αντίθετα τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα των μαρτύρων σε σύγκριση με τις ομάδες 1 και 2 ενώ τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης ήταν ελαφρά υψηλότερα (όχι όμως στατιστικά σημαντικά) στην ομάδα 1 σε σχέση με τους μάρτυρες και την ομάδα 2.

γ) Η συσσωρευτική απόκριση των αιμοπεταλίων στον PAF:

Όπως φαίνεται και στο σχήμα 1(α) (ΕΙΚ. ΙΙΙΑ-σελ. 88), οι τιμές PAF EC₅₀ στην ηρεμία, των αιμοπεταλίων των ατόμων της ομάδας 1 (=άτομα με στεφανιαία νόσο και θετική δοκιμασία κόπωσης), βρέθηκαν σημαντικά ελαττωμένες (P<0.0001) σε σύγκριση με αυτές των μαρτύρων (12.6±3.9 nM και 24.9±11.7 nM αντίστοιχα). Επιπλέον, τό μέγιστο ποσοστό συσσώρευσης προκαλούμενο από 50 nM PAF βρέθηκε σημαντικά αυξημένο (20.0±4.3% και 13.5±3.6%, P<0.0001). Αντίθετα, οι τιμές PAF EC₅₀ και τα μέγιστα ποσοστά συσσώρευσης της ομάδας 2 (=στεφανιαίοι ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κοπώσεως) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά απο αυτές της ομάδας των μαρτύρων (25.2±11.4 nM και 12.3±3.7% αντίστοιχα). (ΕΙΚ. ΙΙΙΑ-σελ. 88) Στο τέλος της δοκιμασίας κοπώσεως οι τιμές PAF EC₅₀ και το μέγιστο ποσοστό αναλογίες συσσώρευσης, ήταν παρόμοιες με τις τιμές πριν τη δοκιμασία σε όλες τις ομάδες. (ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙβ-σελ. 87, ΕΙΚ. ΙΙΙΑ-σελ. 88)

Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων σε όλα τα δείγματα που εξετάσθηκαν ήταν μονοφασική και εξ'ολοκλήρου αναστρέψιμη. Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση, στους στεφανιαίους ασθενείς, η προγνωστική αξία της συσσωρευσιμότητας των αιμοπεταλίων σε απάντηση στον PAF ανέρχεται στο 89% (PAF EC_{50} =15nM, τιμή αναφοράς) και 70% (PAF EC_{50} =20nM, τιμή αναφοράς), η διαγνωστική επάρκεια ανέρχεται στο 86% με τις δύο τιμές αναφοράς.

δ) Οι μετρήσεις των επιπέδων του PAF στο ολικό αίμα:

Μετρήθηκαν τα επίπεδα του PAF στο ολικό αίμα και των τριών ομάδων μετά την εκχύλιση των ολικών λιπιδίων και τον καθαρισμό του PAF με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε τρία διαφορετικά συστήματα ανάπτυξης όπως αναφέρεται στις μεθόδους. Η ποσοτικοποίηση του PAF έγινε με τη μέθοδο συσσώρευσης πλυμμένων αιμοπεταλίων κουνελιού. Όπως φαίνεται στον ΠΙΝΑΚΑ IIIβ-σελ. 87, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα του PAF ανάμεσα στις τρεις ομάδες τόσο κατά την ηρεμία όσο και κατά την άσκηση. Η συσσωρευτική δράση του PAF, ισοδύναμη με 20 ρg πρότυπου PAF, μπορούσε να ανασταλεί εξ'ολοκλήρου από 1μM BN 52021, απόδειξη ότι η παρατηρούμενη συσσώρευση προερχόταν αποκλειστικά από τον PAF.

ε) Η ενεργότητα της PAF-ακετυλοϋδρολάσης:

Οι μέσες τιμές της ενεργότητας της PAF-ακετυλοϋδρολάσης συνοψίζονται στον ΠΙΝΑΚΑ IIIβ-σελ. 87. Η δραστηριότητά της στα άτομα της ομάδας 1, κατά την ηρεμία, ήταν σημαντικά υψηλότερη από αυτήν της ομάδας

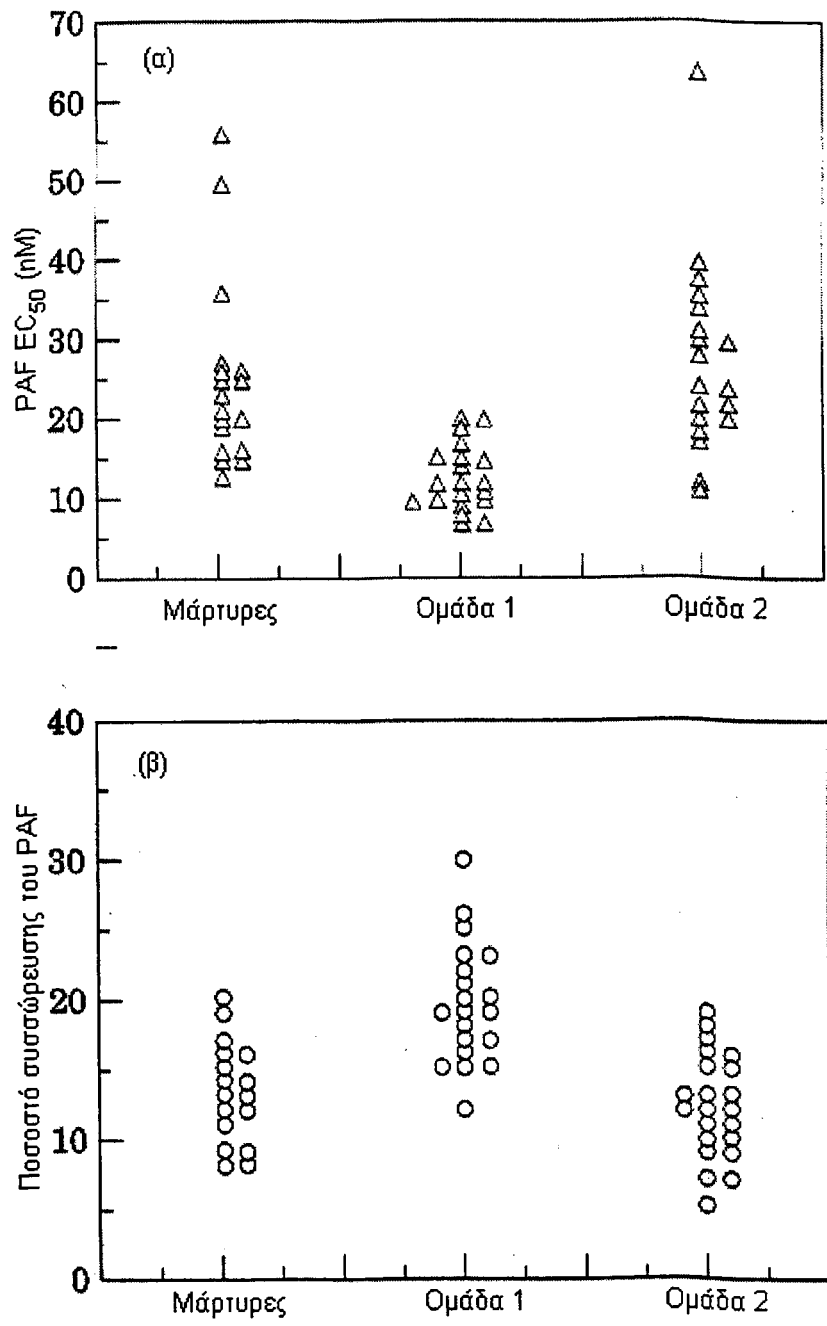
των μαρτύρων (37.2 ± 8.0 nmol.ml⁻¹.min έναντι 32.4 ± 4.3 nmol.ml⁻¹.min), ($p < 0.03$), ενώ η ενζυμική δραστηριότητα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά διαφορετική ανάμεσα στην ομάδα 2 και στην ομάδα των μαρτύρων (33.6 ± 6.1 nmol.ml⁻¹.min έναντι 32.4 ± 4.3 nmol.ml⁻¹.min). Σε όλες τις ομάδες, η δραστηριότητα της PAF-AH δεν άλλαζε κατά τη διάρκεια της άσκησης. Η δραστηριότητα της PAF-AH βρισκόταν σε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της ολικής και της LDL χοληστερόλης του πλάσματος στην ομάδα των μαρτύρων και στην ομάδα 2. **(ΕΙΚ.ΙΙΙβ-σελ. 89: (α),(β),(ε),(στ))** Πρέπει να σημειωθεί η απουσία ύπαρξης συσχέτισης ανάμεσα στην δραστηριότητα της PAF-AH και στα επίπεδα της ολικής και της LDL χοληστερόλης του πλάσματος, στην ομάδα 1. **(ΕΙΚ.ΙΙΙβ-σελ. 89: (γ),(δ))** Τέλος σε καμία ομάδα δεν βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στη δραστηριότητα της PAF-AH και στα επίπεδα της HDL χοληστερόλης ή των τριγλυκεριδίων του πλάσματος.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙβ.

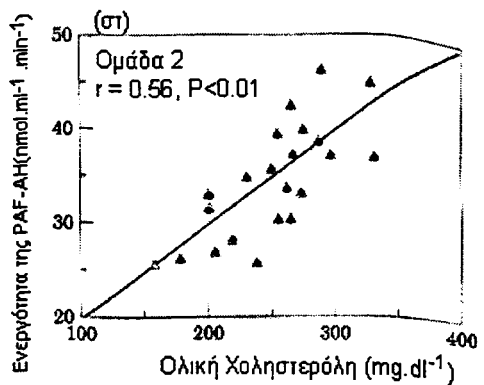
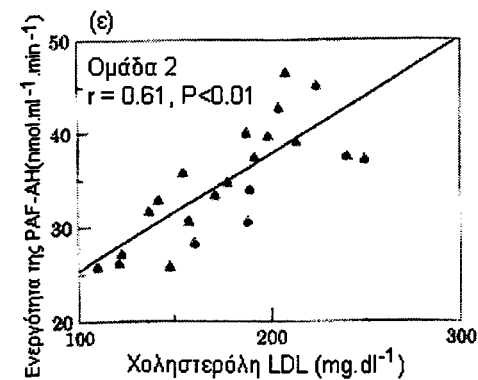
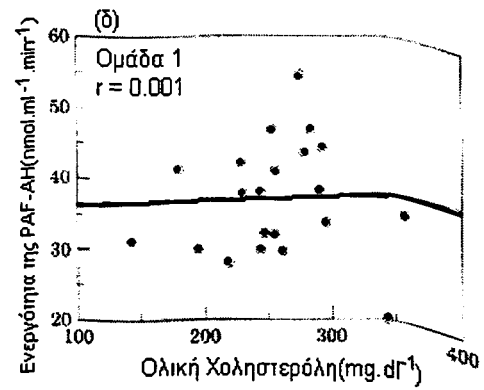
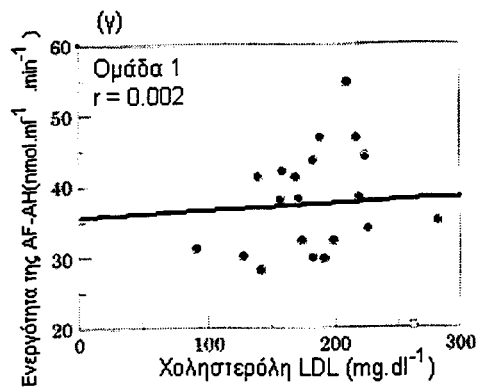
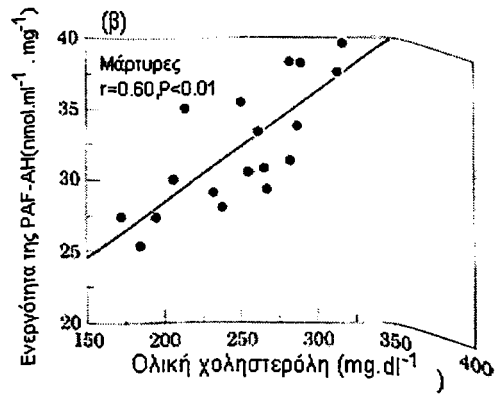
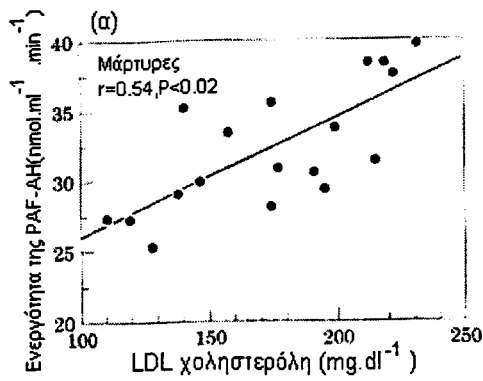
**Η ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΟΝ ΡΑΦ, Η ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΡΑΦ-
ΑΚΕΤΥΛΟΥΔΡΟΛΑΣΗΣ ΚΑΙ Η ΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΤΗΣ
ΜΕΛΕΤΗΣ ΠΡΟ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΚΟΠΩΣΗ.**

Παράμετρος	Μάρτυρες		Ομάδα 1		Ομάδα 2	
	Προ	Μετά	Προ	Μετά	Προ	Μετά
Ολική Χοληστερόλη (mg.dl ⁻¹)	252±43	-	256±49	-	252±45	-
LDL Χοληστερόλη (mg.dl ⁻¹)	175±38	-	186±45	-	177±39	-
HDL Χοληστερόλη (mg.dl ⁻¹)	49±12 ⁽¹⁾	-	39±11	-	39±7	-
Τριγλυκερίδια (mg.dl ⁻¹)	139±56	-	159±75	-	175±92	-
PAF(pg.ml ⁻¹)	19±11	17±9	20±12	19±7	16±8	18±10
PAF EC ₅₀ (Nm)	24.9±11.7	26.7±14	12.6±3.9 ⁽²⁾	12.7±3.3	25.2±11.4	27.5±15.1
% μεγίστη συσσώρ.	13.5±3.6	12.4±4.4	20.0±4.3 ⁽³⁾	21.3±4.8	12.3±3.7	14.1±4.7
Ενεργότητα ΡΑΦ-ΑΗ (nmol.ml ⁻¹ .min ⁻¹)	32.4±4.3	33.5±5.0	37.2±8.0 ⁽⁴⁾	37.7±9.0	33.6±6.1	34.1±6.7

⁽¹⁾ = p<0.006, ⁽²⁾ = p<0.0001, ⁽³⁾ = p<0.0001, ⁽⁴⁾ = p<0.03.



ΕΙΚΟΝΑ IIIα: Η συμπεριφορά των αιμοπεταλίων σε σχέση με την συσσωρευτική δράση του PAF σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο και σε μάρτυρες, σε ηρεμία. Ομάδα 1: ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης και Ομάδα 2: ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κόπωσης. (α) τιμές του PAF EC₅₀, (β): μέγιστο ποσοστό συσώρευσης. P<0.0001, για την Ομάδα 1 σε σχέση με τους μάρτυρες.



ΣΧΗΜΑ ΙΙΙβ. Συσχέτιση ανάμεσα στη δραστηριότητα της PAF-AH και της χοληστερόλης LDL του ορού (α,γ,ε) ή της ολικής χοληστερόλης ορού (β,δ,στ) στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο και στους μάρτυρες σε ηρεμία. Ομάδα 1: ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης και Ομάδα 2: ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κόπωσης.

IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ προσφοράς και ζήτησης οξυγόνου που προκαλείται στους ασθενείς με σταθερή στηθάγχη κατά τη διάρκεια της κόπωσης, εκτός της μυοκαρδικής ισχαιμίας, πυροδοτεί και μία σειρά άλλες παθολογικές διεργασίες συμπεριλαμβανομένης και της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων που κυκλοφορούν στα στεφανιαία αγγεία.¹³¹ Πολλές μελέτες έχουν δείξει την εμπλοκή των αιμοπεταλίων στην διαδικασία της μυοκαρδικής ισχαιμίας.¹³²⁻¹³⁵ Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο, τα αιμοπετάλια θα μπορούσαν να συμμετέχουν στη παθολογική διαδικασία της ισχαιμίας που προκαλείται κατά τη κόπωση με τουλάχιστον δύο τρόπους: i) συγκέντρωση και συσσώρευση πάνω σε μία αθηρωματική πλάκα αυξάνοντας το βαθμό της αγγειακής στένωσης και παρακωλύοντας έτσι ακόμα περισσότερο την αιματική ροή στο συγκεκριμένο αγγείο και ii) προκαλώντας τοπικό αγγειόσπασμο μέσω παραγωγής και έκκρισης θρομβοξάνης A₂ (TxA₂).¹³¹

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας η απάντηση των αιμοπεταλίων στη συσσωρευτική δράση του PAF, *in vitro*, είναι σημαντικά αυξημένη στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο της ομάδας 1 (σε αυτούς δηλαδή με θετική δοκιμασία κοπώσεως) σε σύγκριση με την ομάδα των μαρτύρων. Αντίθετα, τα αιμοπετάλια των ασθενών με στεφανιαία νόσο της ομάδας 2 (με αρνητική δοκιμασία κοπώσεως) εμφάνισαν την ίδια απάντηση στη συσσωρευτική δράση του PAF σε σύγκριση με την ομάδα των μαρτύρων. Είναι αξιοσημείωτο ότι η απάντηση των αιμοπεταλίων στον PAF δεν μεταβλήθηκε μετά το τέλος της δοκιμασίας κοπώσεως σε καμιά ομάδα. Είναι η πρώτη

φορά που καταγράφεται και αναφέρεται τέτοιου είδους αιμοπεταλιακή απάντηση απέναντι σε ένα ισχυρό συσσωρευτικό παράγοντα όπως ο PAF. Στο παρελθόν άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η αιμοπεταλιακή απάντηση σε διάφορους συσσωρευτικούς παράγοντες (κολλαγόνο, ADP, αδρεναλίνη) είναι η ίδια σε όλες τις ομάδες των ασθενών κατά τη διάρκεια της ηρεμίας, αλλά αυξάνεται στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο με θετική δοκιμασία κοπώσεως αμέσως μετά το τέλος της άσκησης.^{132,137}

Οι σημαντικά χαμηλές τιμές EC_{50} που παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με θετική δοκιμασία κοπώσεως (μετατόπιση προς τα αριστερά της σιγμοειδούς καμπύλης της αιμοπεταλιακής συσώρευσης), ενισχύουν την υπόθεση ότι αυτού του είδους οι ασθενείς είτε εμφανίζουν στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων τους PAF-υποδοχείς σε αυξημένη πυκνότητα, είτε οι PAF-υποδοχείς δεν είναι μεν αυξημένοι σε αριθμό, αλλά εμφανίζουν μεγάλη συγγένεια προς τον ενεργοποιητή τους (δηλαδή τον PAF). Σε προηγούμενες μελέτες είχαν επίσης αναφερθεί παρόμοιες αλλοιώσεις στους α_2 -αδρενεργικούς υποδοχείς ή στους υποδοχείς προστακυκλίνης σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο.^{138,139}

Στο βαθμό που αυξημένη αιμοπεταλιακή ευαισθησία στον PAF σε ηρεμία, παρατηρείται μόνο στους ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης, η πολύ αυξημένη αιμοπεταλιακή απάντηση σε άλλους παράγοντες, που εμφανίζεται σε στεφανιαίους ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης αμέσως μετά το τέλος της άσκησης, θα μπορούσε να αποδοθεί σε συνεργιστική δράση ανάμεσα στον PAF και στους βιοενεργούς αυτούς παράγοντες. Σύμφωνα με τα στατιστικά δεδομένα, η αυξημένη απάντηση των αιμοπεταλίων στην συσσωρευτική δράση του PAF που παρατηρήθηκε στους

στεφανιαίους ασθενείς, θα μπορούσε να χρησιμεύσει σαν παράγοντας προγνωστικός για θετικό αποτέλεσμα της δοκιμασίας κόπωσης. Όμως για να επιβεβαιωθεί το εύρημα αυτό χρειάζεται μεγαλύτερος αριθμός ασθενών.

Τα επίπεδα του PAF στο ολικό αίμα δεν διέφεραν σημαντικά στις διάφορες ομάδες στην ηρεμία και δεν άλλαζαν μετά την άσκηση. Η παρατήρηση αυτή οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο PAF δεν εκκρίνεται κατά την διάρκεια της μυοκαρδικής ισχαιμίας. Το εύρημα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με παρατηρήσεις άλλων ερευνητών σύμφωνα με τις οποίες ο PAF δεν εκκρίνεται στο αίμα του στεφανιαίου κόλπου κατά τη διάρκεια αναστρέψιμης ισχαιμίας¹⁴⁰. Παρ'όλα αυτά δεν είναι δυνατό να αποκλεισθεί η πιθανότητα παραγωγής του PAF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των στεφανιαίων αγγείων, κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας, που όμως δεν απελευθερώνεται στη κυκλοφορία αλλά παραμένει προσδεδμένος στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων¹⁴¹. Η τοπική σύνθεση του PAF και η σύνδεσή του με την επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι πιθανό να προκαλέσει αλληλεπιδράσεις τόσο ανάμεσα στα αιμοπετάλια και το ενδοθήλιο όσο και ανάμεσα στα ουδετερόφιλα και το ενδοθήλιο συμβάλλοντας έτσι στη δημιουργία συνθηκών ευνοϊκών για σχηματισμό θρόμβου^{142,143}.

Η υπερευαισθησία των αιμοπεταλίων στον PAF που παρατηρήθηκε στη παρούσα μελέτη, σε σχέση με τη πιθανή σύνθεση του PAF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, θα μπορούσε να οδηγήσει σε υψηλότερους ρυθμούς προσκόλλησης των αιμοπεταλίων πάνω στα ενδοθηλιακά κύτταρα και θα μπορούσε να αποτελέσει ένα πρώιμο δείκτη πρόκλησης μυοκαρδικής ισχαιμίας στους στεφανιαίους ασθενείς κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας κόπωσης. Για να στηριχθεί η παραπάνω υπόθεση χρειάζονται επιπλέον

μελέτες που να αφορούν τη πιθανή παραγωγή του PAF από το βεβλαμμένο ενδοθήλιο στις περιοχές του αγγείου όπου αναπτύσσονται αθηρωματικές πλάκες.

Η παρατήρηση ότι υπάρχει θετική συσχέτιση ανάμεσα στην ενεργότητα της PAF-AH του ορού και της ολικής χοληστερόλης ή της LDL χοληστερόλης του ορού βρίσκεται σε συμφωνία με αποτελέσματα προηγούμενων μελετών^{144,145}. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να ερμηνευθεί με βάση το γεγονός ότι στον ανθρώπινο ορό η PAF-AH σχετίζεται κυρίως με την LDL χοληστερόλη με την οποία φέρεται το μέγιστο μέρος της ολικής χοληστερόλης πλάσματος.

Μιά παρόμοια συσχέτιση παρατηρήθηκε και στην ομάδα 2 (στεφανιαίοι ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κόπωσης) αλλά όχι και στην ομάδα 1 (στεφανιαίοι ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης). Στην τελευταία αυτή ομάδα, η ενεργότητα της PAF-AH είναι σημαντικά εντονότερη σε σύγκριση με τους μάρτυρες και την ομάδα 2, αλλά δεν συσχετίζεται με τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης ή της LDL χοληστερόλης του ολικού πλάσματος.

Δεν έχει γίνει ακόμα απόλυτα κατανοητός ο παθοφυσιολογικός ρόλος της PAF-AH. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η PAF-AH μπορεί να παίζει ένα βασικό ρόλο στην οξειδωση της LDL. Έτσι οξειδωμένη LDL καθίσταται αναγνωρίσιμη και δεσμεύεται από τους υποδοχείς εκκαθάρισης των μακροφάγων του αρτηριακού τοιχώματος με αποτέλεσμα το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων που αποτελούν ένα πρώιμο στάδιο στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης. Ελάχιστονες μεταβολές της δραστηριότητας της PAF-AH έχουν παρατηρηθεί σε μια σειρά από νόσους,^{144,146} αλλά η σημασία των μεταβολών αυτών δεν έχει γίνει απόλυτα σαφής διότι υπάρχει μεγάλη

ποσότητα ενζύμου στο πλάσμα κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Έτσι μια ελάττωση κατά 50% της δραστηριότητας του ενζύμου θα ήταν δύσκολο να εξακριβωθεί και δεν θα μπορούσε να αυξήσει τον χρόνο ημιζωής του PAF στο αίμα¹⁴⁷. Επιπλέον έχει δειχθεί ότι η αποικοδόμηση περιορισμένων ποσοτήτων PAF στο πλάσμα εμφανίζεται με ρυθμό 2% του προβλεπόμενου με βάση τις κινητικές σταθερές του απομονωμένου ενζύμου πράγμα που πιθανά σημαίνει την παρουσία συστατικών του πλάσματος που σχετίζονται με τις λιποπρωτεΐνες και μπορούν να επηρεάζουν τη δραστηριότητα του ενζύμου¹⁴⁷.

Η παθοφυσιολογική σημασία της στατιστικά σημαντικής αύξησης της δραστηριότητας της PAF-AH που παρατηρήθηκε στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο και θετική δοκιμασία κόπωσης δεν μπορεί να εκτιμηθεί με τις παραπάνω μελέτες. Η έλλειψη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στην LDL χοληστερόλη και τη δραστηριότητα της PAF-AH στην ίδια ομάδα ασθενών θα μπορούσε να αποδοθεί στην αλλοιωμένη (σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες) ρύθμιση της δραστηριότητας της PAF-AH από συστατικά στοιχεία της LDL. Είναι η πρώτη φορά που περιγράφεται το φαινόμενο αυτό και για το λόγο αυτό χρειάζεται παραπέρα διερεύνηση.

Συμπερασματικά, σε στεφανιαίους ασθενείς με μυοκαρδιακή ισχαιμία που προκαλείται κατά την κόπωση, η απόκριση των αιμοπεταλίων στη συσσωρευτική δράση του PAF αυξάνεται σε ηρεμία. Αντίθετα οι στεφανιαίοι ασθενείς που δεν εμφανίζουν μυοκαρδιακή ισχαιμία κατά την άσκηση απαντούν όπως οι μάρτυρες. Επιπλέον, ενώ υπάρχει μία θετική συσχέτιση ανάμεσα στη δραστηριότητα της PAF-AH και την ολική ή LDL χοληστερόλη του πλάσματος στους μάρτυρες και στους στεφανιαίους ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κοπώσεως, δεν βρέθηκε τέτοια συσχέτιση στους στεφανιαίους

ασθενείς με θετική δοκιμασία κοπώσεως. Από τα ευρήματα αυτά προκύπτει το ενδεχόμενον να μπορεί να πιθανολογηθεί η μυοκαρδιακή ισχαιμία χωρίς πραγματοποίηση δοκιμασίας κόπωσης όταν δηλαδή υπάρχει η ισχαιμική νόσος και δεν είναι παρούσα η ισχαιμία τη στιγμή της εξέτασης.

Δ.ΠΕΡΙΛΗΨΗ.

Σε 21 μάρτυρες και 44 ασθενείς με στεφανιαία νόσο, πραγματοποιήθηκε δοκιμασία κόπωσης και μελετήθηκε η απάντηση των αιμοπεταλίων στη συσσωρευτική δράση του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF), σε σχέση με τα επίπεδα του PAF στο πλάσμα, τη δραστηριότητα της PAF –ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH) και τη λιπιδαιμική φυσιολογία των ασθενών αυτών. Σε 21 ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης, οι τιμές PAF EC₅₀ βρέθηκαν σημαντικά ελαττωμένες στην ηρεμία σε σχέση με τους 21 μάρτυρες (12.6±3.9nM και 24.9±11.7nM αντίστοιχα) (P<0.0001). Επιπρόσθετα το μέγιστο ποσοστό συσσώρευσης σε 50 nM PAF βρέθηκε σημαντικά αυξημένο (20.0±4.3% προς 13.5±3.6%) (P<0.0001). Αντίθετα οι τιμές PAF EC₅₀ και το μέγιστο ποσοστό συσσώρευσης στους 23 στεφανιαίους ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κόπωσης δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τους μάρτυρες (25.2±11.4nM και 14.1± 4.7%, αντίστοιχα).

Μετά το τέλος της δοκιμασίας κόπωσης, οι τιμές του PAF EC₅₀ και το μέγιστο ποσοστό συσσώρευσης δεν άλλαζαν και στις τρεις ομάδες, δεν υπήρχαν επίσης στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα PAF στο πλάσμα είτε πριν είτε μετά το τέλος της δοκιμασίας. Στους ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης, η ενεργότητα της PAF-AH σε ηρεμία ήταν σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τους μάρτυρες (37.2±8.0nmol.ml⁻¹.min⁻¹ και 32.4±4.3nmol.ml⁻¹.min⁻¹, (P<0.03), ενώ η ενεργότητα του ενζύμου δεν διέφερε ανάμεσα στους ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κόπωσης και στους μάρτυρες (33.2±6.1nmol.ml⁻¹.min⁻¹).

Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας κόπωσης, δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στην ενεργότητα της PAF-AH και στις τρεις ομάδες. Η ενεργότητα του ενζύμου βρέθηκε σε θετική συσχέτιση με την ολική και χαμηλής πυκνότητας χοληστερόλη (LDL) του πλάσματος τόσο στους μάρτυρες όσο και στους ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κόπωσης, αντίθετα δεν βρέθηκε συσχέτιση στους ασθενείς με θετική δοκιμασία. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι στους στεφανιαίους ασθενείς υπάρχει μια αιμοπεταλιακή υπερευασθησία στον PAF που πιθανά παίζει ρόλο στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό της ισχαιμίας.

E. SUMMARY.

The platelet response to the aggregatory effect of platelet-activating factor (PAF) in relation to blood PAF levels, serum PAF acetylhydrolase (PAF-AH) activity and to their lipidaemic profile, was studied in 44 patients with coronary artery disease undergoing exercise tests. The PAF EC₅₀ values in 21 patients with positive exercise tests were found to be significantly decreased at rest compared with 21 normal subjects (12.6±3.9nM and 24.9±11.7nM respectively) (P<0.0001). Moreover the maximal percentage of aggregation to 50 nM PAF was found to be significantly increased (20.0±4.3% vs 13.5±3.6% respectively) (P<0.0001). By contrast, the PAF EC₅₀ values and the maximal percentage of aggregation in 23 patients with negative exercise test results were not statistically significantly different from the control group (25.2±11.4 Nm and 14.1±4.7%, respectively).

At the end of exercise, the PAF EC₅₀ values and the maximal percentage of aggregation did not change in any group, and there were no significant differences in the whole-blood PAF levels either at rest or at the end of exercise. In patients with positive exercise test results, the PAF-AH activity at rest was significantly higher compared with the control group (37.2±8.0 nmol.ml⁻¹.min⁻¹ vs 32.4±4.3 nmol.ml⁻¹.min⁻¹), (P<0.03), whereas the enzyme activity did not differ in patients with negative exercise test results compared to controls (33.6±6.1 nmol.ml⁻¹.min⁻¹).

There was no change in PAF-AH activity during exercise in any group. The enzyme activity was positively correlated to the serum total and low

density lipoprotein (LDL) cholesterol levels in the control group and in patients with negative exercise test results, whereas no correlation was found between PAF-AH activity and total or LDL cholesterol levels in patients with positive exercise test results. Our results suggest that platelet hyper-reactivity to PAF may play a pathophysiological role in ischaemia observed during exercise in coronary artery disease patients.

ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.

1) Sarnoff SJ, Branwald E, Welch JH Jr, et al: **Hemodynamic determinates of oxygen consumption of the heart with special references to the tension time index.** *Am J Physiol* 192:148, 1958.

2) Baller D, Bretschneider HJ, Hellige G: **Validity of myocardial oxygen consumption parameters.** *Clin Cardiol* 5:317, 1979.

3) Branwald E, Graham TP Jr, Covell JW, et al: **Control of myocardial oxygen consumption. Relative influence of contractile state and tension development.** *J Clin Invest* 47:375,1968.

4) Branwald E: **Heart disease. A textbook of cardiovascular medicine.** *W.B.Saunders.HBJ International edition.*1992.

5) Provenza DV, Scherlis S: **Coronary circulation in dog's heart. Demonstration of muscle sphincters in cappillaries.** *Circ Res* 7:318, 1959.

6) Habib G.B., Heibig J., Forman S.A., et al.: **Influence of coronary collateral vessels on myocardial infarct size in humans: Results of Phase I thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) trial.** *Circulation*; 83:739, 1991.

7) Verani M.S.: **The functional significance of coronary collateral vessels. Anecdote confronts science.** *Cathet Cardiocasc Diagn*; 9:333, 1983.

8) Marcus M.L.: **The Coronary circulation in Health and Disease.** *New York, McGraw Hill and Company*; 465pp, 1983.

- 9) Woodman O.L., and Vatner S.F.: **Coronary vasoconstriction mediated by α_1 and α_2 adrenoreceptors in the conscious dog.** *Am J Physiol*; 253: H388, 1988.
- 10) Oien A.H., and Aukland K.: **A mathematical analysis of the myogenic hypothesis with special reference to autoregulation of renal blood flow.** *Circ Res*; 52:241, 1983.
- 11) Olsson R.A., and Bugni W.J.: **Coronary circulation.** In Fozzard H.A., et al. (eds): **The Heart and Cardiovascular System.** New York, Raven Press; pp987-1038, 1986.
- 12) Guyton, A.C.: **Textbook of Medical Physiology, 7th ed.** Philadelphia, W.B.Saunders Company, 1986.
- 13) Froelicher, V.F., and Marcondes, G.D.: **Manual of Exercise Testing.** Chicago, Year Book Medical Publishers, Inc. , 1989.
- 14) Ellestad, M. H.: **Stress Testing. Principles and Practice. 4th ed.** Philadelphia, F. A. Davis, 1986.
- 15) Mark, D.B., Hlatky, M.A., Lee, K.L., et al.: **Localizing coronary artery obstructions with exercise treadmill test.** *Ann. Intern. Med.* 106:53,1987.
- 16) Kubota, L., Hanashima, K., Ideda, K., et al.: **Detection of diseased coronary artery by exercise ST-T maps in patients with effort angina pectoris, single vessel disease, and normal ST-T wave on electrocardiogram at rest.** *Circulation* 80:120, 1989.
- 17) Gianrossi, R., Detrano, R., Mulvihill, D., et al: **Exercise induced ST depression in the diagnosis of coronary artery disease. A meta analysis.** *Circulation* 80:87, 1989.

18) Detrano, R., Gianrossi, R., Mulvihill, D., et al.: **Exercise induced ST segment depression in the diagnosis of multivessel coronary disease. A meta analysis.** *J. Am. Coll. Cardiol.* 14:1501,1989.

19) Detrano, R., Leatherman, J., Salcedo, E.E., et al.: **Bayhesian analysis versus discriminant analysis: Their relative utility in the diagnosis of coronary disease.** *Circulation* 73:970, 1986.

20) Ekelund, L.G., Suchidran, C.M., McMahon, R.P., et al.: **Coronary heart disease morbidity and mortality in hypercholesterolemic men predicted from an exercise test: The Lipid Research Clinics Coronary Primary Precential Trial.** *J. Am. Coll. Cardiol.* 14:556, 1989.

21) Weiner, D.A., Ryan, T.J., McCabe, C.H., et al.: **Prognostic importance of a clinical profile and exercise test in medically treated patient with coronary artery disease.** *J. Am. Coll. Cardiol.* 3:772, 1984.

22) Krogh, A.: **The anatomy and physiology of capillaries.** *New Heaven Connecticut. Yale University Press.* 22:1929.

23) Svensjo, E., Joyner, W.L.: **The effects of intermittent and continuous stimulation of microvessels in the cheek pouch of hamsters with histamine and bradykinin on the development of venular leaky sites.** *Microcirc Endothelium Lymphatics.* 1:381-396;1984.

24) Simionescu, N., Simionescu, M.: **Cellular interactions of lipoproteins with the vascular endothelium: endocytosis and transcytosis.** In: Shaw JM, ed. **Lipoproteins as carriers of pharmacological agents.** *New York: Dekker,* 45-95. 1991.

25) Furchgott, R.F., Zawadzki, J.V.: **The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine.** *Nature*, 288:373-379. 1980.

26) Davies, P.F., Tripathi, S.C.: **Mechanical stress mechanisms and the cell: an endothelial paradigm (Mini review).** *Circ Res*, 72:239-244. 1993.

27) Resnick, N., Collins, T., Atkinson, W., Bonthron, D.T., Dewey, C.F.Jr., Gimbrone, M.A.Jr.: **Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting fluid shear stress-responsive element.** *Proc Natl Acad Sci USA*, 90:4591-4595. 1993.

28) Nagel, T., Resnick, N., Atkinson, W.J., Dewey, C.F.Jr., Gimbrone, M.A.Jr.: **Shear stress selectively upregulates intercellular adhesion molecule-1 expression in cultured human vascular endothelial cells.** *J Clin Invest*, 94:885-891. 1994.

29) DiCorleto, P.E., Chisolm, G.M.: **Participation of the endothelium in the development of the atherosclerotic plaque.** *Prog Lipid Res*, 25:365-374. 1986.

30) Springer, T.A.: **Traffic signals for the lymphocytes recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm.** *Cell*, 76:301-314. 1991.

31) Butcher, E.C.: **Leukocyte-endothelial cell recognition: Three (or more) steps to specificity and diversity.** *Cell*, 67:1033-1036. 1991.

32) Narahara, N., Enden, T., Wijger, M., Prydz, H.: **Polar expression of tissue factor in human umbilical vein endothelial cells.** *Arterioscler Thromb*, 268:421-429. 1994.

33) Jougasaki, M., Kugiyama, K., Saito, Y., Nakao, K., Imura, H., Yasue, H.: **Suppression of endothelin-1 secretion by lysophosphatidylcholine in oxidized low density lipoprotein in cultured vascular endothelial cells.** *Circ Res*, 71:614-619. 1992.

34) Kuchan, M.I., Frangos, J.A.: **Shear stress regulates endothelin-1 release via protein kinase C and cGMP in cultured endothelial cells.** *Am J Physiol*, 264: H150-H156. 1993.

35) Galle, J., Schenk, I., Schollmeyer, P., Wanner, C.: **Cyclosporine and oxidized lipoproteins affect vascular reactivity: influence of the endothelium.** *Hypertension*, 21:315-321. 1993.

36) Matsuda, Y., Hirata, K., Inoue, N., Suematsu, M., Kawashima, S., Akita, H., Yokoyama, M.: **High density lipoprotein reverses inhibitory effect of oxidized low density lipoprotein on endothelium-dependent arterial relaxation.** *Circ Res*, 72:1103-1109. 1993.

37) DiCorleto, P.E., Fox, P.L.: **Growth factor production by endothelial cells.** In: Ryan, U. ed. *Endothelial cells, Vol II.* Boca Raton, Florida: CRC Press; 51-61. 1988.

38) Shankar, R., de la Motte, C.A., DiCorleto, P.E.: **3-Deazaadenosine inhibits thrombin-stimulated platelet derived growth factor production and endothelial-leucocyte adhesion molecule-1-mediated monocytic cell adhesion in human aortic endothelial cells.** *J Biol Chem*, 267:9376-9382. 1992.

39) Marui, N., Offerman, M.K., Swerlick, R., Kunsch, C., Rosen, C.A., Ahmad, M., Alexander, R.W., Medford, R.M.: **Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated**

through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest*, 92:1866-1874. 1993.

40) Fishman, J.A., Ryan, G.B., Karnovsky, M.J.: **Endothelial regeneration in the rat carotid artery and the significance of endothelial denudation in the pathogenesis of myointimal thickening.** *Lab Invest*, 32:339-351. 1975.

41) Chleboun, J.O., Martins, R.N., Mitchell, C.A., Chirila, T.V.: **bFGF enhances the development of the collateral circulation after acute arterial occlusion.** *Biochem Biophys Res Commun*, 185:510-516. 1992.

42) Marcus, A.J., Hajjar, D.P.: **Vascular transcellular signalling.** *J Lipid Res*, 34:2017-2032. 1993.

43) Metcalf, D.: **Thrombopoietin-at last.** *Nature*, 369:519-520. 1994.

44) Marcus, A.J., Zucker-Franklin, D., Safier, L.B., et al.: **Studies on human platelet granules and membranes.** *J Clin Invest*, 45:14-28. 1966.

45) Roth, G.J.: **Developing relationships: Arterial platelet adhesion, glycoproteins Ib, and leucine-rich glycoproteins.** *Blood*, 77:5-19. 1991.

46) White, J.G.: **Electron microscopic studies of platelet secretion.** In Spaet, T.H. (ed.): *Progress in Hemostasis and Thrombosis. Vol.2.* New York, Grune and Stratton, pp. 49-98. 1974.

47) Stein, B., Fuster, V., Israel, D.H., et al.: **Platelet inhibitor agents in cardiovascular disease - an update.** *J. Am. Coll. Cardiol.* 14:813, 1986.

48) Antiplatelet Trialists' Collaboration: **Secondary prevention of vascular disease by prolonged antiplatelet treatment.** *Br. Med. J.* 296:320, 1988.

49) FitzGerald, G.A., Brash, A.R., Oates, J.A., and Pedersen, A.K.: **Endogenous prostacyclin biosynthesis and platelet function during selective inhibition of thromboxane synthase in man.** *J. Clin. Invest.* 71:1336, 1983.

50) FitzGerald, G.A.: **Dipyridamole.** *N. Engl. J. Med.* 316:1247, 1987.

51) Lewis, P., and Taylor, H.M.: **Dazoxiben-Clinical prospects for a thromboxane synthase inhibitor.** *Br. J. Clin. Pharmacol.* 15:1S, 1983.

52) Haes, W.K., and Kamm, B.: **The North American Ticlodipine Aspirin Stroke Study: Structure, stratification, variables and patient characteristics. Ticlodipine quo vadis?** *Agents Actions 15 (Suppl.):* 273, 1984.

52a) The EPIC Investigators. **Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high risk coronary angioplasty.** *N Engl J Med.* 330:956-961, 1994.

52b) Theroux P, Kouz S, Roy L, Knudtson ML, Diodati JG, Marquis J, Nasmith J, Fung AY, Boudreault J, Delage F, Dupuis R, Kells C, Bokslag M, Steiner B, Rapold HJ. **Platelet membrane receptor glycoprotein IIb/IIIa antagonism in unstable angina.** *Circulation.* 94:899-905, 1996.

52y) Willerson JT. **Inhibitors of platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors: will they be useful when given chronically?** *Circulation.* 94:866-868, 1996.

52d) Weitz JI, Calif RM, Ginsberg JS, Theroux P. **New antithrombotics.** *Chest.* 108(suppl):471S-485S, 1995.

52e) Topol EJ, Callif RM, Weisman HF, Ellis SG, Tchong JE, Worley S, Ivanhoe R, George BS, Fintel D, Weston M, Sigmon K, Anderson KM, Lee

KL, Willerson JT. On behalf of the EPIC Investigators. **Randomised trial of coronary intervention with antibody against platelet IIb/IIIa integrin for reduction of clinical restenosis: results at six months.** *Lancet.* 343:881-886, 1994.

53) Voelkel, N.F., Chang, S.W., Pfeffer, K.D., et al.: **PAF antagonists: Different effects on platelets, neutrophils, guinea pig ileum and PAF - induced vasodilation in isolated rat lung.** *Prostaglandins* 32:359, 1986.

54) Gold, H.K., Collier, B.S., Yasuda, T., et al.: **Rapid and sustained coronary artery recanalization with combined bolus injection of recombinant tissue-type plasminogen activator and monoclonal antiplatelet GpIIb/IIIa antibody in canine preparation.** *Circulation* 77:670, 1988.

55) Schor, K., Ahland, B., Darius, H., and Weiss, P.: **Stimulation of vascular PGI₂ by organic nitrates and its significance for the antiaanginal effect.** *Scand. J. Lab. Clin. Invest.* 173(Suppl.):33, 1984.

56) Pumphrey, C.W., Fuster, V., Dewarjee, M.K., et al.: **Comparison of the antithrombotic action of calcium antagonist drugs with dipyridamole in dogs.** *Am. J. Cardiol.* 51:591, 1983.

58) Hanahan, D.J.: **Platelet activating factor: A biologically active phosphoglyceride.** *Annu. Rev. Biochem.* 55:483-509, 1986.

59) **Platelet-Activating Factor and related Lipid Mediators.** *Plenum Press, New York*, 1987.

60) Prescott, S.M., Zimmerman, G.A., McIntyre, T.M.: **Platelet-activating factor.** *J. Biol. Chem.* 265:17381-17384, 1990.

61) Albert, D.H., and Snyder, F.: **Biosynthesis of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine by rat alveolar macrophages. Phospholipase A₂ and acetyltransferase activities during phagocytosis and ionophore stimulation.** *J. Biol. Chem.* 258: 97-102, 1983.

62) Lee, T-C: **Biosynthesis of platelet activating factor, Substrate specificity of 1-O-alkyl-2-lyso-sn-glycero-3-phosphorylcholine: acetyl-CoA acetyltransferase in rat spleen microsomes.** *J. Biol. Chem.* 260: 10952-10955, 1985.

63) Uemura, Y., Lee, T-C. and Snyder, F.: **A CoA-independent transacylase iw linked to the formation of PAF by generating the lyso-PAF intermediate in the remodeling pathway.** *J. Biol. Chem.* 266: 8268-8272, 1991.

64) Blank, M.L., Smith, Z.L., Fitzgerald, V. and Snyder, F.: **The CoA-independent transacylase in PAF biosynthesis: tissue distribution and molecular species selectivity.** *Biochim. Biophys. Acta.* 1254: 295-301, 1995.

65) Nieto, M.L., Venable, M.E., Bauldry, S.A., Greene, D.G., Kennedy, M., Bass, D.A., and Wyckle, R.L.: **Evidence that hydrolysis of ethanolamine plamalogens triggers synthesis of platelet-activating-factor via transacylation reaction.** *J. Biol. Chem.* 266: 18699-18706, 1991.

66) Sugiura. T., Fukuda, T., Masuzawa, R., and Waku, K.: **Ether lysophospholipid-induced production of platelet-activating-factor in human polymorphonuclear leukocytes.** *Biochim. Biophys. Acta.* 1047: 223-232, 1990.

67) Venable, M.E., Nieto, M.L., Schmitt, J.D., and Wyckle, R.L.: **Conversion of 1-O-[³H]alkyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-phosphorylcholine to lyso platelet-activating-factor by the CoA-independent transacylase in membrane fractions.** *J. Biol. Chem.* 266: 18691-18698, 1991.

68) Venable, M.E., Olson, S.C., Nieto, M.L., and Wyckle, R.L.: **Enzymatic studies of lyso platelet-activating-factor acylation in human neutrophils and changes upon stimulation.** *J. Biol. Chem.* 268: 7965-7975, 1993.

69) Winkler, J.D., Sung, C-M., Hubbard, W.C., and Chilton, F.H.: **Evidence for different mechanisms involved in the formation of lyso platelet-activating-factor and the calcium-dependent release of arachdonic acid from human neutrophils.** *Biochem. Pharmacol.* 44: 2055-2066, 1992.

70) Colard, O., Bidault, J., Breton, M., and Ninio, E.: **Biosynthesis of platelet-activating-factor in cultured mast cells. Involvement of the CoA-independent transacylase demonstrated by the analysis of the molecular species of platelet-activating-factor.** *Eur. J. Biochem.* 216: 835-840, 1993.

71) Tessner, T.G., Greene, D.G., and Wyckle, R.L.: **Selective deacylation of arachidonate-containing ethanolamine-linked phosphoglycerides in stimulated CoA-independent transacylase** *J. Biol. Chem.* 265: 21032-21038, 1990.

72) Chilton, F.H., and Connel, T.R.: **1-ether-linked phosphoglycerides. Major endogenous sources of arachidonate in human neutrophil.** *J. Biol. Chem.* 263: 5260-5265, 1988.

73) Ninio, E., Breton, M., Bidault, J., and Colard, O.: **Biosynthesis of paf-acether. XVII. Regulation by the CoA-independent transacylase in human neutrophils.** *FEBS Lett.* 289:138-140, 1991.

74) Lee, T-C, Uemura, Y., Snyder, F.: **A novel CoA-independent transacylase produces the ethanolamine plamalogen and acyl analogs of platelet-activating-factor (PAF) with PAF as the acetate donor in HL-60 cells.** *J. Biol. Chem.* 267: 19992-20001, 1992.

75) Liu, M., and Subbaiah, P.V.: **Hydrolysis and transesterification of platelet activating factor by lecithin-cholesterol acyltransferase.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91: 6035-6039, 1994.

76) Lee, T-C., Malone, B., and Snyder, F.: **Formation of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerols via de novo biosynthetic pathway for platelet activating factor. Characterization of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphate phosphohydrolase in rat spleens.** *J. Biol. Chem.* 263: 1755-1760, 1988.

77) Lee, T-C., Malone, B., and Snyder, F.: **A new de novo pathway for formation of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerols, precursors of platelet activating factor. Biochemical characterization of 1-alkyl-2-lyso-sn-glycero-3-P: acetyl-CoA acetyltransferase in rat spleen.** *J. Biol. Chem.* 261: 5373-5377, 1988.

78) Snyder, F., Lee, T-C.: **1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphate phosphatase.** *Methods Enzymol.* 209:230-234, 1992.

79) Blank, M.L., Lee, T-C., and Snyder, F.: **A specific acetylhydrolase for 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (a**

hypotensive and platelet activating lipid). *J. Biol. Chem.* 256: 175-178, 1981.

80) Stafforini, D.M., Prescott, S.M., Zimmerman, G.A., and McIntyre, T.M.: **PAF acetylhydrolase in human tissues and blood cells. *Lipids* 26:979-985, 1991.**

81) Stafforini, D.M., Prescott, S.M., and McIntyre, T.M.: **Human plasma platelet activating factor acetylhydrolase: purification and properties. *J. Biol. Chem.* 262: 4223-4230, 1987.**

82) Stafforini, D.M., Carter, M.E., McIntyre, T.M., and Prescott, S.M.: **Human plasma platelet activating factor acetylhydrolase: association with lipoprotein particles and role in the degradation of platelet activating factor. *J. Biol. Chem.* 262: 4215-4222, 1987.**

83) McDonald, J.I.S., and Sprecher, H.: **Phospholipid fatty acid remodeling in the mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 1084: 105-121, 1991.**

84) Snyder, F., Lee, T-C., and Blank, M.L.: **The role of transacylases in the metabolism of arachidonate and platelet activating factor acetylhydrolase. *J. Lipid Res.* 31: 65-86, 1992.**

85) Steinbrecher, U.P., and Pitchard, P.H.: **Hydrolysis of phosphatidylcholine during LDL oxidation is mediated by platelet activating factor acetylhydrolase. *J. Lipid Res.* 30: 305-315, 1989.**

86) Stempler, K.E., Stafforini, D.M., Prescott, S.M., McIntyre, T.M.: **Human plasma PAF acetylhydrolase: Oxidative fragmented phospholipids as substrates. *J. Biol. Chem.* 266: 11095-11103, 1990.**

87) Hanahan, D.J., Demopoulos, C.A., Liehr, J., and Pinckard, R.N.: **Indedification of platelet activating factor isolated from rabbit basophils as acetyl glycerol ether phosphocholine.** *J. Biol. Chem.* 255: 5514-5516, 1980.

88) Chau, L-Y., Jii, Y-J.: **Characterization of ³H-labeled platelet activating factor receptor complex solubilized from rabbit platelet membranes.** *Biochem. Biophys. Acta.* 970: 103-112, 1988.

89) Hwang, S-B.: **Identification of a second putative receptor of labeled platelet activating factor from human polymorphonuclear leucocytes.** *J Biol. Chem.* 263: 3225-3233, 1988.

90) Kroegel, C., Yulkawa, T., Westwick, J., and Barnes, P.J.: **Evidence for two labeled platelet activating factor receptors on eosinophils: dissociation between PAF-induced intracellular calcium mobilization degranulation and superoxide anion generation in eosinophils.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 162: 511-522, 1989.

91) Berridge, M.J.: **Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messengers.** *Biochem. J.* 220: 345-360, 1984.

92) Marcus, A.J.: Platelet Activation. In Fuster, V., Ross, R., Topol, E.J., eds. **Atherosclerosis and coronary artery disease.** Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. 607-637, 1996.

93) Badimon, L., and Badimon, J.J.: **Interactions of platelet activation and coagulation.** In Fuster, V., Ross, R., Topol, E.J., eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease.* Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. 639-656, 1996.

94) Bussolino, F., Camussi, G., Aglieta, M, et al. **Human endothelial cells are target for platelet activating factor (PAF). I. PAF induces changes in cytoskeleton structures.** *J Immunol*, 139: 2439-3446, 1987.

95) Emeis, J.J., and Kluft, C.: **PAF-acether-induced release of tissue plasminogen activator from vessel wall.** *Blood*. 66: 86-91, 1985.

96) Rouis, M., Nigon, F., and Chapman, M.J.: **Platelet activating factor is a potent stimulator of the production of active oxygen species by human monocyte-derived macrophages.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 156: 1293-1298, 1988.

97) Lewis, M.S., Whatley, R.E., Cain, P., McIntyre, T.M., Prescott, S.M., and Zimmerman, G.A.: **Hydrogen peroxide stimulates synthesis of platelet activating factor by endothelium and induces endothelial cell-dependent neutrophil adhesion.** *J. Clin. Invest.* 82: 2045-2055, 1988.

98) Quinn, M.T., Parthasarathy, S., and Steinberg, D.: **Lysophosphatidilocholine: a chemotactic factor for human monocytes and its potential role in atherogenesis.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85: 2805-2809, 1988.

99) Ward, P.A., Warren, J.S., Varani, J., and Johnson, K.J.: **PAF, cytokines, toxic oxygen products and cell injury.** *Molec. Aspects Med.* 12: 169-174, 1991.

100) Springer, T.A.: **Traffic signals for lymphocyte recirculation and leucocyte emigration: the multistep paradigm.** *Cell.* 76, 301-314, 1994.

101) Prescott, S.M., Zimmerman, G.A., and McIntyre, T.M.: **Human endothelial cells in culture produce platelet activating factor (1-alkyl-2-**

acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine) when stimulated by thrombin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81: 3534-3538, 1984.

102) McIntyre, T.M., Zimmerman, G.A., Satoh, K., and Prescott, S.M.: **Cultured endothelial cells synthesize both platelet activating factor and prostacyclin in response to histamine, bradykinin and adenosine triphosphate. *J. Clin. Invest.* 76: 271-280, 1985.**

103) Camussi, G., Tetta, C., Bussolino, F., Salvidio, G., and Bagnoli, G.: **Synthesis and release of platelet activating factor is inhibited by plasma α 1-proteinase inhibitor or α 1-antichymotrypsin and is stimulated by proteinases. *J. Exp. Med.* 168: 1293-1306, 1988.**

104) Zimmerman, G.A., McIntyre, T.M., Mehra, M., and Prescott, S.M.: **Endothelial cell associated platelet activating factor. A novel mechanism for signaling intercellular adhesion. *J. Cell. Biol.* 110: 529-540, 1990.**

105) Prescott, S.M., McIntyre, T.M., Zimmerman, G.A.: **The role of platelet activating factor in endothelial cells. *Thromb. Hemost.* 64: 99-103, 1990.**

106) Zavoico, G.B., Ewenstein, B.M., Schafer, A.J., and Pober, J.S.: **B-2 and related cytokines enhance thrombin-stimulated PG12 production in cultured endothelial cells without affecting von Willebrand factor secretion or platelet activating factor synthesis. *Immunology*, 142: 3993-3999, 1989.**

107) Vercelloti, C.M., Wickman, N.W.R., Gustafson, K.S., Yin, H.Q., Hebert, M., and Jacomb, H.S.: **Thrombin-treated endothelium primes neutrophil functions: Inhibition by platelet activating factor receptor antagonists. *J. Leucocyte Biol.* 45:483-490, 1989.**

108) Zimmerman, G.A., McIntyre, T.M., and Prescott, S.M.: **Thrombin stimulates adherence of neutrophils to human endothelial cells in vitro.** *J. Clin. Invest.* 76: 2235-2246, 1985.

109) Lorant, D.E., Tophan, M.K., Whatley, R.E., McEver, R.E., McIntyre, R.P., Prescott, S.M., and Zimmerman, G.A.: **Inflammatory roles of P-selectin.** *J. Clin. Invest.* 92: 559-570, 1993.

110) Silvestro, L., Ruikun, C., Sommer, F., Duc, T.M., Biancone, L., Montrucchio, G., and Camussi, G.: **Platelet activating factor-induced endothelial cells expression of adhesion and modulation of sulfate glycoalyx, evaluated by electron spectroscopy chemical analysis.** *Sem. Thromb. Haemost.* 20: 214-222, 1994.

111) Bussolino, F., Arese, M., Silvestro, L., Soldi, R., Benfenati, E., Sanavio, F., Aglietta, M., Bosia, A., and Camussi, G.: **Involvement of a serine protease in the synthesis of platelet activating factor by endothelial cells stimulated by IL-1 α or TNF α .** *Eur. J. Immunol.* 24: 3131-3139, 1994.

112) Kuijpers, T.W., Hakkert, B.C., Hoogerwerf, M., Leewenberg, J.F.M., and Roos, D.: **Role of endothelial leucocyte adhesion molecule-1 and platelet activating factor in neutrophil adherence to IL-1 prestimulated endothelial cells. Endothelial leucocyte adhesion molecule-1-mediated CD18 activation.** *J. Immunol.* 147: 1369-1376, 1991.

113) Hill, M.E., Bird, I.N., Daniels, R.H., Elmore, M.A., and Finnen, M.J.: **Endothelial cells-associated platelet activating factor primes neutrophils for enhanced superoxide production and arachidonic acid**

release during adhesion to but not transmigration across IL-1 β -treated monolayers. *J. Immunol.* 153: 3673-3682, 1994.

114) Takata, S., Papayanni, A., Matsubara, M., Jimenez, W., Prohovost, P.H., and Brady, H.R.: **15-Hydroxyeicosatetraenoic acid inhibits neutrophil migration across cytokine-activated endothelia.** *Am. J. Pathol.* 145: 541-549, 1994.

115) Renkonen, R., Mattila, P., and Ustinov, J.: **Signal transduction during platelet activating factor-induced lymphocyte binding to endothelial cells.** *Scand. J. Immunol.* 31: 523-527, 1990.

116) Bussolino, F., DeRossi, M., Sica, A., Colotta, F., Wang, J.M., Bocchietto, E., Padura, I.M., Bosia, A., Dejana, E., and Mandovani, A.: **Murine endothelioma cell lines transformed by polyoma middle t oncogene as target for producers of cytokines.** *J. Immunol.* 147: 2122-2129, 1991.

117) Zimmerman, B.J., Holt, J.W., Paulson, J.C., Anderson, D.C., Miyasaka, M., Tamatani, T., Todd, R.F., Rusche, J.R., and Granger, D.N.: **Molecular determinants of lipid mediator-induced leucocyte adherence and emigration in rat mesenteric venules.** *Am. J. Physiol.* 266: H847-H853, 1994.

118) Laurindo F.R.M., Goldstein R.E., Davenport N.J., Ezra D., Feuerstein G.Z.: **Mechanisms of hypotension produced by platelet-activating factor.** *J Appl Physiol* 66:2681,1989.

119) Piper P.J., Stewart A.G.: **Coronary vasoconstriction in the rat isolated perfused heart induced by platelet-activating factor is mediated by leucotriene C₄.** *Br J Pharmacol* 88:595, 1986.

120) Ezra D., Laurindo F.R.M., Czaja J.F., Snyder F., Goldstein R.E., Feuerstein G.: **Cardiac and coronary consequences of intracoronary platelet activating factor in the domestic pig.** *Prostaglandins*. 34:41, 1987.

121) Bradley L.M., Stambouly J.J., Czaja J.F., Goldstein R.E.: **Influence of thromboxane A₂ receptor antagonism on pulmonary vasoconstrictor responses.** *Pediatr Res* 26:175, 1989.

122) Levi R., Burke J.A., Guo Z.G., et al: **Glyceryl ether phosphorylcholine a putitive mediator of cardiac anaphylaxis in the guinea pig.** *Br J Pharmacol*. 89:766, 1986.

123) Nakaya H., Tohse N.: **Electrophysiological effects oj acetyl glyceryl ether phosphocholine on cardiac tissues: comparison with lysophosphatidylcholine and lond chain acyl carnitine.** *Br J Pharmacol*. 89:749, 1986.

124) Shalev Y., Zander G., Port S., et al.: **Elevated blood levels of platelet activating factor in patients with unstable angina.** *J Am Coll Cardiol* 15:129A, 1990.

125) Stahl G.L., Terashita Z., Lefer A.: **Role of platelet activating factor in propagation of myocardial damage during myocardial ischemia.** *J Pharmacol Exp Ther* 244:898, 1988.

126) Braquet P., Paubert-Brquet M., Koltai M., Bourgain R., Bussolino F., Holford D.: **Is there a case of paf antagonists in the treatment of ischemic states?** *TIPS* 10:23, 1989.

127) Brecher G., Cronkite E.P.: **Morphology and enumeration of human blood platelets.** *J Apply Physiol*, 3:365-377, 1950.

128) Tselepis A.D., Lekka M.E., Tsoukatos D.: **A PAF acetylhydrolase activity in Tetrathymena pyriformis cells.** *FEBS Lett*; 288: 147-150, 1991.

129) Bligh E.G., Dyer W.J.: **A rapid method of total lipid extraction and purification.** *Can J Biochem Physiol*; 37:911-917, 1959.

130) Bossat M.J., Ninio E., Dalautier D., Benveniste J.: **Bioassay for paf-acether by rabbit platelet aggregation.** In: *Marphy R.C., Fitzpatrick F.A. eds. Methods in Enzymology. San Diego: Academic Press*; 187:125-130, 1988.

131) Conti C.R., Mehta J.L.: **Acute Myocardial Ischemia: role of atherosclerosis, thrombosis, platelet activation, coronary vasospasm and altered arachidonic acid metabolism.** *Circulation*; (Suppl V): V84-V95, 1987.

132) Green L.H., Seropian E., Handin R.I.: **Platelet activation during exercise induced myocardial ischemia.** *N Engl J Med*; 302:193-197, 1980.

133) Winther K., Rein E.: **Exercise induced platelet aggregation in andina and its possible prevention by b1-selective blockade.** *Eur Heart J*; 11:819-823, 1990.

134) Fitzgerald D.J., Roy L., Catella F., Fitzgerald G.A.: **Platelet activation in unstable coronary disease.** *N Engl J Med*; 315:983-989, 1986.

135) Sobel M., Saltzman E.W., Davies G.C. et al.: **Circulating platelet products in unstable angina pectoris.** *Circulation*; 63:300-306, 1981.

136) Davies M.J., Woolf N.: **Atherosclerosis: What is and why does it occur.** *Br Heart J*; 69(Suppl): S3-S11, 1993.

137) Hendra T.J., Oughton J., Smith O.C.T., Betteridge D.J., Yudkin J.S.: **Exercise-induced changes in platelet aggregation: a comparison of**

whole blood and platelet rich plasma techniques. *Thromb Res*; 52:443-451, 1988.

138) Sakaguchi K., Hattori R., Yui Y., et al.: **Altered platelet α_2 adrenoreceptor in acute myocardial infarction and its relation to plasma catecholamine concentrations. *Br Heart J*; 55: 434-438, 1986.**

139) Jaschonek K., Karsch K.R., Weisenberger H., et al.: **Platelet prostacyclin binding in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*; 8:259-266, 1986.**

140) Montalescot G., Maclouf J., Drobinski G., et al.: **Lack of platelet-activating factor release during reversible myocardial ischaemia. *Eur Heart J*; 13:1641-1644, 1992.**

141) Zimmerman G.A., McIntyre T.M., Mehra M., Prescott S.M.: **Endothelial cell-associated platelet activating factor: a novel mechanism for signaling intracellular adhesion. *J Cell Biol*; 110:529-540, 1990.**

142) Zimmerman G.A., Prescott S.M., McIntyre T.M.: **Platelet-activating factor. A fluid-phase and a cell associated mediator of inflammation. In: Gallin J.I., Goldstein I.M., Snyderman R., eds. *Inflammation, Basic Principles and Clinical Correlates*. New York: Raven Press, 149-175, 1993.**

143) Holland G.A., McIntyre T.M., Zimmerman G.A., Prescott S.M.: **Cardiovascular effects of platelet-activating factor. *Trends Cardiovasc Med*; 1: 117-121, 1990.**

144) Ostermann G., Ruhling K., Zabel-Langhennig R., et al.: **Plasma from atherosclerotic patients exerts an increased degradation of Platelet-activating factor. *Thromb Res*; 47: 279-285: 1987.**

145) Stephens C.J., Graham R.M., Yavada O.P. et al.: **Plasma platelet activating factor degradation and serum lipids after coronary bypass surgery.** *Cardiovasc Res*; 26:25-31, 1992.

146) Satoh K., Imaizumi T-A., Kawamura Y., Yoshida H., Takamatsu M.: **Increased activity of the platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma low density lipoprotein from patients with essential hypertension.** *Prostaglandins*; 37: 673-682, 1989.

147) Stafforini D.M., Carter M.F., Zimmerman G.A., McIntyre T.M., Prescott S.M.: **Lipoproteins alter the catalytic behaviour of the platelet activating factor acetylhydrolase in human plasma.** *Proc Natl Acad Sci USA*; 86: 2393-2397, 1989.

Ζ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ζα.

ΜΑΡΤΥΡΕΣ- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΚΟΠΩΣΗΣ.

A/A	Ο/Ε(Ηλ)	Διάρκεια Ασκήσης (min)	Μεγίστη Καρδ. Συχν.(σφ/min)	Επιτευχθέντα METS
1.(02)	ΚΔ(52)	10.27	171	12.4
2.(03)	ΜΚ(53)	10.48	169	13.0
3.(04)	ΜΣ(54)	13.08	172	15.5
4.(05)	ΚΧ(53)	13.10	166	15.3
5.(06)	ΤΑ(47)	09.57	172	11.6
6.(09)	ΠΧ(40)	12.01	189	13.4
7.(11)	ΜΠ(40)	12.06	174	13.5
8.(16)	ΤΛ(41)	12.00	155	13.4
9.(19)	ΚΒ(53)	10.43	156	12.7
10.(23)	ΚΓ(52)	12.07	170	13.6
11.(33)	ΖΧ(51)	12.19	159	14.0
12.(34)	ΣΠ(48)	12.00	161	13.4
13.(35)	ΧΓ(44)	09.38	188	11.1
14.(36)	ΣΔ(51)	09.00	172	10.1
15.(42)	ΤΧ(39)	13.00	182	15.3
16.(50)	ΤΑ(50)	08.00	172	10.1
17.(56)	ΜΠ(46)	12.00	171	13.4
18.(57)	ΣΧ(48)	08.38	182	10.1

A/A: αύξων αριθμός (αριθμός σωληναρίου)

ΟΕ(Ηλ): Αρχικά ονομετεπώνυμου (Ηλικία σε χρόνια)

ΠΙΝΑΚΑΣ ΖΒ.

ΜΑΡΤΥΡΕΣ- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ : Vmax, PAF EC₅₀, PAF-AH, CHOL, HDL, LDL, TG.

A/A	Ο/Ε(Ηλ)	Vmax	PAF EC ₅₀	PAF-AH	CHOL.	HDL	LDL	TG
1.(02)	ΚΔ(52)	14.000	20.000	27.400	173.00	33.00	111.00	143.00
2.(03)	ΜΚ(53)	11.000	56.000	35.500	252.00	51.00	174.00	137.00
3.(04)	ΜΣ(54)	12.000	19.000	27.000	196.00	45.00	120.00	154.00
4.(05)	ΚΧ(53)	12.000	27.000	33.400	263.00	44.00	157.00	311.00
5.(06)	ΤΑ(47)	9.000	50.000	29.400	269.00	45.00	195.00	145.00
6.(09)	ΠΧ(40)	15.000	25.000	39.700	319.00	54.00	232.00	167.00
7.(11)	ΜΠ(40)	17.000	25.000	37.600	314.00	75.00	222.00	84.00
8.(16)	ΤΛ(41)	8.000	26.000	28.200	239.00	42.00	173.00	122.00
9.(19)	ΚΒ(53)	16.000	16.000	29.100	234.00	54.00	138.00	209.00
10.(23)	ΚΓ(52)	9.000	13.000	35.100	216.00	53.00	140.00	116.00
11.(33)	ΖΧ(51)	19.000	23.000	38.500	284.00	35.00	212.00	183.00
12.(34)	ΣΠ(48)	20.000	15.000	30.600	256.00	46.00	190.00	98.00
13.(35)	ΧΓ(44)	17.000	20.000	30.800	266.00	68.00	177.00	104.00
14.(36)	ΣΔ(51)	8.000	26.000	31.300	283.00	54.00	215.00	68.00
15.(42)	ΤΧ(39)	13.000	21.000	38.300	291.00	41.00	219.00	153.00
16.(50)	ΤΑ(50)	16.000	36.000	30.000	206.00	41.00	146.00	93.00
17.(56)	ΜΠ(46)	13.000	15.000	25.200	185.00	37.00	128.00	102.00
18.(57)	ΣΧ(48)	14.000	16.000	33.800	288.00	66.00	199.00	113.00

ΠΙΝΑΚΑΣ Ζγ.

ΟΜΑΔΑ 1- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΚΟΠΩΣΗΣ.

A/A	Ο/Ε(Ηλ)	Διάρκεια Ασκήσης (min)	Μεγίστη Καρδ. Συχν.(σφ/μιν)	Επιτευχθέντα METS
1(07)	ΤΧ(59)	10.01	137	10.1
2(10)	ΒΕ(64)	5.10	156	7.0
3(24)	ΡΓ(44)	6.37	141	7.7
4(27)	ΤΚ(67)	7.15	147	8.9
5(30)	ΒΧ(30)	6.13	148	7.3
6(37)	ΜΑ(62)	6.02	117	7.0
7(46)	ΤΓ(47)	9.55	169	11.6
8(47)	ΔΑ(57)	10.03	155	11.8
9(51)	ΝΚ(60)	8.00	192	10.1
10(53)	ΜΣ(64)	7.08	158	8.7
11(54)	ΜΣ(64)	5.42	119	7.0
12(58)	ΧΚ(69)	5.28	119	6.9
13(62)	ΠΑ(35)	4.23	143	4.2
14(65)	ΡΓ(60)	7.25	160	9.1
15(67)	ΠΓ(58)	9.04	129	10.0
16(70)	ΠΒ(55)	10.07	129	11.9
17(72)	ΜΧ(66)	6.26	170	7.6
18(73)	ΤΚ(68)	7.24	151	9.1
19(74)	ΜΘ(73)	3.05	117	4.6
20(75)	ΜΚ(64)	5.16	141	7.0
21(63)	ΒΑ(63)	7.40	143	9.1

ΠΙΝΑΚΑΣ Ζδ.

ΟΜΑΔΑ 1- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ : Vmax, PAF EC50, PAF-AH, CHOL, HDL, LDL, TG.

A/A	Ο/Ε(Ηλ)	Vmax	EC50	PAF-AH	CHOL	HDL	LDL	TG
1(07)	ΤΧ(59)	20.000	10.000	32.500	255.00	39.00	173.00	213.00
2(10)	ΒΕ(64)	21.000	15.000	30.000	261.00	39.00	191.00	157.00
3(24)	ΡΓ(44)	25.000	17.000	47.100	285.00	42.00	216.00	136.00
4(27)	ΤΚ(67)	15.000	12.000	42.000	229.00	34.00	158.00	183.00
5(30)	ΒΧ(30)	16.000	12.000	20.200	343.00	52.00	260.00	121.00
6(37)	ΜΑ(62)	19.000	9.000	41.400	257.00	36.00	169.00	258.00
7(46)	ΤΓ(47)	17.000	7.000	31.500	143.00	45.00	89.00	47.00
8(47)	ΔΑ(57)	22.000	10.000	38.200	245.00	25.00	156.00	319.00
9(51)	ΝΚ(60)	17.000	19.000	35.300	358.00	54.00	283.00	106.00
10(53)	ΜΣ(64)	20.000	10.000	38.200	231.00	29.00	170.00	161.00
11(54)	ΜΣ(64)	19.000	12.000	34.000	295.00	48.00	225.00	108.00
12(58)	ΧΚ(69)	23.000	10.000	38.300	291.00	41.00	219.00	153.00
13(62)	ΠΑ(35)	15.000	15.000	30.500	195.00	56.00	126.00	65.00
14(65)	ΡΓ(60)	15.000	20.000	55.000	276.00	25.00	210.00	206.00
15(67)	ΠΓ(58)	30.000	8.000	32.400	248.00	26.00	198.00	118.00
16(70)	ΠΒ(55)	19.000	14.000	30.100	245.00	38.00	182.00	124.00
17(72)	ΜΧ(66)	26.000	7.000	44.000	294.00	36.00	222.00	179.00
18(73)	ΤΚ(68)	12.000	11.000	28.400	219.00	61.00	140.00	88.00
19(74)	ΜΘ(73)	23.000	11.000	41.500	182.00	28.00	138.00	79.00
20(75)	ΜΚ(64)	23.000	15.000	43.700	279.00	32.00	182.00	326.00
21(63)	ΒΑ(63)	18.000	20.000	47.100	255.00	27.00	189.00	194.00

ΠΙΝΑΚΑΣ Ζε.

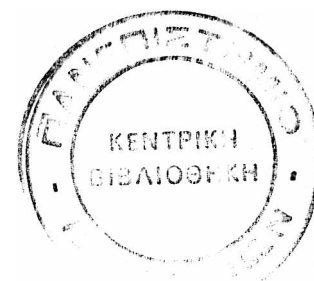
ΟΜΑΔΑ 2- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΚΟΠΩΣΗΣ.

A/A	Ο/Ε(Ηλ)	Διάρκεια Ασκήσης (min)	Μεγίστη Καρδ. Συχν.(σφ/μιν)	Επιτευχθέντα METS
1(08)	ΧΒ(42)	9.05	163	10.2
2(12)	ΠΘ(43)	12.02	139	13.4
3(14)	ΚΙ(71)	7.00	153	8.5
4(17)	ΠΙ(42)	7.37	185	9.5
5(18)	ΧΟ(62)	11.01	139	13.4
6(21)	ΑΧ(65)	9.00	159	10.1
7(22)	ΟΔ(65)	5.04	156	7.0
8(25)	ΚΧ(68)	8.45	161	10.1
9(29)	ΠΧ(62)	10.12	147	12.0
10(31)	ΧΚ(46)	12.00	168	13.4
11(38)	ΜΙ(41)	12.30	180	14.3
12(39)	ΚΠ(53)	9.47	168	11.3
13(40)	ΓΚ(40)	9.53	174	11.5
14(41)	ΠΓ(63)	12.03	132	13.4
15(43)	ΡΠ(41)	10.15	175	12.1
16(44)	ΕΣ(64)	9.07	131	10.2
17(48)	ΦΠ(65)	10.11	135	12.0
18(49)	ΝΒ(33)	12.25	154	14.1
19(52)	ΠΔ(37)	10.09	196	11.9
20(55)	ΤΛ(63)	9.44	162	11.3
21(64)	ΔΘ(61)	9.43	159	11.2
22(66)	ΣΣ(65)	9.05	140	10.0
23(69)	ΑΗ(61)	10.0	177	11.8
24(71)	ΠΒ(52)	4.12	182	06.0

ΠΙΝΑΚΑΣ Ζστ.

ΟΜΑΔΑ 2- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Vmax, PAF EC₅₀, PAF-AH, CHOL, HDL, LDL, TG.

A/A	Ο/Ε(ΗΛ)	Vmax	PAF EC ₅₀	PAF-AH	CHOL	HDL	LDL	TG
1(08)	XB(42)	9.000	19.000	25.800	238.00	34.00	147.00	283.00
2(12)	ΠΘ(43)	16.000	22.000	39.600	255.00	37.00	199.00	97.00
3(14)	ΚΙ(71)	12.000	12.000	30.600	256.00	34.00	188.00	172.00
4(17)	ΠΙ(42)	17.000	20.000	35.800	249.00	36.00	154.00	296.00
5(18)	ΧΟ(62)	10.000	22.000	27.000	205.00	42.00	123.00	202.00
6(21)	ΑΧ(65)	7.000	64.000	40.100	275.00	49.00	187.00	194.00
7(22)	ΟΔ(65)	12.000	31.000	33.400	274.00	35.00	171.00	338.00
8(25)	ΚΧ(68)	15.000	24.000	37.200	332.00	52.00	250.00	116.00
9(29)	ΠΧ(62)	13.000	36.000	31.900	200.00	34.00	137.00	143.00
10(31)	ΧΚ(46)	18.000	18.000	46.300	290.00	42.00	209.00	193.00
11(38)	ΜΙ(41)	13.000	24.000	42.600	266.00	26.00	205.00	174.00
12(39)	ΚΠ(53)	11.000	17.000	39.000	287.00	41.00	213.00	167.00
13(40)	ΓΚ(40)	12.000	30.000	35.000	230.00	34.00	177.00	95.00
14(41)	ΠΓ(63)	5.000	40.000	26.400	179.00	35.00	122.00	108.00
15(43)	ΡΠ(41)	9.000	30.000	25.700	158.00	36.00	110.00	60.00
16(44)	ΕΣ(64)	7.000	34.000	33.000	201.00	31.00	142.00	142.00
17(48)	ΦΠ(65)	10.000	20.000	45.000	330.00	38.00	225.00	334.00
18(49)	ΝΒ(33)	11.000	11.000	37.300	297.00	42.00	241.00	71.00
19(52)	ΠΔ(37)	19.000	18.000	37.300	267.00	52.00	191.00	121.00
20(55)	ΤΛ(63)	13.000	20.000	33.900	261.00	53.00	189.00	95.00
21(64)	ΔΘ(61)	16.000	38.000	28.500	218.00	41.00	160.00	86.00
22(66)	ΣΣ(65)	15.000	28.000	30.600	266.00	36.00	158.00	360.00



Δ.ΠΕΡΙΛΗΨΗ.

Σε 21 μάρτυρες και 44 ασθενείς με στεφανιαία νόσο, πραγματοποιήθηκε δοκιμασία κόπωσης και μελετήθηκε η απάντηση των αιμοπεταλίων στη συσσωρευτική δράση του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF), σε σχέση με τα επίπεδα του PAF στο πλάσμα, τη δραστηριότητα της PAF –ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH) και τη λιπιδαιμική φυσιολογία των ασθενών αυτών. Σε 21 ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης, οι τιμές PAF EC₅₀ βρέθηκαν σημαντικά ελαττωμένες στην ηρεμία σε σχέση με τους 21 μάρτυρες (12.6±3.9nM και 24.9±11.7nM αντίστοιχα) (P<0.0001). Επιπρόσθετα το μέγιστο ποσοστό συσσώρευσης σε 50 nM PAF βρέθηκε σημαντικά αυξημένο (20.0±4.3% προς 13.5±3.6%) (P<0.0001). Αντίθετα οι τιμές PAF EC₅₀ και το μέγιστο ποσοστό συσσώρευσης στους 23 στεφανιαίους ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κόπωσης δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τους μάρτυρες (25.2±11.4nM και 14.1± 4.7%, αντίστοιχα).

Μετά το τέλος της δοκιμασίας κόπωσης, οι τιμές του PAF EC₅₀ και το μέγιστο ποσοστό συσσώρευσης δεν άλλαζαν και στις τρεις ομάδες, δεν υπήρχαν επίσης στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα PAF στο πλάσμα είτε πριν είτε μετά το τέλος της δοκιμασίας. Στους ασθενείς με θετική δοκιμασία κόπωσης, η ενεργότητα της PAF-AH σε ηρεμία ήταν σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τους μάρτυρες (37.2±8.0nmol.ml⁻¹.min⁻¹ και 32.4±4.3nmol.ml⁻¹.min⁻¹, (P<0.03), ενώ η ενεργότητα του ενζύμου δεν διέφερε ανάμεσα στους ασθενείς με αρνητική δοκιμασία κόπωσης και στους μάρτυρες (33.2±6.1nmol.ml⁻¹.min⁻¹).