

Άρθρο Σύνταξης

Το Φαινόμενο της Ισχαιμικής Προετοιμασίας του Μυοκαρδίου και ο Περιορισμός της Νέκρωσης και της Απόπτωσης

ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ Κ. ΗΛΙΟΔΡΟΜΙΤΗΣ, ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Θ. ΚΡΕΜΑΣΤΙΝΟΣ

2η Καρδιολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
«Αττικόν» Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αθηνών

Λέξεις ευρετηρίου:
Ισχαιμική
προετοιμασία,
απόπτωση, νέκρωση

Διεύθυνση
Επικοινωνίας:
Ευστάθιος Κ.
Ηλιοδρομίτης

2η Πανεπιστημιακή
Καρδιολογική
Κλινική
Πανεπιστημίου
Αθηνών, Αττικό
Γενικό Νοσοκομείο
Αθηνών
e-mail:
iliodromitis@yahoo.gr

Το 1986 μία ομάδα ερευνητών μελέτησε τα επίπεδα των ενδοκυτταρίων μεταβολιτών στις διάφορες χρονικές στιγμές ισχαιμίας του μυοκαρδίου. Διαπίστωσε τυχαία ότι όταν στο μυοκάρδιο του πειραματοζώου εφαρμόζονται 4 βραχεία επεισόδια ισχαιμίας, διάρκειας 5 λεπτών το καθένα, με μεσοδιαστήματα επαναιματώσεως της ίδιας διάρκειας και εν συνεχεία το μυοκάρδιο εκτίθεται σε ισχαιμία διάρκειας 40 λεπτών τότε το έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι σημαντικά μικρότερο συγκριτικά με το έμφραγμα που προκαλείται από την 40λεπτη ισχαιμία μόνο. Αυτή ήταν η πρώτη περιγραφή του φαινομένου ενδογενούς προστασίας του μυοκαρδίου, έγινε σε σκύλους και φέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία με τον όρο preconditioning.¹ Έκτοτε το ίδιο ευεργετικό αποτέλεσμα διαπιστώθηκε σε κάθε πειραματοζώο που δοκιμάστηκε, ανεξάρτητα από την ύπαρξη παράπλευρης κυκλοφορίας στη στεφανιαία κυκλοφορία και ανεξάρτητα από το μέγεθος του ζώου.²⁻⁴ Οι πρώτες πειραματικές μελέτες είχαν ως αντικειμενικό σκοπό τη διερεύνηση της φυσικής ιστορίας της ισχαιμικής προετοιμασίας του μυοκαρδίου δηλαδή ποιος είναι ο κατάλληλος αριθμός των βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας, ποια είναι η διάρκεια τους, πόση πρέπει να είναι η διάρ-

κεια της επαναιματώσεως που παρεμβάλλεται μεταξύ του τελευταίου βραχέως επεισοδίου ισχαιμίας και της παρατεταμένης ισχαιμίας και τέλος πόση μπορεί να είναι η διάρκεια της τελικής παρατεταμένης ισχαιμίας προκειμένου το preconditioning να είναι αποτελεσματικό.⁵⁻⁶ Σε ότι αφορά τον αριθμό των βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας υπάρχουν διαφορές μεταξύ των πειραματοζώων. Αυξημένος αριθμός βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας παρέχει προστασία σε σκύλους, ενώ αντίθετα η προστασία αυτή χάνεται στους κονίκλους όταν υπερβεί κάποιο συγκεκριμένο αριθμό.⁷⁻⁹ Ως προς τη διάρκεια των βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας υπάρχουν επίσης διαφορές και φαίνεται ότι σε άλλα πειραματοζώα επαρκούν τα δύο λεπτά ισχαιμίας, ενώ σε άλλα είναι απαραίτητα τα πέντε λεπτά προκειμένου να ενεργοποιηθεί ο μηχανισμός προστασίας.⁵ Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διάρκεια της επαναιμάτωσης που παρεμβάλλεται μεταξύ του τελευταίου βραχέως επεισοδίου και της τελικής παρατεταμένης ισχαιμίας προκειμένου το preconditioning να είναι αποτελεσματικό. Έχειδειχθεί ότι η επαναιμάτωση που μεσολαβεί πρέπει να είναι μικρότερη της μιας ώρας και αυτό προκαλεί το κλασσικό η πρώτο παράθυρο προστασίας του μυοκαρδίου.^{5,6,10} Μεταγενέστερες όμως πειρα-

ματικές μελέτες έδειξαν το εξαιρετικά ενδιαφέρον στοιχείο ότι, ενώ η παρεχόμενη προστασία χάνεται μετά τη μία ώρα επαναιμάτωσης και το μυοκάρδιο είναι απροστάτευτο για αρκετές ώρες μετά, αυτομάτως προστατεύεται και πάλι μετά από ένα 24ωρο και για 72 περίπου ώρες «ενθυμούμενο» ότι είχαν συμβεί βραχεία προστατευτικά επεισόδια ισχαιμίας. Αυτό ονομάζεται επιβραδυμένο η δεύτερο παράθυρο προστασίας του μυοκαρδίου, είναι λιγότερο ισχυρό από το πρώτο αλλά έχει μεγαλύτερη διάρκεια.¹¹⁻¹² Σε ότι αφορά την προστασία κατά την παρατεταμένη ισχαιμία αυτή παρέχεται για ορισμένο χρόνο πλήρους διακοπής της κυκλοφορίας δηλαδή το preconditioning «κερδίζει» η «αγοράζει» χρόνο ισχαιμίας.¹³ Αυτό σημαίνει ότι αν κάποια περιοχή του μυοκαρδίου προστατεύεται αυτή η προστασία δεν ισχύει αν η διακοπή της αιμάτωσης παραταθεί για ώρες. Όπως γίνεται αντιληπτό πρέπει να γίνει επαναιμάτωση του μυοκαρδίου προκειμένου να εκδηλωθεί η προστασία από το ισχαιμικό preconditioning. Όλα τα προαναφερθέντα προέρχονται από πειραματικές μελέτες που είχαν ως τελικό σημείο τη μείωση της έκτασης του εμφράγματος κατά κύριο λόγο αλλά και άλλα τελικά σημεία όπως η καλύτερη λειτουργία του ενδοθηλίου, η μείωση των συμπλόκων αρρυθμιών, η καλύτερη μετισχαιμική απόδοση της αριστεράς κοιλίας και άλλα.¹⁴⁻¹⁶

Η ισχαιμική προετοιμασία στον άνθρωπο

Όπως είναι φυσικό τα ευρήματα από τη βασική έρευνα αναζητήθηκαν και στον άνθρωπο όπου διαπιστώθηκε, με πιο έμμεσους δείκτες, η προστατευτική δράση του preconditioning.¹⁷⁻¹⁹ Τα τελικά σημεία είναι πιο έμμεσα γιατί στην κλινική πράξη δεν είναι δυνατόν να εφαρμοσθούν οι αυστηρές συνθήκες του εργαστηρίου σε ότι αφορά τον αριθμό και τη διάρκεια των επεισοδίων ισχαιμίας και επαναιμάτωσης, τόσο για πρακτικούς όσο, κυρίως, και για λόγους δεοντολογίας. Στον άνθρωπο δεν είναι δυνατόν να εκμηθεθεί ακριβώς η έκταση του εμφράγματος σε σχέση με την εκτεθείσα σε ισχαιμία περιοχή. Ωστόσο, όπως και στα πειραματικά μοντέλα, χρησιμοποιήθηκαν και άλλα τελικά σημεία εκφράσεως του ευεργετικού αποτελέσματος του preconditioning όπως μείωση των επεισοδίων στηθάγχης, μείωση των ανασπάσεων του ST διαστήματος στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, καλύτερη λειτουργία του ενδοθηλίου, μείωση των θανατηφόρων αρρυθμιών, καλύτερη επιβίωση των ασθενών και άλλα.¹⁹⁻²⁴ Οι μελέτες του preconditioning χωρίζονται σε αυτές που γίνεται παρατήρηση κάποιων επει-

σοδίων αυτόματης η προκλητής ισχαιμίας που αντιστοιχούν στις περιόδους της βραχείας και της παρατεταμένης ισχαιμίας, σε αυτές που γίνεται ιστολογική αναζήτηση της έκφρασης του preconditioning και σε αυτές που γίνεται ενεργοποίηση του μηχανισμού με φαρμακευτικούς παράγοντες. Από τις μελέτες παρατήρησης διαπιστώθηκε ότι ασθενείς με προεμφραγματική στηθάγχη κάνουν μικρότερο έμφραγμα μυοκαρδίου, έχουν λιγότερες θανατηφόρες αρρυθμίες στην οξεία φάση του εμφράγματος, έχουν καλύτερο αποτέλεσμα από τη θρομβολυτική θεραπεία λόγω καλύτερης λειτουργίας του ενδοθηλίου και τέλος έχουν καλύτερη επιβίωση μετά το έμφραγμα.^{20,24,25} Βεβαίως πρέπει να λάβουμε υπόψη στις μελέτες παρατήρησης ότι για να υπάρξει προστασία ο χρόνος εμφάνισης της προεμφραγματικής στηθάγχης, η διάρκεια της, ο αριθμός των επεισοδίων και το διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ αυτών και της ενάρξεως του εμφράγματος πρέπει να είναι συγκεκριμένης διάρκειας προκειμένου να υπάρξει ευεργετικό αποτέλεσμα και σωστή αξιολόγηση των ευρημάτων. Επειδή στην κλινική πράξη αυτό δεν είναι πάντα δυνατό, υπάρχουν στη βιβλιογραφία και αντικρουόμενα ευρήματα από τις κλινικές παρατηρήσεις.^{19,25,26} Αντίθετα, κατά τις μελέτες παρατήρησης από προκλητή ισχαιμία, όπου οι χρόνοι παρεμβάσεων δύνανται να καθορισθούν, διαπιστώθηκε ότι κατά τη διάρκεια της αγγειοπλαστικής των στεφανιαίων αρτηριών η ανάσπαση του ST διαστήματος στο ηλεκτροκαρδιογράφημα είναι μεγαλύτερη κατά την πρώτη διαστολή του μπαλονιού και μικρότερη στις επόμενες διαστολές διότι η πρώτη λειτουργεί ως ενεργοποιητής του preconditioning, ενώ στις επόμενες διαπιστώνεται το ευεργετικό αποτέλεσμα από την αρχική παρέμβαση.^{21,22} Επίσης κατά την πραγματοποίηση δύο δοκιμασιών κοπώσεως η δεύτερη είναι καλύτερη διότι εκφράζεται το ευεργετικό αποτέλεσμα από την πρώτη η οποία δρά ως διεγέρτης του preconditioning.^{27,28} Τέλος κατά τη διάρκεια καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων, μικρά επεισόδια παροδικής ισχαιμίας προκαλούμενα από το χειρουργό, ενεργοποιούν το μηχανισμό προστασίας του μυοκαρδίου.^{29,30} Κατά την ιστολογική αναζήτηση, με τη χρησιμοποίηση ιστού κολπικού μυοκαρδίου που αφαιρείται από το χειρουργό κατά την τοποθέτηση των κανουλών της εξωσωματικής κυκλοφορίας σε επέμβαση ανοικτής καρδιάς, διαπιστώνονται κυτταρικές η λειτουργικές μεταβολές από το ευεργετικό αποτέλεσμα του preconditioning. Τέλος η φαρμακευτική ανάδειξη του preconditioning έχει γίνει στον άνθρωπο με τη χρήση της αδενοσίνης, της ακαντεσίνης και της νικορανδίνης τόσο σε πολυκεντρικές όσο και

σε μεμονωμένες μελέτες με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Η αδενοσίνη χορηγήθηκε σε ασθενείς με όξυ έμφραγμα μυοκαρδίου και προκάλεσε μείωση της εκτάσεως στα μεγάλα πρόσθια εμφράγματα και όχι συνολικά όπως έδειξε η μελέτη AMISTAD I.³¹ Στη μελέτη AMISTAD II η αδενοσίνη χορηγήθηκε μόνο σε πρόσθιο έμφραγμα και στην υπομελέτη της όπου το τελικό σημείο ήταν η εκτίμηση της εκτάσεως του εμφράγματος βρέθηκε ότι προκαλείται μικρότερο έμφραγμα.³² Πρέπει να επισημανθεί ότι στις μελέτες αυτές η αδενοσίνη χορηγήθηκε μέσα στις πρώτες 6 ώρες από την έναρξη του πόνου και ενώ ευρίσκετο σε εξέλιξη το έμφραγμα κάτι που έγινε για πρακτικούς λόγους αλλά που αποδυναμώνει το συνολικό αποτέλεσμα αφού η όποια παρέμβαση πρέπει να γίνεται προ της παρατεταμένης ισχαιμίας προκειμένου να είναι αποτελεσματική. Αντίθετα στην περίπτωση της ακαντεσίνης, η οποία είναι φαρμακευτική ουσία που ευοδώνει τη δράση της αδενοσίνης, αυτή χρησιμοποιήθηκε σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη και συνεπώς υπήρχε η δυνατότητα χορηγήσεως της προ του χειρουργείου.³³ Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η ακαντεσίνη προκαλεί σε μικρότερο αριθμό περιεγχειρητικό έμφραγμα και οι ασθενείς εμφανίζουν καλύτερη μακροχρόνια επιβίωση. Η νικορανδίλη έχει δείξει επίσης ενθαρρυντικά αποτελέσματα στον άνθρωπο όπως έδειξαν οι πολυκεντρικές μελέτες CEASAR 2 σε ασταθή στηθάγχη³⁴ και IONA σε πιο ανομοιογενή πληθυσμό με στεφανιαία νόσο.³⁵

Η απόπτωση

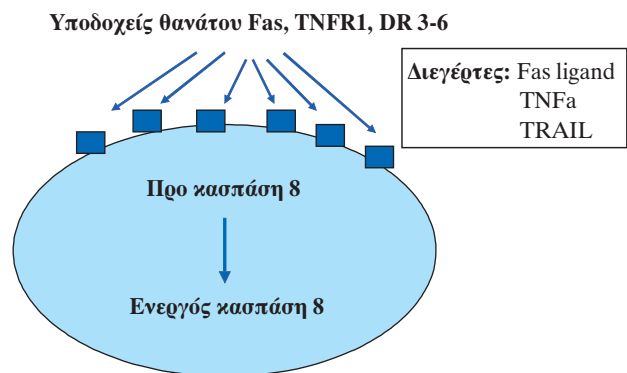
Η απόπτωση είναι μια γενετικά προκαθορισμένη μορφή κυτταρικού θανάτου η οποία συμμετέχει στο μηχανισμό απώλειας αριθμού δραστικών κυττάρων. Τόσο στην απόπτωση όσο και στη νέκρωση υπάρχει κυτταρικός θάνατος όμως υπάρχουν σημαντικές διαφορές αλλά και ομοιότητες μεταξύ των δύο μηχανισμών. Η νέκρωση γίνεται μετά από εξωτερική επίδραση παθολογικών ερεθισμάτων στο υγιές κύτταρο. Αντίθετα η απόπτωση γίνεται μετά από εσωτερική η εξωτερική επίδραση φυσιολογικών η παθολογικών ερεθισμάτων στο υγιές κύτταρο.^{36,37} Μορφολογικά οι δύο καταστάσεις διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους κατά την εξέλιξη των σταδίων του κυτταρικού θανάτου. Η νέκρωση προκαλεί αρχικά εξοίδηση του κυττάρου το οποίο μεγαλώνει σε όγκο, γεγονός που περιγράφεται στη βιβλιογραφία με τον όρο διόγκωση (oncosis), ενώ η απόπτωση προκαλεί συρρίκνωση του. Αυτό είναι το πρώτο στάδιο της μορφολογικής μεταβο-

λής. Στο δεύτερο στάδιο της νέκρωσης υπάρχει καταστροφή του σαρκειώματος, καταστροφή της μεμβράνης των μιτοχονδρίων και των κυτταρικών οργανιδίων, ενώ αντίθετα στην απόπτωση υπάρχει οριοθέτηση της χρωματίνης, συμπύκνωση και ανθοκραμβοειδής εμφάνιση της καθώς επίσης και διατήρηση των οργανιδίων του κυττάρου. Στο τελικό τρίτο στάδιο της νέκρωσης η φαγοκυττάρωση γίνεται με μηχανισμό φλεγμονής λόγω της ρήξης των μεμβρανών και της εξόδου ενδοκυτταρίων παραγόντων, ενώ στην απόπτωση η φαγοκυττάρωση γίνεται με μη φλεγμονώδη διαδικασία.³⁸ Η διαδικασία του κυτταρικού θανάτου στη νέκρωση φαίνεται ότι ολοκληρώνεται μέσα σε 24 ώρες, ενώ αντίθετα η διαδικασία του κυτταρικού θανάτου διαρκεί περισσότερο στην απόπτωση και εξελίσσεται για 72 περίπου ώρες.³⁹

Η απόπτωση ενεργοποιείται από την ισχαιμία και την επαναιμάτωση, την υπερφόρτιση όγκου της αριστεράς κοιλίας, την καρδιακή ανεπάρκεια και από μιά σειρά επι μέρους διαδικασιών που θα σχολιάσουμε πιο κάτω.⁴⁰

Σε κυτταρικό επίπεδο η όλη διαδικασία αρχίζει είτε με την κατάληψη κάποιων υποδοχέων οι οποίοι ονομάζονται υποδοχείς θανάτου, είτε με την άμεση προσβολή των μιτοχονδρίων. Αυτοί οι δύο τρόποι κινητοποιούν το μηχανισμό της απόπτωσης με τη δημιουργία και ενεργοποίηση κάποιων «εκτελεστών» που ονομάζονται κασπάσες (caspases).³⁸

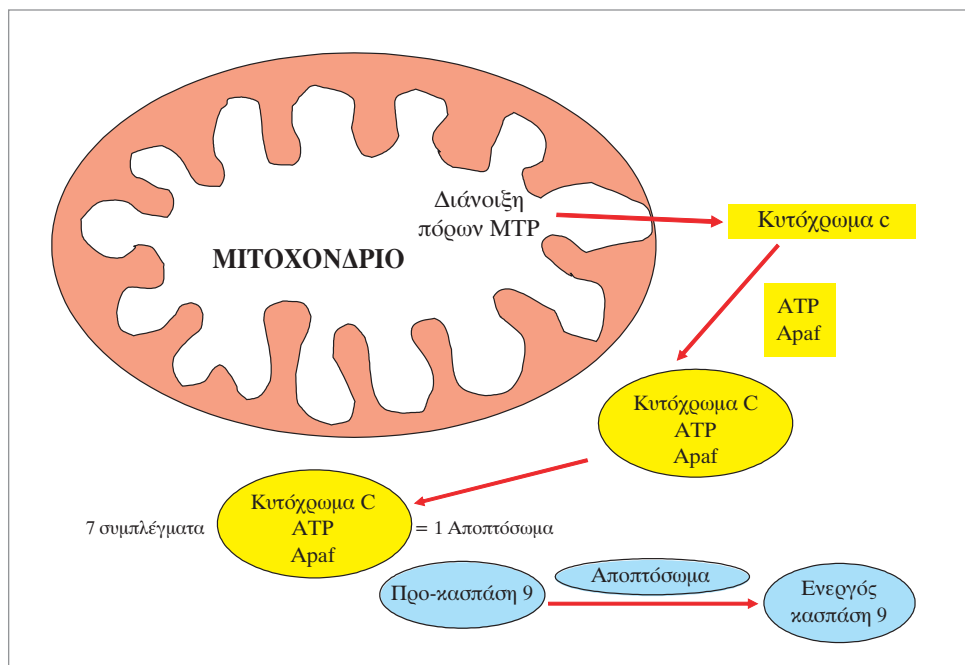
Υπάρχουν 6 υποδοχείς θανάτου οι οποίοι ονομάζονται CD95 η άλλως υποδοχείς Fas, TNFR1, DR3, DR4, DR5 DR6. Οι 6 αυτοί υποδοχείς καταλαμβάνονται από τους διεγέρτες CD95L η όπως αναφέρεται Fas ligand, TNF-α και TRAIL από τα αρχικά TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand. (Εικόνα



Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση των υποδοχέων θανάτου στο κύτταρο που προκαλούν την ενεργοποίηση της κασπάσης 8 και την απόπτωση.

1). Μετά τη σύνδεση των διεγερτών με τους υποδοχείς θανάτου ακολουθεί μια σειρά μεταβολών και τελικά μετατρέπονται οι ανενεργείς προ-κασπάσες 8 σε ενεργείς κασπάσες 8 και αυτές με τη σειρά τους ενεργοποιούν άλλους «εκτελεστές» τις κασπάσες 3, 6 και 7 οι οποίες προκαλούν απόπτωση. Η απόπτωση με το μηχανισμό του μιτοχονδρίου αρχίζει όταν το κυτόχρωμα c (cytochrome c) το οποίο βρίσκεται στο έξω μέρος της εσωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου, εξέρχεται στο κυτταρόπλασμα εξ αιτίας κάποιου αρχικού ερεθίσματος που προκαλεί απόπτωση. Το κυτόχρωμα c παρουσία ATP και της δράσης μιάς πρωτεάσης που ονομάζεται Araf-1 (apoptosis protease activating factor) δημιουργεί ένα συμπλέγμα. (Εικόνα 2). Επτά τέτοια συμπλέγματα δημιουργούν το αποπτόσωμα το οποίο μετατρέπει τις ανενεργείς προ-κασπάσες 9 σε ενεργείς κασπάσες 9 και αυτές με τη σειρά τους ενεργοποιούν τις κασπάσες 3, 6 και 7 και προκαλούν απόπτωση όπως γίνεται με τον προηγούμενο των υποδοχέων θανάτου και τις κασπάσες 8. Βεβαίως το κύτταρο διαθέτει τους δικούς του αμυντικούς μηχανισμούς και προσπαθεί να ανακόψει την απόπτωση. Υπάρχουν αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες οι οποίες καταλαμβάνουν καίριες θέσεις στην εξωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου και του πυρήνα λόγω μιας τελικής καρβονυλικής ομάδας που έχουν στο μόριο τους και έτσι εμποδίζουν την απόπτωση. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι οι Bcl2, A1, Bcl-x_L, Bcl-w και Mcl1 και παρεμποδίζουν τη διάνοιξη των

πόρων του μιτοχονδρίου (transition pores) προκειμένου να αποφευχθεί η διέλευση και έξοδος του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα και η έναρξη της διαδικασίας της απόπτωσης. Επιπλέον υπάρχει μια οικογένεια 7 πρωτεϊνών που φέρονται με την ονομασία IAPs (inhibitor of apoptosis proteins) οι οποίες εξουδετερώνουν τις κασπάσες 3, 7 και 9 όπως επίσης και οι πρωτεΐνες κυτταρικής η ιογενούς προέλευσης που φέρονται με την ονομασία FLIPs και που εξουδετερώνουν τις προερχόμενες από την ενεργοποίηση των υποδοχέων θανάτου κασπάσες 8. Όμως ο μηχανισμός της απόπτωσης είναι εξαιρετικά σύμπλοκος και έτσι παράλληλα με την ενεργοποίηση των προαναφερθεισών αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών υπάρχει ενεργοποίηση και προαποπτωτικών πρωτεϊνών όπως οι Bax και Bak οι οποίες προκαλούν διάνοιξη των πόρων του μιτοχονδρίου, ευνοούν την έξοδο του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα και προάγουν την απόπτωση. Η επαναιμάτωση φαίνεται ότι είναι απαραίτητη προκειμένου να εκδηλωθεί κυτταρικός θάνατος από απόπτωση, ενώ αντίθετα κατά τη νέκρωση δεν είναι απαραίτητη η επαναιμάτωση για το θάνατο του κυττάρου.^{39,41} Αυτό είναι λογικό διότι όπως προαναφέρθηκε στο μηχανισμό της απόπτωσης χρειάζεται ATP το οποίο συμμετέχει στο σχηματισμό των αποπτωσωμάτων. Δεν είναι γνωστός ο απαραίτητος ελάχιστος χρόνος επαναιμάτωσης που απαιτείται προκειμένου να αρχίσει η διαδικασία της απόπτωσης, πάντως διαφέρει ανάλογα με τα χρησιμοποιού-



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση της έναρξης του μηχανισμού απόπτωσης με την αύξηση της διαπερατότητας των πόρων του μιτοχονδρίου (MTP) και την έξοδο του κυτοχρώματος C στο κυτταρόπλασμα που προκαλεί σειρά γεγονότων και τελικά δημιουργεί την ενεργοποίηση της κασπάσης 9.

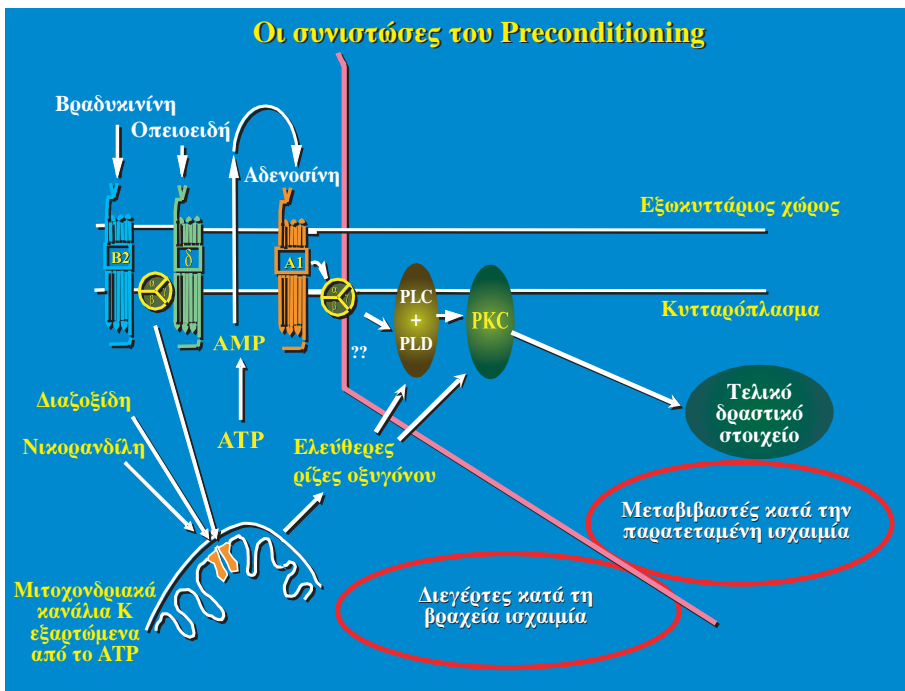
μενα πειραματόζωα και όπως προαναφέρθηκε η διαδικασία προχωρεί με την πάροδο του χρόνου. Σε κοινίλους φαίνεται ότι αρχούν 4 ώρες επαναιματώσεως.⁴² Τα ερεθίσματα τα οποία ενεργοποιούν την απόπτωση στην κλινική πράξη είναι η ισχαιμία και επαναιμάτωση, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, η υπερφόρτιση ασβεστίου, η υπερφόρτιση όγκου και πίεσεως, η μειωμένη στεφανιαία εφεδρεία, ο TNF-α, ο ANF, οι κατεχολαμίνες, η αγγειοτασίνη II, οι κινάσες p53 και ο Fas ligand.⁴⁰ Οι παραπάνω παράγοντες οδηγούν σε περισσότερη ισχαιμία και σε έμφραγμα του μυοκαρδίου, σε αρρυθμίες, σε συστολική δυσλειτουργία και τέλος σε αυξημένο ρυθμό απόπτωσης. Οι θεραπευτικές παρεμβάσεις που αναστέλλουν αυτή τη διαδικασία περιλαμβάνουν κλινικές και ερευνητικές παρεμβάσεις. Στις πρώτες περιλαμβάνονται η χειρουργική διόρθωση των βαλβιδοπαθειών, η μείωση του μεταφόρτιου, η βράχυνση των ισχαιμικών περιόδων, η αποκατάσταση της ισχαιμίας του μυοκαρδίου, η μείωση των κατεχολαμινών, η χρήση β-αναστολέων, αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης, αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου και των υποδοχέων της αγγειοτασίνης. Σε ερευνητικό επίπεδο βρίσκεται η χρησιμοποίηση αναστολέων του TNFα και των κασπασών, τα αντιοξειδωτικά, οι αναστολείς της ανταλλαγής ιόντων νατρίου-υδρογόνου, η ενεργοποίηση του insulin growth factor, η cardiotrophin-1 και το preconditioning.⁴⁰ Για το τελευταίο και τη σχέση με

την απόπτωση θα διαπραγματευθούμε πιο διεξοδικά στην επόμενη ενότητα.

Η αναγνώριση της απόπτωσης γίνεται με προσδιορισμό της κατάτμησης του πυρηνικού DNA με τη μέθοδο TUNEL καθώς επίσης και με προσδιορισμό διαφόρων κασπασών που σημαίνει ενεργοποιημένη απόπτωση ή αντίθετα αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών.

Ισχαιμική προετοιμασία και απόπτωση

Οι κυτταρικές μεταβολές που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και επαναιματώσεως οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο με το μηχανισμό της νέκρωσης και της απόπτωσης. Το preconditioning μειώνει τόσο τη νέκρωση όσο και την απόπτωση και υπάρχουν πολλές κοινές οδοί μεταξύ της αναστολής της απόπτωσης και του ευεργετικού αποτελέσματος του preconditioning.⁴¹ Η ευεργετική δράση του preconditioning οφείλεται στη διέγερση κάποιων υποδοχέων όπως της αδενοσίνης, της βραδυκινίνης, των οπιοειδών αλλά και άλλων υποδοχέων της επιφάνειας του κυττάρου καθώς επίσης και στη διέγερση των εξαρτωμένων από το ATP μιτοχονδριακών διαύλων καλίου.^{3,43,44} (Εικόνα 3) Η διέγερση όλων των ανωτέρω γίνεται κατά τη διάρκεια των βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας η φαρμακευτικά με τις αντίστοιχες ουσίες αδενοσίνη, βραδυκινίνη η τους ενεργοποιητές των μιτοχονδριακών διαύλων καλίου. Γνωστοί ενεργοποιη-

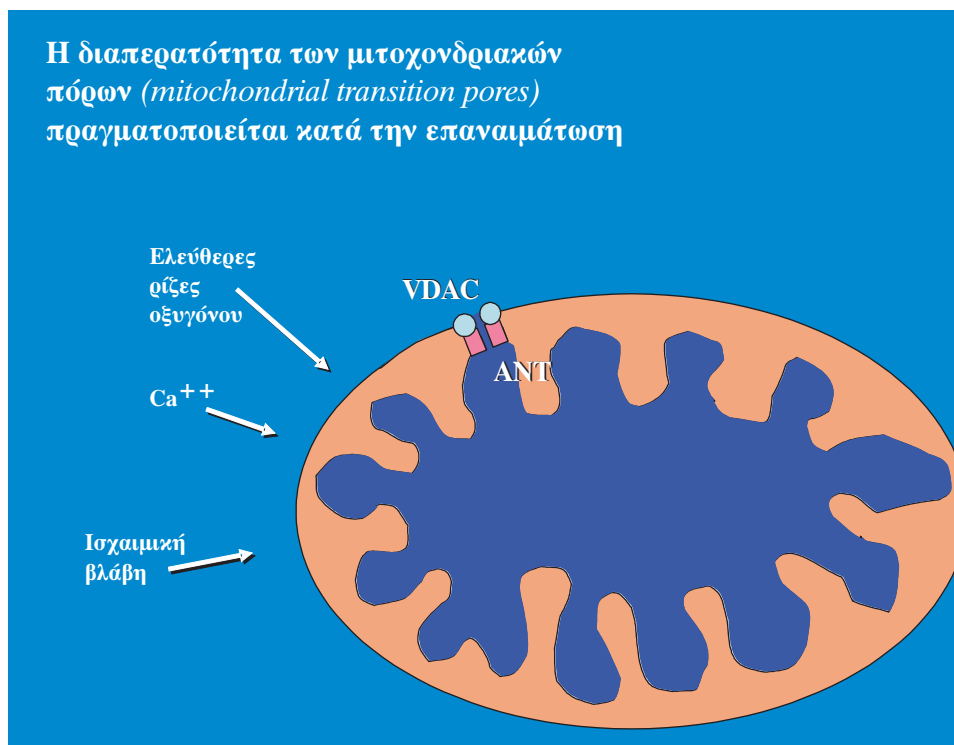


Εικόνα 3. Συνολική εικόνα των εξωκυτταρικών διεγερτών και των ενδοκυτταρικών μεταβιβαστών κατά το ισχαιμικό preconditioning. Οι υποδοχείς της αδενοσίνης, της βραδυκινίνης των οπιοειδών και η διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων Κ που εξαρτώνται εκ του ΑΤΡ έχουν σημαντικό ρόλο κατά την βραχεία ισχαιμία. Η πρωτεϊνική κινάση C (PKC) και άλλοι ενδοκυτταρικοί μεταβιβαστές έχουν σπουδαίο ρόλο για την προστασία του κυττάρου κατά την παρατεταμένη ισχαιμία.

τές των διαύλων αυτών είναι η νικορανδίνη και η διαζοξίδη.⁴⁵⁻⁴⁹ Κατά τη διάρκεια της ακολουθούσας παρατεταμένης ισχαιμίας γίνεται φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση μιας σειράς ενδοκυτταρίων μεταβιβαστών οι οποίοι με τη δράση διαφόρων κινασών παράγουν ένα άγνωστο επί του παρόντος δραστικό στοιχείο που κάνει ανθεκτικό το κύτταρο. Από τους ενδοκυττάριους μεταβιβαστές η πρωτεϊνική κινάση C (PKC) έχει πολύ σημαντικό ρόλο στο preconditioning.⁵⁰⁻⁵² Η διαζοξίδη και η νικορανδίνη συμμετέχουν στο μηχανισμό προστασίας του preconditioning, ενώ η χρήση του 5 υδροξυ δεκανοϊκού οξέως (5HD) που εξουδετερώνει τη δράση τους στα μιτοχόνδρια, αναστέλλει το ευεργετικό τους αποτέλεσμα.^{49,53,54} (Εικόνα 1). Παρόμοια είναι τα ευρήματα στην απόπτωση όπου η διαζοξίδη την αναστέλλει, ενώ η προσθήκη του 5HD εξουδετερώνει την ευεργετική της δράση.⁵⁵ Επιπλέον στοιχεία για τη διακοπή της απόπτωσης από το preconditioning έρχονται από τη δράση του στα μιτοχόνδρια. Εξηγήσαμε νωρίτερα ότι η διάνοιξη των πόρων του μιτοχονδρίου (mitochondrial transition pores, MTP) προκαλεί την έξοδο του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα και έναρξη του μηχανισμού απόπτωσης. Η διαδικασία αυτή αρχίζει κατά τα πρώτα δευτερόλεπτα της επαναιμάτωσης λόγω της

παραγωγής ελευθέρων ριζών, της προυπάρχουσας ισχαιμίας και της υπερφόρτισης του κυττάρου με ασβέστιο. (Εικόνα 4). Το preconditioning με την ενεργοποίηση των κινασών PI3, ERKs και της Akt παρεμποδίζει τη διάνοιξη των transition pores στα μιτοχόνδρια και συνεπώς ανακόπτει το μηχανισμό της απόπτωσης.⁵⁶ Η ενεργοποίηση της PKC που όπως είπαμε έχει κεντρικό ρόλο στο preconditioning αναστέλλει και την απόπτωση, ιδιαίτερα με την ενεργοποίηση κάποιων ισομορφών αυτής.^{38,41} Τέλος κατά το ισχαιμικό preconditioning αυξάνουν οι αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες Bcl2 και μειώνονται οι αποπτωτικές πρωτεΐνες Bax, ενώ υπάρχουν στοιχεία που τεκμηριώνουν ότι η απόπτωση αναστέλλεται και με το φαρμακευτικό preconditioning, ενώ δεν αναστέλλεται κατά το μηχανικό δηλαδή όταν η βραχεία ισχαιμία αντικαθίσταται με βραχεία μηχανική απόφραξη της ανιούσας αορτής.⁵⁷

Συμπερασματικά τόσο ο μηχανισμός του preconditioning όσο και ο μηχανισμός της απόπτωσης είναι αρκετά περίπλοκοι αλλά υπάρχουν πολλές κοινές ενδοκυτταρίες οδοί που δρουν ευνοϊκά για το preconditioning και αναστέλλουν τη νέκρωση και την απόπτωση. Η PKC, η Akt, η PI3, οι ERKs, οι εκ του ATP εξαρτώμενοι μιτοχονδριακοί διάυλοι καλίου



Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση των παραγόντων που συμμετέχουν στην αυξημένη διαπερατότητα των μιτοχονδριακών πόρων και συνεπώς στην καταστροφή του μιτοχονδρίου και το θάνατο του κυττάρου.

και οι αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες έχουν ευεργετική δράση, ενώ η διάνοιξη των πόρων του μιτοχονδρίου MTP οδηγεί σε νέκρωση και απόπτωση. Το preconditioning όταν εφαρμόζεται κατάλληλα μειώνει και τη νέκρωση και την απόπτωση.

Βιβλιογραφία

- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136.
- Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W: Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circ Res* 1990; 66: 1133-1142.
- Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM: Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350-356.
- Liu Y, Downey JM: Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am J Physiol* 1992; 263: H1107-H1112.
- Van Winkle DM, Thornton JD, Downey DM, Downey JM: The natural history of preconditioning: Cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia. *Coronary Art Disease* 1991; 2: 613-619.
- Iliodromitis EK, Papadopoulos C, Paraskevaïdis IA, Kyriakides ZS, Flessa C, Kremastinos DTh. Protection from preconditioning can be reinstated at various reperfusion intervals. *Cardiovasc Drugs Ther* 1996;10:341-346.
- Li GC, Vasquez JA, Gallagher KP, Lucchesi BR. Myocardial protection with preconditioning. *Circulation* 1990; 82: 609-619.
- Cohen MV, Yang XM, Downey JM: Conscious rabbits become tolerant to multiple episodes of ischemic preconditioning. *Circ Res* 1994; 74: 998-1004.
- Iliodromitis EK, Kremastinos DT, Katritsis DG, Papadopoulos CC, Hearse DJ: Multiple cycles of preconditioning cause loss of protection in open-chest rabbits. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 915-920.
- Jenkins DP, Baxter GF, Yellon DM: The pathophysiology of ischemic preconditioning. *Pharmacol Res* 1995; 84: 350-356.
- Yellon DM, Baxter GF. A "second window of protection" or delayed preconditioning phenomenon: future horizons for myocardial protection? *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 1023-1034.
- Yang XM, Baxter GF, Heads RJ, Yellon DM, Downey JM, Cohen MV: Infarct limitation of the second window of protection in conscious rabbit model. *Cardiovasc Res* 1996; 31: 777-783.
- Lawson CS, Downey JM. Preconditioning: State of the art myocardial protection. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 542-550.
- Shiki K, Hearse DJ. Preconditioning of ischemic myocardium: reperfusion-induced arrhythmias. *Am J Physiol* 1987; 253: H1470-H1476.
- Cohen MV, Liu GS, Downey JM: Preconditioning causes improved wall motion as well as smaller infarcts after transient coronary occlusion in rabbits. *Circulation* 1991;84:341-349.
- Richard V, Kaeffer N, Tron C, Thuillez C: Ischemic preconditioning protects against coronary endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion. *Circulation* 1994; 89: 1254-1261.
- Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, et al: for the TIMI-4 Investigators: Previous angina alters in hospital outcome in TIMI 4. *Circulation* 1995; 91: 37-47.
- Kloner RA, Muller J, Davis V, for the MILIS Study Group: Effects of previous angina pectoris in patients with first acute myocardial infarction not receiving thrombolytics. *Am J Cardiol* 1995; 75: 615-617.
- Kobayashi Y, Miyazaki S, Miyao Y, Morii I, Matsumoto T, Daikoku S, et al: Effect on survival of previous angina pectoris after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1997; 79: 1534-1538.
- Andreotti F, Pasceri V, Hackett DR, Davies GJ, Haider AW, Maseri A: Preinfarction angina as a predictor of more rapid coronary thrombolysis in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1996; 334:7-12.
- Tomai F, Crea F, Gasparidone A, et al: Effects of A1 adenosine receptor blockade by by bamiphylline on ischemic preconditioning during coronary angioplasty. *Eur Heart J* 1996; 17: 846-853.
- Tomai F, Crea F, Gasparidone A, et al: Phentolamine prevents adaptation to ischemia during coronary angioplasty. Role of adrenergic receptors in ischemic preconditioning. *Circulation* 1997; 96: 2171-2177.
- Kharbanda RK, Peters M, Walton B, Kattenhorn M, Mullen M, Klein N, et al: Ischemic preconditioning prevents endothelial injury and systemic neutrophil activation during ischemia reperfusion in humans in vivo. *Circulation* 2001; 103: 1624-1630.
- Gheeraert PJ, Henriques JPS, De Buyzere ML, De Pauw M, Taeymans Y, Zijlstra F: Preinfarction angina protects against out-of-hospital ventricular fibrillation in patients with acute occlusion of the left coronary artery. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1369-1376.
- Ishihara M, Sato H, Tateishi H, et al: Implications of prodromal angina pectoris in anterior wall acute myocardial infarction: acute angiographic findings and long-term prognosis. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 970-975.
- Psychari S, Iliodromitis EK, Hamodraka E, et al: Preinfarction angina does not alter infarct size and in hospital outcome after acute myocardial infarction with ST elevation. *Int J Cardiol* 2004; 94: 187-191.
- Tomai F, Perino M, Ghini A, Crea F, Gasparidone A, Versaci F, et al: Exercise-induced myocardial ischemia triggers the early phase of preconditioning but not the late phase. *Am J Cardiol* 1999; 83: 586-658.
- Paraskevaïdis IA, Iliodromitis EK, Mavrogeni S, Karavolias G, Theodorakis GN, Georgiadis M, et al: Repeated exercise test identifies early and late preconditioning. *Int J Cardiol* 2005; 98: 221-226.
- Yellon DM, Alkulaifi AM, Pugsley WB: Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 1993; 342: 276-277.
- Jenkins DP, Pugsley WB, Alkulaifi AM, Kemp M, Hooper J, Yellon DM: Ischemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart* 1997; 77: 314-318.
- Mahaffey KW, Puma JA, Bardagelata NA et al: Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the AMISTAD trial. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1711-1720.
- Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, Kloner RA, Alexander W: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1775-1780.
- Mangano DT, Miao Y, Tudor IC, Dietzel C: Post-reperfusion myocardial infarction. Long-term survival improvement using adenosine regulation with acadesine. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 206-214.

34. Patel DJ, Pucell HJ, Fox KM, on behalf of the CEASAR 2 investigation. Cardioprotection by opening of the K_{ATP} channel in unstable angina. Is this a clinical manifestation of myocardial preconditioning? Results of a randomized study with nicorandil. *Eur Heart J* 1999; 20: 51-57.
35. The IONA study group (2002): Effect of nicorandil on coronary events in patients with stable angina: the impact of nicorandil in angina (IONA) randomized trial. *Lancet* 359, 1269-1275.
36. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis and necrosis: an overview of cell death. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-15.
37. Buja LM: Myocardial ischemia and reperfusion. *Cardiovasc Pathol* 2005; 14: 170-175.
38. Scarabelli TM, Knight R, Stephanou A, et al: Clinical implications of apoptosis in ischemic myocardium. *Curr Probl Cardiol* 2006; 31: 181-264.
39. Zhao Z-Q, Velez DA, Wang N-P, et al: Progressively developed myocardial apoptotic cell death during late phase of reperfusion. *Apoptosis* 2001; 6: 279-290.
40. Khojenezhad A, Jalali Z, Tortolani AJ. Apoptosis: Pathophysiology and therapeutic implications for the cardiac surgeon. *Ann Thorac Surg* 2004; 78: 1109-1118.
41. Zhao Z-Q, Vinten-Johansen J: Myocardial apoptosis and ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 438-455.
42. Gottlieb RA, Bursleson KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL: Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest* 1994; 94: 1621-1628.
43. Cohen MV, Yang XM, Liu GS, Heusch G, Downey JM. Acetylcholine, bradykinin, opioids and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial K_{ATP} channels. *Circ Res* 2001; 89: 273-278.
44. Schulz R, Cohen MV, Behrens M, Downey JM, Heusch G: Signal transduction of ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2001; 52: 181-198.
45. Sato T, Sasaki N, O'Rourke B, Marban E: Nicorandil, a potent cardioprotective agent, acts by opening mitochondrial ATP-dependent potassium channels. *J Am. Coll Cardiol* 2000; 35: 514-518.
46. Pain T, Yang X, Critz SD, Yue Y, Nakano A, Liu GS, et al: Opening of mitochondrial K_{ATP} channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circ Res* 2000; 87: 460-466.
47. Fryer RM, Eells JT, Hsu AK, Henry MM, Gross GJ. Ischemic preconditioning in rats: role of mitochondrial K_{ATP} channel in preservation of mitochondrial function. *Am J Physiol Heart Circ. Physiol* 2000; 278: H305-H312.
48. O'Rourke B: Evidence for mitochondrial K⁺ channels and their role in cardioprotection. *Circ. Res* 2004; 94: 420-432.
47. Iliodromitis EK, Cokkinos P, Zoga A, Steliou A, Vrettou AR, Kremastinos DT: Oral nicorandil recaptures the waned protection from preconditioning in vivo. *Br J Pharmacol* 2003; 138: 1101-1106.
49. Baines CP, Wang L, Cohen MV, Downey JM: Protein tyrosine kinase is downstream of protein kinase C for ischemic preconditioning's anti-infarct effect in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 383-392.
50. Iliodromitis EK, Miki T, Liu GS, Downey JM, Cohen MV, Kremastinos DT: The PKC activator PMA preconditions rabbit heart in the presence of adenosine receptor blockade: is 5'-nucleotidase important? *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 2201-2211.
51. Harada N, Miura T, Dairaku Y, Kametani R, Shibuya M, Wang R, et al: NO donor-activated PKC delta plays a pivotal role in ischemic myocardial protection through accelerated opening of K_{ATP} mitochondrial channels. *J. Cardiovasc. Pharmacol* 2004; 44: 35-41.
52. Eefting F, Rensing B, Wigman J, et al: Role of apoptosis in reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 414-426.
53. Ardehali H, O'Rourke B: Mitochondrial K_{ATP} channels in cell survival and death. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 39: 7-16.
55. Takashi E, Wang Y, Ashraf M: Activation of mitochondrial K_{ATP} channel elicits late preconditioning against myocardial infarction via protein kinase C signaling pathway. *Circ Res* 1999; 85: 1146-1153.
56. Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu M, Yellon DM. (2005): Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am J Physiol* 2005; 288: H971-H976.
57. Lazou A, Iliodromitis EK, Cieslak D, Voskarides K, Mousikos S, Bofilis E, et al: Ischemic but not mechanical preconditioning attenuates ischemia/reperfusion induced myocardial apoptosis in anaesthetized rabbits: The role of Bcl-2 family proteins and ERK1/2 *Apoptosis* 2006; 11: 2195-2204.