

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Β΄ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΓΕΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

**Η επίδραση αντιφλεγμονώδους θεραπείας με κολχικίνη στο μέγεθος του
εμφράγματος σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του
ST-διαστήματος.**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΧΡΗΣΤΟΥ Κ. ΑΓΓΕΛΙΔΗ
ΙΑΤΡΟΥ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΥ

ΑΘΗΝΑ 2020

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Τίτλος: Η επίδραση αντιφλεγμονώδους θεραπείας με κολχικίνη στο μέγεθος του εμφράγματος σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του ST-διαστήματος.

Ημερομηνία αίτησης ανάθεσης διδακτορικής διατριβής: 15/05/2015 (Αρ. Πρ. 1415016005)

Ημερομηνία ορισμού Συμβουλευτικής Επιτροπής: 15/06/2015 (Αρ. Πρ. 1415018980)

Μέλη τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας Σπυρίδωνας Δευτεραίος

Μέλη

Καθηγητής Καρδιολογίας Ιωάννης Λεκκάκης

Αναπληρωτής καθηγητής Καρδιολογίας Γεράσιμος Φιλιππάτος

Ημερομηνία καθορισμού θέματος Διατριβής: 15/07/2015 (Αρ. Πρ. 1415023914)

Ημερομηνία ορισμού 7μελούς εξεταστικής επιτροπής: 27/02/2020 (Αρ. Πρ. 1920021527)

Λεκκάκης Ιωάννης, Ομότιμος Καθηγητής Καρδιολογίας Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Ηλιοδρομίτης Ευστράτιος, Καθηγητής Καρδιολογίας Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Δευτεραίος Σπυρίδωνας, Καθηγητής Καρδιολογίας Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Φιλιππάτος Γεράσιμος, Καθηγητής Καρδιολογίας Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Παρίσης Ιωάννης, Καθηγητής Καρδιολογίας Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Ραλλίδης Λουκιανός, Καθηγητής Καρδιολογίας Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Σιάσος Γεράσιμος, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Ε.Κ.Π.Α., δεν υποδηλώνει ότι αποδέχεται τη γνώμη του συγγραφέα.

Οργανισμός Πανεπιστημίου Αθηνών, Άρθρο 202, παρ. 2 Ν. 5343/1932

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἵστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν ὄρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε. Ἥγησασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξῃν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοις τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρῆσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἶρξιν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρήτα ἡγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ συγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιорκοῦντι, τάναντία τουτέων.

Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή. Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνό του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέρφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία. Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο. Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω. Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη. Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου. Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης. Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους. Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά. Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

ΣΥΝΟΠΤΙΚΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Προσωπικά Στοιχεία

Ονοματεπώνυμο: Χρήστος Αγγελίδης

Ημερομηνία Γέννησης: 26 Δεκεμβρίου 1977

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: cangelidis@gmail.com

Ανώτατες Σπουδές

Ιατρική σχολή Πανεπιστημίου Debrecen Ουγγαρίας (1997-2004)

Τίτλος Ειδικότητας

Ειδικότητα Καρδιολογίας (Σεπτέμβριος 2015)

Υποτροφίες

Υπότροφος Ελληνικής Καρδιολογικής εταιρίας (2017-2018)

Εργασιακή εμπειρία

Ειδικευόμενος ιατρός παθολογίας στο Γενικό Νοσοκομείο Σπάρτης (2009-2011)

Ειδικευόμενος ιατρός καρδιολογίας στο Γενικό Νοσοκομείο Σπάρτης (2011)

Ειδικευόμενος ιατρός καρδιολογίας στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Γ.Γεννηματάς» (2011-2015)

Επιστημονικός συνεργάτης στη Β' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική στο Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «Αττικόν» (2015-2016)

Κλινικός συνεργάτης αγγειογραφικού εργαστηρίου του Πανεπιστημίου Yale, New Haven, Κονέκτικατ, Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (2016-2017)

Επιστημονικός συνεργάτης στη Β' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική στο Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «Αττικόν» (2017-2018)

Επικουρικός επιμελητής καρδιολογικής κλινικής Γενικού Νοσοκομείου Σπάρτης (2018-σήμερα)

Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά (PubMed)

Colchicine for prevention of early atrial fibrillation recurrence after pulmonary vein isolation: a randomized controlled study. J Am Coll Cardiol. 2012 Oct 30;60(18).

Myeloperoxidase: expressing inflammation and oxidative stress in cardiovascular disease. Curr Top Med Chem. 2013;13(2):115-38.

Cystatin C: an emerging biomarker in cardiovascular disease. Curr Top Med Chem. 2013;13(2):164-79.

MicroRNAs and the heart: small things do matter. Curr Top Med Chem. 2013;13(2):216-30.

Association of post-cardioversion transcardiac concentration gradient of soluble tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (sTRAIL) and inflammatory biomarkers to atrial fibrillation recurrence. Clin Biochem. 2013 Aug;46(12):1020-1025.

Double versus standard loading dose of ticagrelor: onset of antiplatelet action in patients with STEMI undergoing primary PCI. *J Am Coll Cardiol*. 2013 Sep 3;62(10):940-1.

Implementation of contemporary oral antiplatelet treatment guidelines in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention: a report from the GREEK AntiPlatelet rEgistry (GRAPE). *Int J Cardiol*. 2013 Oct 15;168(6):5329-35.

Contraindications/special warnings and precautions for use of contemporary oral antiplatelet treatment in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention. *Circ J*. 2014;78(1):180-7.

In-hospital switching of oral P2Y12 inhibitor treatment in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention: prevalence, predictors and short-term outcome. *Am Heart J*. 2014 Jan;167(1):68-76.

Bivalirudin use and one-month outcome in the context of contemporary antiplatelet treatment: insights from the Greek Antiplatelet Registry. *Cardiovasc Ther*. 2014 Jun;32(3):120-6.

Onset of antiplatelet action with high (100 mg) versus standard (60 mg) loading dose of prasugrel in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: pharmacodynamic study. *Circ Cardiovasc Interv*. 2014 Apr;7(2):233-9.

Anti-inflammatory treatment with colchicine in stable chronic heart failure: a prospective, randomized study. *JACC Heart Fail*. 2014 Apr;2(2):131-7.

In-hospital bleeding events in acute coronary syndrome patients undergoing percutaneous coronary intervention in the era of novel P2Y12 inhibitors: insights from the GREEK AntiPlatelet rEgistry-GRAPE. *Int J Cardiol*. 2014 Jun 1;174(1):160-2.

Innate immune inflammatory response in the acutely ischemic myocardium. *Med Chem*. 2014;10(7):653-62.

Effect of Angiotensin converting enzyme inhibitors on soluble tumor-necrosis-factor-related apoptosis-inducing ligand levels - association with neointimal hyperplasia in drug eluting stents. *J Interv Cardiol*. 2014 Dec;27(6):582-90.

Ticagrelor crushed tablets administration in STEMI patients: the MOJITO study. *J Am Coll Cardiol*. 2015 Feb 10;65(5):511-2.

Usefulness of colchicine to reduce perioperative myocardial damage in patients who underwent on-pump coronary artery bypass grafting. *Am J Cardiol*. 2015 May 15;115(10):1376-81.

Amino-terminal B-natriuretic peptide levels and postablation recurrence in hypertensive patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2015 Jul;12(7):1470-5.

Anti-Inflammatory Treatment with Colchicine in Acute Myocardial Infarction: A Pilot Study. *Circulation*. 2015 Oct 13;132(15):1395-403.

Calcium Handling and Arrhythmogenesis. *Med Chem*. 2016;12(2):170-6.

Intra- and Intercellular Calcium Handling in Pulmonary Arterial Hypertension. *Med Chem*. 2016;12(2):162-9.

Calcium Ions in Inherited Cardiomyopathies. *Med Chem*. 2016;12(2):139-50.

Altered Calcium Handling in Reperfusion Injury. Med Chem. 2016;12(2):114-30.

Colchicine in Coronary Artery Disease: An Old Acquaintance in New Attire? Curr Med Chem. 2015;22(36):4177-88.

Circulating Erythrocyte Microparticles and the Biochemical Extent of Myocardial Injury in ST Elevation Myocardial Infarction. Cardiology. 2017;136(1):15-20.

Lazaroid U-74389G for cardioplegia-related ischemia-reperfusion injury: an experimental study. J Surg Res. 2017 Jan;207:164-173.

Coincidental ganglionated plexus modification during radiofrequency pulmonary vein isolation and post-ablation arrhythmia recurrence. Europace. 2017 Dec 1;19(12):1967-1972.

Colchicine in Post-operative Atrial Fibrillation: A Review. Curr Pharm Des. 2018;24(6):695-701.

Colchicine Pharmacokinetics and Mechanism of Action. Curr Pharm Des. 2018;24(6):659-663.

Antioxidant treatment in peripheral artery disease: the rationale is there, but what about clinical results? Curr Opin Pharmacol. 2018 Apr;39:53-59.

Gout and arrhythmias: In search for causation beyond association. Trends Cardiovasc Med. 2019 Jan;29(1):41-47.

Effect of pulmonary vein isolation on left atrial appendage flow in paroxysmal atrial fibrillation. Pacing Clin Electrophysiol. 2018 Sep;41(9):1129-1135.

The Role of Colchicine in Treating Postoperative and Post-catheter Ablation Atrial Fibrillation. Clin Ther. 2019 Jan;41(1):21-29.

The Role of Calcium Handling Mechanisms in Reperfusion Injury. Curr Pharm Des. 2018;24(34):4077-4089.

Effect of Postablation Statin Treatment on Arrhythmia Recurrence in Patients With Paroxysmal Atrial Fibrillation. J Cardiovasc Pharmacol. 2018 Dec;72(6):285-290.

Παρουσιάσεις σε διεθνή συνέδρια

Colchicine for prevention of atrial fibrillation recurrence after pulmonary vein isolation: mid-term efficacy and effect on quality of life. **European Society of Cardiology Congress 2014.**

A Predictive Score of Radial Artery Spasm in Patients Undergoing Transradial Percutaneous Coronary Intervention. **35^ο Διεθνές Καρδιολογικό Συνέδριο της Ελληνικής Καρδιολογικής Εταιρείας.**

Ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια (posters)

Interatrial conduction time and incident atrial fibrillation: a prospective cohort study. **European Society of Cardiology Congress 2014.**

Red blood cell and platelet microparticles in myocardial infarction patients. **European Society of Cardiology Congress 2014.**

ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η πεμπτουσία της σύγχρονης επεμβατικής καρδιολογίας είναι η διάσωση βιώσιμου μυοκαρδιακού ιστού στην κατανομή μιας οξέως αποφραγμένης στεφανιαίας αρτηρίας. Η θρομβόλυση και οι διαδερμικές στεφανιαίες παρεμβάσεις, υπό την προϋπόθεση ότι μπορούν να επιτευχθούν εγκαίρως, μπορούν να άρουν την απόφραξη και να διασώσουν το μυοκάρδιο. Παραδόξως, η αποκατάσταση της βατότητας των στεφανιαίων αγγείων έρχεται με ένα διόλου αμελητέο κόστος. Η βλάβη που προκαλείται στο μυ της καρδιάς κατά την επαναιμάτωση μπορεί να φτάσει έως και το πενήντα τοις εκατό του τελικού μεγέθους του εμφράγματος. Παρά τις δεκαετίες εντατικής έρευνας και την επένδυση τεραστίων χρηματικών ποσών, σχετικά λίγα έχουν επιτευχθεί σε σχέση με την πρόληψη του δευτερογενούς κυτταρικού θανάτου. Η σπανιότητα κλινικών μελετών που πραγματεύονται το φαινόμενο της βλάβης επαναιμάτωσης (και τα μάλλον απογοητευτικά αποτελέσματά τους), αντανakλούν την αδυναμία να μεταφερθούν δεδομένα που αποκτώνται στον τομέα της βασικής έρευνας στην καθημερινή κλινική πράξη.

Η ενασχόληση με τον τομέα αυτό υπήρξε για εμένα ένα όνειρο που ξεκίνησε από τα φοιτητικά χρόνια και ευοδώθηκε χάρη στην εμπιστοσύνη, την συμπαράσταση και την καθοδήγηση του επιβλέποντα καθηγητή καρδιολογίας Σπυρίδωνα Δευτεραίου, ο οποίος και με στήριξε ακούραστα και με προθυμία καθόλο το διάστημα της πιλοτικής αυτής μελέτης. Ο ενθουσιασμός και η επιμονή του αποτέλεσαν πηγή έμπνευσης για όλους όσους συνετέλεσαν στην ολοκλήρωση του δύσκολου αυτού έργου. Πολλά ευχαριστώ οφείλω επίσης και στους συναδέλφους μου (ειδικευόμενους τότε) και στους επιμελητές της καρδιολογικής κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Γ.Γεννηματάς» χωρίς τη βοήθεια και συνεργασία των οποίων το εγχείρημα αυτό δεν θα ήταν εφικτό. Εξ' αυτών ο Γιώργος Γιαννόπουλος, ένας εξαιρετικός καρδιολόγος και ένας «δεινός» στατιστικολόγος, συνέβαλε τα μάλα με την πολύτιμη εμπειρία και γνώση του. Αισθάνομαι τυχερός που ολοκλήρωσα την ειδικότητά μου σε μια κλινική που έχει επιδείξει αξιοζήλευτες επιδόσεις στο χώρο της μεταφραστικής έρευνας τόσο στην Ελλάδα όσο και στο εξωτερικό. Τέλος δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω τους καθηγητές καρδιολογίας Ιωάννη Λεκάκη και Γεράσιμο Φιλιππάτο για την πολύτιμη προσφορά τους και την εποπτεία της μελέτης.

Περιεχόμενα

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	2
ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ	4
ΣΥΝΟΠΤΙΚΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	6
ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	9
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	13
ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ (PubMed Abstract).....	15
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	16
Η ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΗΜΕΡΑ.....	17
ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ.....	17
Οξέα στεφανιαία σύνδρομα και αθηρωματικές αλλοιώσεις των στεφανιαίων αγγείων	17
Οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου.....	19
Επιδημιολογία.....	19
Παθοφυσιολογία	20
Διαταραχή της σχέσης μεταξύ της προσφοράς και της ζήτησης οξυγόνου ως αιτία του OEM.....	21
Παθοφυσιολογικές συνέπειες της ισχαιμίας του μυοκαρδίου	21
Η ισχαιμική διαστολική δυσλειτουργία.....	22
Οι μεταβολικές συνέπειες της ισχαιμίας.....	22
Οι διαταραχές των συγκεντρώσεων των ιόντων κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας.....	23
Παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά του OEM	24
Το «κύμα» της ισχαιμικής νέκρωσης.....	25
Μηχανισμοί κυτταρικού θανάτου	25
Ο ρόλος της αυτοφαγίας στον κυτταρικό θάνατο.....	29
Οι ινοβλάστες και τα υπόλοιπα κύτταρα του ενδομυΐου	29
ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ ΚΑΙ ΒΛΑΒΗ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ.....	30
Παθοφυσιολογία της βλάβης επαναιμάτωσης	31
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ	32
Οι πηγές σουπεροξειδίου κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση	32
Η παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση.....	33
Η παραγωγή ριζών υδροξυλίου κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση	33
Η βλάβη που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση.....	34
Υπεροξείδωση των λιπιδίων	35
Οξειδωση των πρωτεϊνών.....	36

Επίδραση στο γενετικό υλικό	36
ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΤΗΝ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ..	37
Κεντρικοί ρυθμιστές της ομοιόστασης του ενδοκυτταρικού Ca^{2+}	37
Δίαυλοι ασβεστίου L-τύπου	38
Ανταλλάκτης $Na^{+} - Ca^{2+}$	38
Σύμπλοκο Ca^{2+} -ΑΤΡάσης σαρκο/ενδοπλασματικού δικτύου – Φωσφολαμβάνης	40
Υποδοχείς Ρυανοδίνης.....	41
Ο ρόλος του Ca^{2+} στο θάνατο των μυοκαρδιακών κυττάρων και η βλάβη επαναιμάτωσης	42
Υπερσύνσπαση	43
Ενεργοποίηση των καλπαϊνών κατά τη βλάβη επαναιμάτωσης.....	44
Αλληλεπίδραση μεταξύ του σαρκοπλασματικού δικτύου και των μιτοχονδρίων.....	46
ΔΙΑΝΟΙΞΗ ΤΟΥ ΜΡΤΡ	47
ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ	49
Μη ειδική ανοσολογική απόκριση (εγγενής ή έμφυτη ανοσία)	49
Το σύστημα του συμπληρώματος	49
Μοριακά πρότυπα σχετιζόμενα με βλάβη/κίνδυνο [damage (or danger) associated molecular patterns (DAMPs)]	51
Δραστικά είδη οξυγόνου (ROS).....	52
Toll-like υποδοχείς (TLRS)	53
Το σύστημα του πυρηνικού παράγοντα (Nuclear Factor)- κB (NF- κB).....	54
Το φλεγμονόσωμα.....	56
Ενεργοποίηση των κυτταροκινών.....	62
Οι χημειοκίνες.....	63
Τα κύτταρα που συμμετέχουν στην φλεγμονώδη αντίδραση	63
Τα μυοκαρδιακά κύτταρα.....	63
Οι ινοβλάστες.....	63
Τα ενδοθηλιακά κύτταρα.....	64
Τα αιμοπετάλια.....	64
Τα ουδετερόφιλα.....	64
Τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα.....	67
Τα Μαστοκύτταρα	67
Τα λεμφοκύτταρα	68
Η εξωκυτταρική μήτρα κατά τη φλεγμονώδη φάση	68

Ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών.....	68
ΚΟΛΧΙΚΙΝΗ	69
Φαρμακοκινητική, ανεπιθύμητες ενέργειες και τοξικότητα.....	69
Μηχανισμός δράσης.....	71
Κολχικίνη και σταθερή στεφανιαία νόσος	76
Κολχικίνη και οξέα στεφανιαία σύνδρομα/βλάβη επαναιμάτωσης.....	79
Κολχικίνη και αγγειοπλαστική	82
Κολχικίνη και ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια.....	82
Μετα-αναλύσεις για την επίδραση της κολχικίνης στα καρδιαγγειακά συμβάματα	83
Μελέτες που διεξάγονται σήμερα ή βρίσκονται στη φάση σχεδιασμού	84
ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΟΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ	84
Κρεατινική κινάση.....	84
Τροπονίνη	85
Μαγνητική τομογραφία καρδιάς (CMR).....	86
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	89
Εισαγωγή.....	90
Μέθοδοι.....	90
Μαγνητική τομογραφία καρδιάς.....	93
Εκτίμηση του μεγέθους του δείγματος και στατιστική ανάλυση	96
Αποτελέσματα	97
Συνολική κοόρτη	97
Υποομάδα που υποβλήθηκε σε CMR	97
Διακοπή της θεραπείας της μελέτης και ανεπιθύμητες ενέργειες	97
Δείκτες φλεγμονής.....	99
Συζήτηση	100
Περιορισμοί μελέτης	105
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	106

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι παθήσεις της καρδιάς και του κυκλοφορικού (καρδιαγγειακές παθήσεις) αποτελούν την πιο συχνή αιτία θανάτου παγκοσμίως. Σχεδόν το ήμισυ του συνόλου των θανάτων από καρδιαγγειακά νοσήματα, τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες, προέρχονται από στεφανιαία νόσο. Κάθε χρόνο, στην Ευρώπη, η στεφανιαία νόσος ευθύνεται για το 20% του συνόλου των θανάτων ποσοστό που την τοποθετεί στην νούμερο ένα θέση όσον αφορά στην θνητότητα. Οι ευάλωτες αθηροσκληρωτικές στεφανιαίες πλάκες αποτελούν το παθολογικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων. Από παθοφυσιολογικής άποψης, το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ορίζεται ως νέκρωση των μυοκαρδιακών κυττάρων λόγω παρατεταμένης ισχαιμίας. Η ισχαιμία του μυοκαρδίου με τη σειρά της προκύπτει όταν παρατηρείται διαφορά μεταξύ της ζήτησης και της προσφοράς οξυγόνου. Με δεδομένο ότι το 90% της ενέργειας του καρδιομυοκυττάρου προκύπτει ως αποτέλεσμα του αερόβιου μεταβολισμού το οξυγόνο είναι απαραίτητο για τη διατήρηση της λειτουργίας και της ακεραιότητας του. Η ισχαιμία προκαλεί ξαφνική διακοπή της οξειδωτικής φωσφορύλωσης αναγκάζοντας έτσι τα ισχαιμικά κύτταρα να χρησιμοποιήσουν εναλλακτικές οδούς για να παράγουν τριφωσφορική αδενοσίνη. Οι μεταβολικές επιδράσεις της ισχαιμίας στο μυοκάρδιο έχουν ως αποτέλεσμα και σημαντικές διαταραχές της ιοντικής ισορροπίας.

Η έκταση της δυσλειτουργίας, της βλάβης ή/και του θανάτου των κυττάρων επηρεάζεται, τόσο από τη σοβαρότητα, όσο και από τη διάρκεια της ισχαιμίας. Η διάνοιξη του πάσχοντος αγγείου αποτελεί τον κύριο τρόπο περιορισμού του μεγέθους του εμφράγματος με την προϋπόθεση ότι αυτό είναι εφικτό να επιτευχθεί νωρίς μετά την έναρξη της ισχαιμίας πριν επέλθει η νέκρωση των κυττάρων. Παρά όμως το γεγονός ότι η άμεση επαναιμάτωση αποκαθιστά την παροχή οξυγόνου και των υποστρωμάτων που απαιτούνται για την επανέναρξη της αερόβιας παραγωγής ενέργειας και ομαλοποιεί το pH, η ίδια η επαναιμάτωση φαίνεται να έχει και επιζήμιες συνέπειες. Ο όρος βλάβη επαναιμάτωσης χρησιμοποιείται σήμερα για να περιγράψει μια σειρά παθοφυσιολογικών διεργασιών που σχετίζονται με την αποκατάσταση της ροής του αίματος και που δεν είχαν λάβει χώρα κατά τη διάρκεια της ισχαιμικής περιόδου που προηγήθηκε. Η πρόκληση μη αναστρέψιμης βλάβης (νέκρωσης), λόγω της αποκατάστασης της αιματικής ροής, υπήρξε μια έννοια που έγινε πολύ δύσκολα αποδεκτή από την επιστημονική κοινότητα, ενώ η ύπαρξή της στον άνθρωπο αποτέλεσε αντικείμενο έντονης διαμάχης για δεκαετίες. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι παρεμβάσεις κατά τη φάση της επαναιμάτωσης μπορούν πράγματι να μειώσουν το μέγεθος του εμφράγματος έως και 50%.

Η παθοφυσιολογία του φαινομένου δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί ενώ παραμένει ακόμα και σήμερα αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας. Οι κύριοι μηχανισμοί που αποτελούν τη βάση της βλάβης επαναιμάτωσης είναι πολύπλοκοι και περιλαμβάνουν, το οξειδωτικό στρες και την παραγωγή ελευθέρων ριζών, η οποία τροφοδοτείται από την επανεισαγωγή μορίων οξυγόνου στο μέχρι πρότινος ισχαιμικό μυοκάρδιο, την διαταραγμένη ομοιόσταση του ενδοκυττάρου ασβεστίου, την διάνοιξη του πόρου μετάβασης της μιτοχονδριακής διαπερατότητας, και την έντονη φλεγμονώδη αντίδραση.

Παραδόξως και παρά το ότι η φλεγμονή παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου και στη βλάβη που προκαλείται στο μυοκάρδιο κατά την επαναιμάτωση, οι προσπάθειες να εξεταστεί συστηματικά ο ρόλος της αντιφλεγμονώδους αγωγής σε αυτό το πλαίσιο είναι σχετικά περιορισμένες, πιθανόν λόγω της ένδειας αντιφλεγμονωδών παραγόντων που στερούνται αρνητικών επιδράσεων στο καρδιαγγειακό.

Η κολχικίνη είναι μία ουσία με ισχυρές αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και με ένα μοναδικό μηχανισμό δράσης, ο οποίος και επιτρέπει την ασφαλή της χορήγηση σε ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της υπόθεσης ότι η από στόματος (per os) χορήγηση κολχικίνης θα οδηγήσει σε σημαντική μείωση του μεγέθους του εμφράγματος.

Για το σκοπό αυτό διεξαγάγαμε μια προοπτική, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό σκευάσμα (placebo-controlled) μελέτη σε 151 ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του διαστήματος ST, οι οποίοι προσήλθαν/διακομίστηκαν στο νοσοκομείο σε διάστημα μικρότερο ή ίσο των δώδεκα ωρών από την έναρξη των συμπτωμάτων τους. Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από τα επιστημονικά συμβούλια των ιδρυμάτων και υλοποιήθηκε σύμφωνα με τις αντίστοιχες διατάξεις της διακήρυξης του Ελσίνκι. Όλοι οι ασθενείς παρείχαν συγκατάθεση κατόπιν ενημέρωσης. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της συγκέντρωσης του καρδιακού ισοενζύμου της κρεατινικής κινάσης (CK-MB) στις 72 ώρες μετά την εισαγωγή. Η μέγιστη τιμή της υψηλής ευαισθησίας τροπονίνης T ήταν η δευτερεύουσα παράμετρος εκβάσεως. Ένα υποσύνολο των ασθενών υποβλήθηκε σε μαγνητική τομογραφία καρδιάς 6 με 9 ημέρες μετά την αγγειοπλαστική (CMR υποομάδα). Σε αυτή την υποομάδα ο απόλυτος όγκος του εμφράγματος του μυοκαρδίου ήταν η κύρια παράμετρος εκβάσεως. Ο όγκος του εμφράγματος του μυοκαρδίου ως προς την επιφάνεια του σώματος και το σχετικό μέγεθος εμφράγματος (ο λόγος του απόλυτου όγκου εμφράγματος προς τον όγκο της αριστερής κοιλίας) ήταν δευτερεύουσες παράμετροι εκβάσεως.

Το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της συγκέντρωσης της CK-MB ήταν 3144 ($1754 - 6940$) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ στην ομάδα της κολχικίνης, σε σύγκριση με 6184 ($4456 - 6980$) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ στους ασθενείς που έλαβαν εικονικό σκευάσμα (placebo) ($P < 0.001$). Μία παρόμοια διαφορά παρατηρήθηκε στις μέγιστες τιμές τροπονίνης. Ο απόλυτος όγκος του εμφράγματος ήταν 25.1 ($20.0 - 35.9$) mL στην ομάδα ελέγχου σε αντίθεση με 18.8 ($8.1 - 28.5$) mL στην ομάδα της κολχικίνης ($P = 0.019$). Λαμβάνοντας υπόψη την επιφάνεια σώματος το αντίστοιχο μέγεθος του εμφράγματος διαμορφώθηκε σε 23.2 ($18.5 - 33.4$) $\text{mL}/1.73 \text{ m}^2$ έναντι 18.3 ($7.6 - 29.9$) $\text{mL}/1.73 \text{ m}^2$ ($P = 0.019$). Το σχετικό μέγεθος του εμφράγματος ήταν 19.8 ($13.7 - 29.8$) % και 13.0 ($8.0 - 25.3$) %, αντίστοιχα. Το υπολογιζόμενο μέσω βιοδεικτών μέγεθος του εμφράγματος ήταν επίσης μικρότερο στους ασθενείς που έλαβαν κολχικίνη της CMR υποομάδας, παρόμοια με την συνολική κοόρτη. Ο μέγιστος αριθμός ουδετερόφιλων (που μετρήθηκε κατά τη νοσηλεία) ήταν 7543 ($6549 - 10118$) / μL στην ομάδα της κολχικίνης, σε σύγκριση με 8922 ($7880 - 10307$) / μL στην ομάδα ελέγχου ($P = 0.008$). Τα μέγιστα επίπεδα C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ήταν επίσης υψηλότερα στην ομάδα ελέγχου από την ομάδα της κολχικίνης (63.8 [$34.7 - 103.4$] mg/L έναντι 42.9 [$16.3 - 71.4$] mg/L ; $P = 0.019$).

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης είναι αξιοσημείωτα, δεδομένου του ότι παρατηρήθηκε ευεργετικό αποτέλεσμα της αγωγής σε όλες τις υπό μελέτη παραμέτρους. Είναι πιθανό ότι το εύρος των δράσεων της κολχικίνης είναι ένα πλεονέκτημα στην πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ της φλεγμονής, της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης στο πλαίσιο του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου με ανάσπαση του διαστήματος ST. Το γεγονός ότι η μελέτη δεν είχε την ισχύ να δείξει διαφορές σε αντικειμενικά κλινικά καταληκτικά σημεία, πρέπει να ορίσει και τα όρια για τη γενίκευση αυτών των αποτελεσμάτων. Για το σκοπό αυτό απαιτούνται περαιτέρω μελέτες έτσι ώστε να μπορέσουν να εξαχθούν βέβαια κλινικά συμπεράσματα.

ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ (PubMed Abstract)

Anti-Inflammatory Treatment With Colchicine in Acute Myocardial Infarction: A Pilot Study.

Abstract

BACKGROUND:

Inflammatory processes have been identified as key mediators of the deleterious effects of ischemia/reperfusion in ST-segment-elevation myocardial infarction. Colchicine is a substance with potent anti-inflammatory properties, suitable for safe use in patients with cardiovascular disease. The purpose of this study was to test the hypothesis that a short course of colchicine treatment could lead to reduced infarct size.

METHODS AND RESULTS:

Patients presenting with ST-segment-elevation myocardial infarction ≤ 12 hours from pain onset (treated with primary percutaneous coronary intervention) were randomly assigned to colchicine or placebo for 5 days. The primary outcome parameter was the area under the curve of creatine kinase-myocardial brain fraction concentration. A subset of patients underwent cardiac MRI with late gadolinium enhancement 6 to 9 days after the index ST-segment-elevation myocardial infarction. One hundred fifty-one patients were included (60 in the MRI substudy). The area under the creatine kinase-myocardial brain fraction curve was 3144 (interquartile range [IQR], 1754-6940) $\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ in the colchicine group in comparison with 6184 (IQR, 4456-6980) $\text{ng}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ in controls ($P<0.001$). Indexed MRI-late gadolinium enhancement-defined infarct size was 18.3 (IQR, 7.6-29.9) $\text{mL}/1.73\text{ m}^2$ in the colchicine group versus 23.2 (18.5-33.4) $\text{mL}/1.73\text{ m}^2$ in controls ($P=0.019$). The relative infarct size (as a proportion to left ventricular myocardial volume) was 13.0 (IQR, 8.0-25.3) % and 19.8 (IQR, 13.7-29.8) %, respectively ($P=0.034$).

CONCLUSIONS:

These results suggest a potential benefit of colchicine in ST-segment-elevation myocardial infarction, but further clinical trials are necessary to draw secure conclusions, especially considering the fact that the present study was not powered to assess clinical end points.

CLINICAL TRIAL REGISTRATION:

URL: <http://www.clinicaltrials.gov>. Unique identifier: NCT01936285.

KEYWORDS: MB form; area under curve; creatine kinase; gadolinium; magnetic resonance imaging; neutrophil; troponin T

PMID: 26265659 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017611

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΗΜΕΡΑ

Οι παθήσεις της καρδιάς και του κυκλοφορικού (καρδιαγγειακές παθήσεις) αποτελούν την πιο συχνή αιτία θανάτου παγκοσμίως. Ευθύνονται για το 31,5% όλων των θανάτων και για το 45% όλων των θανάτων από μη μεταδοτικές ασθένειες, ποσοστά υπερδιπλάσια σε σχέση με τον καρκίνο και μεγαλύτερα από το άθροισμα του συνόλου όλων των μεταδοτικών, μητρικών, νεογνικών και διατροφικών διαταραχών [1]. Στη γηραιά ήπειρο μόνο, 4 εκατομμύρια θάνατοι σημειώνονται ετησίως λόγω καρδιαγγειακών παθήσεων. Οι κυριότερες μορφές της καρδιαγγειακής νόσου είναι η στεφανιαία νόσος (ΣΝ) και η νόσος των εγκεφαλικών αγγείων. Σχεδόν το ήμισυ του συνόλου των θανάτων από καρδιαγγειακά νοσήματα, τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες, προέρχονται από ΣΝ, με το εγκεφαλικό επεισόδιο να αντιπροσωπεύει σχεδόν το ένα τρίτο των θανάτων σε γυναίκες και το ένα τέταρτο των θανάτων στους άνδρες [2, 3].

ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ

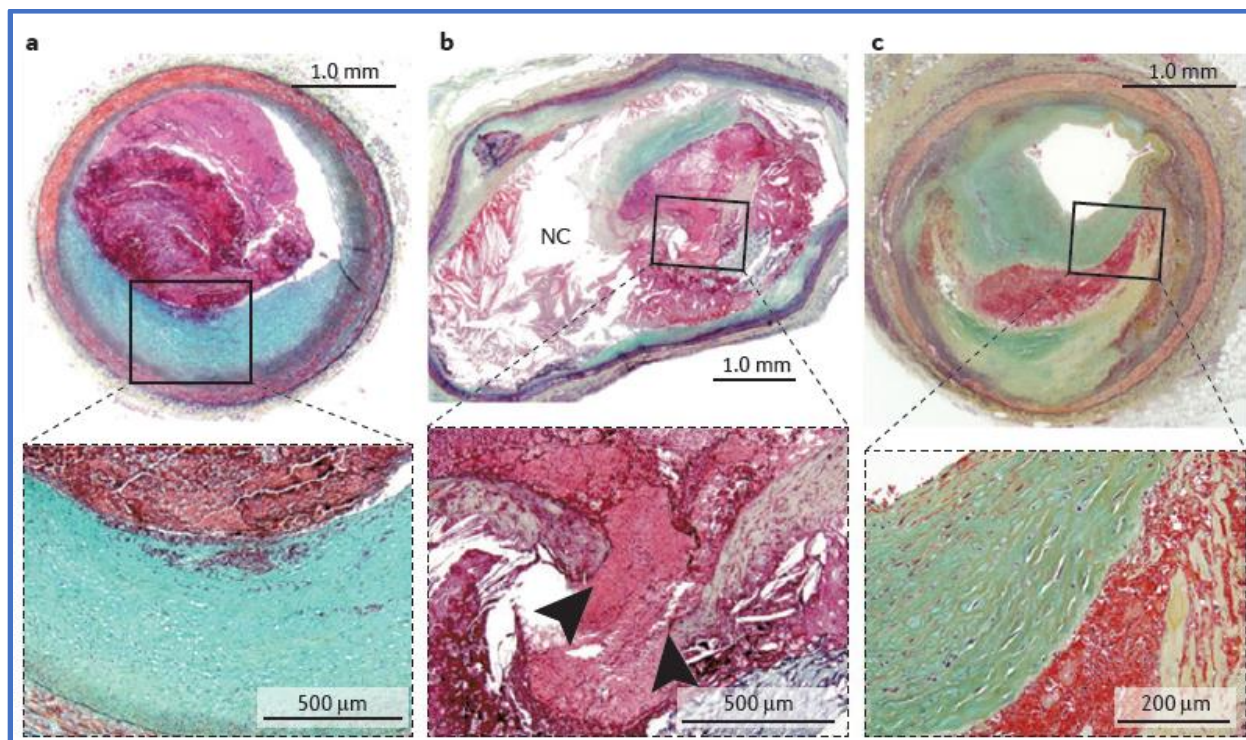
Οξεία στεφανιαία σύνδρομο και αθηρωματικές αλλοιώσεις των στεφανιαίων αγγείων

Οι ευάλωτες αθηροσκληρωτικές στεφανιαίες πλάκες αποτελούν το παθολογικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων (ΟΣΣ) [4]. Στην περίπτωση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου (ΟΕΜ) με ανάσπαση του διαστήματος ST, η νέκρωση των μυοκαρδιακών κυττάρων λόγω παρατεταμένης ισχαιμίας είναι συνήθως το αποτέλεσμα ενός ενδοστεφανιαίου θρόμβου που αποφράσσει ολοκληρωτικά τον αυλό του αγγείου (εικόνα 1). Οι De Wood et al., σε μια μελέτη ορόσημο, πραγματοποίησαν στεφανιογραφία σε 322 ασθενείς με "διατοιχωματικό έμφραγμα του μυοκαρδίου" με ανάσπαση του διαστήματος ST και με κύμα Q στο ηλεκτροκαρδιογράφημα (ΗΚΓ) [5]. Τέσσερις ώρες μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων, ολική απόφραξη του ενόχου αγγείου παρατηρήθηκε στο 87% των ασθενών με το ποσοστό αυτό να μειώνεται στο 65% όταν η στεφανιογραφία έγινε από 12 έως 24 ώρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Από τους 59 ασθενείς με εικόνα θρόμβου στη στεφανιογραφία, ο θρόμβος ανακτήθηκε σε 52 (88%) αλλά απουσίαζε σε επτά (12% ψευδώς θετικό), ενώ μεταξύ 20 επιπλέον ασθενών χωρίς εικόνα θρόμβωσης, θρόμβος ανακτήθηκε σε πέντε (25% ψευδώς αρνητικό). Στη συνέχεια πραγματοποίησαν αγγειογραφία σε 341 ασθενείς με ΟΕΜ και απουσία κύματος Q, οι περισσότεροι από τους οποίους είχαν ΟΕΜ χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST [6]. Ολική απόφραξη του ενόχου αγγείου εντοπίστηκε σε 26% των ασθενών εντός 24 ωρών, σε 37% μεταξύ 24 και 72 ωρών και σε 42% μεταξύ 72 ωρών και 7 ημερών μετά την κορύφωση των συμπτωμάτων. Αυτές οι αρχικές παρατηρήσεις βοήθησαν να καταλάβουμε καλύτερα και τα αποτελέσματα μεταγενέστερων ερευνών σχετικά με τη χρήση των θρομβολυτικών στο ΟΕΜ που έδειξαν όφελος (αποκατάσταση της ροής) σε ασθενείς με ανάσπαση του ST και αρνητική επίδραση σε αυτούς χωρίς (εξαιτίας της θρομβοφιλίας που έπεται της χορήγησης θρομβολυτικών).

Επιπλέον δεδομένα σχετικά με την παθοφυσιολογία του ΟΕΜ παρέχει και η μελέτη "A Prospective Natural-History of Coronary Atherosclerosis" (PROSPECT), κατά τη διάρκεια της οποίας ασθενείς με ΟΕΜ με ή χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST και ασταθή στηθάγχη με ηλεκτροκαρδιογραφικές αλλοιώσεις υποβλήθηκαν σε αγγειογραφία και ενδοαγγειακό υπέρηχο (IVUS) και παρακολούθηθηκαν για την εμφάνιση μείζονων καρδιαγγειακών συμβαμάτων (θάνατος καρδιακής αιτιολογίας, ανακοπή, ΟΕΜ και εισαγωγή στο νοσοκομείο λόγω στηθάγχης) [7]. Από το περίπου ένα πέμπτο των ασθενών που

εμφάνισαν υποτροπιάζον επεισόδιο σε διάστημα 3 ετών, η ένοχη βλάβη ήταν διαφορετική της αρχικής στους μισούς εξ αυτών. Είναι σημαντικό ότι οι περισσότερες από αυτές τις νέες βλάβες ήταν αγγειογραφικά μη σημαντικές (ποσοστό στένωσης $32 \pm 21\%$) κατά την αρχική στεφανιογραφία, αλλά είχαν υψηλού κινδύνου χαρακτηριστικά στο ενδοαγγειακό υπέρηχο όπως υψηλό αθηρωματικό φορτίο, μειωμένη ελάχιστη επιφάνεια αυλού ή ταξινομήθηκαν ως αθηρωματικές πλάκες με λεπτή ινώδη κάψα [thin-cap fibroatheromas (TCFA)].

Πιο πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η παθοφυσιολογία του ΟΣΣ μεταβάλλεται. Με τη βοήθεια της οπτικής συνεκτικής τομογραφίας (OCT) οι ερευνητές έδειξαν ότι η επίπτωση της επιφανειακής διάβρωσης των αθηρωματικών πλακών ως αιτία του ΟΣΣ έχει αυξηθεί, σε αντίθεση με το ΟΣΣ που προκαλείται από τη ρήξη αυτών [8, 9] (εικόνα 1). Στην πραγματικότητα, περίπου το ένα τρίτο από τα ΟΣΣ σήμερα μπορούν να αποδοθούν σε βλάβες που επιδεικνύουν ακέραιες (άθικτες) αθηρωματικές πλάκες, ενώ ένα μικρό ποσοστό (~ 5%) οφείλεται σε διάρρηξη της επιφάνειας λόγω ασβεστοποιημένων οζιδίων και σε άλλες διάφορες αιτίες [9]. Οι βλάβες αυτές εμφανίζονται συχνά σε νεαρά άτομα, ειδικά γυναίκες, και δεν συνδέονται με τους παραδοσιακούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (με εξαίρεση το κάπνισμα). Πιθανώς αυτή η μεταβολή να σχετίζεται με την επιθετική τροποποίηση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (διακοπή καπνίσματος, μείωση της LDL χοληστερόλης, έλεγχος της αρτηριακής πίεσης κλπ.) [10]. Παρόλο που ένα σημαντικό ποσοστό των ΟΣΣ σήμερα προέρχεται από πλάκες με άθικτες ινώδεις κάψες, οι κλινικοί γιατροί σχεδόν πάντα ταυτίζουν το ΟΣΣ με τη ρήξη των (ευάλωτων) πλακών.



Εικόνα 1. Ιστολογικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας. Φωτογραφίες μικρής μεγέθυνσης από ασθενείς με αιφνίδιο καρδιακό θάνατο εμφανίζονται στην επάνω σειρά: **a.** πλάκα με διάβρωση, **b.** πλάκα με ρήξη, **c.** σταθερή πλάκα. Οι περιοχές που περικλείονται από το τετράγωνο εμφανίζονται σε μεγέθυνση στη κάτω σειρά. **a.** Μια διαβρωμένη πλάκα που προκαλεί σοβαρή απόφραξη με έναν νεκρωτικό πυρήνα (NC) και ένα υπερκείμενο θρόμβο. Η ινώδης κάψα παραμένει άθικτη και παρουσιάζει μια αφθονία λείων μυϊκών κυττάρων και πρωτεογλυκανών ενώ υπάρχει και ελάχιστη φλεγμονή στη βάση του θρόμβου. Η δε πλάκα δεν παρουσιάζει θετική αναδιαμόρφωση. **b.** Αθηροσκληρωτική πλάκα με θετική αναδιαμόρφωση, που προκαλεί σχεδόν ολική απόφραξη με ένα μεγάλο NC πλούσιο σε κρυστάλλους χοληστερόλης που καλύπτεται από μια πολύ λεπτή ινώδη κάψα που φλεγμένει και η οποία έχει διαρραγεί (περιοχή μεταξύ των δύο βελών). Λεία μυϊκά κύτταρα είναι παρόντα στο μέσο χιτώνα και στη λεπτή ινώδη κάψα. Ο θρομβογόνος NC είναι σε επικοινωνία με τον αυλό του αγγείου με αποτέλεσμα τη δημιουργία θρόμβου. **c.** Μία σταθερή πλάκα πλούσια σε λεία μυϊκά κύτταρα και κολλαγόνο. Ο αιμορραγικός NC στη μέση που διαχωρίζει το κολλαγόνο αντιπροσωπεύει μια περιοχή επουλωμένης ρήξης. Η βλάβη προκαλεί σοβαρή στένωση, αλλά δεν παρουσιάζει θετική αναδιαμόρφωση ή υπερκείμενο θρόμβο. Μεταφρασμένη εικόνα από [9] (με την άδεια των συγγραφέων).

Οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου

Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελεί τη σοβαρότερη εκδήλωση της στεφανιαίας νόσου. Κλινικά ο όρος χρησιμοποιείται όταν υπάρχουν ενδείξεις βλάβης του μυοκαρδίου (που ορίζεται ως αύξηση των τιμών καρδιακής τροπονίνης με μία τουλάχιστον τιμή πάνω από το ανώτατο όριο αναφοράς του 99ου εκατοστημορίου,) με συνοδό νέκρωση και με συμπτώματα συμβατά με ισχαιμία αυτού [11]. Στα πλαίσια αυτά δύο ξεχωριστές οντότητες διακρίνονται. Το έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του διαστήματος ST (STEMI) και το έμφραγμα του μυοκαρδίου χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST (NSTEMI). Ένας διαχωρισμός ιδιαίτερα σημαντικός για την λήψη άμεσων αποφάσεων σχετικά με τη στρατηγική επαναιμάτωσης που θα ακολουθηθεί. Έτσι ασθενείς με επίμονο θωρακικό άλγος ή και άλλα συμπτώματα που να υποδηλώνουν ισχαιμία και ανάσπαση του ST σε δύο τουλάχιστον συνεχόμενες αγωγές διαγιγνώσκονται ως πάσχοντες από STEMI και χρήζουν άμεσης επαναιμάτωσης, ενώ αντίθετα, οι ασθενείς χωρίς ανάσπαση του ST χαρακτηρίζονται ως πάσχοντες από NSTEMI και αντιμετωπίζονται ακολούθως [12, 13].

Επιδημιολογία

Κάθε χρόνο, στην Ευρώπη, η ΣΝ ευθύνεται για το 20% του συνόλου των θανάτων ποσοστό που την τοποθετεί στη νούμερο ένα θέση όσον αφορά στην θνησιμότητα. Είναι επίσης η κύρια αιτία θανάτου στις ηλικιακές ομάδες από τα 75 μέχρι και τα 65 έτη και κάτω από τα 65 έτη [3]. Η θνησιμότητα είναι υψηλότερη στην Κεντρική και Ανατολική Ευρώπη από ότι στη Βόρεια, Νότια και Δυτική Ευρώπη ενώ οι χώρες της Δυτικής Ευρώπης έχουν γενικά υψηλότερο ποσοστό σε σχέση με τις χώρες της Νότιας Ευρώπης.

Τα τελευταία 20 χρόνια, η θνησιμότητα από τη ΣΝ μειώνεται σταθερά στις περισσότερες χώρες της Βόρειας και Δυτικής Ευρώπης. Μικτές τάσεις παρατηρούνται σε χώρες της Κεντρικής και Ανατολικής

Ευρώπης, συμπεριλαμβανομένης και μιας σχετικής σταθερότητας σε ορισμένες χώρες, όπως για παράδειγμα στη Βουλγαρία αλλά και κάποιων ταχέων αυξήσεων σε χώρες όπως η Ουκρανία και η Λευκορωσία. Ωστόσο, από το 2000 έως το 2005, τα ποσοστά μειώνονται πλέον και στην πλειοψηφία των χωρών της Κεντρικής και Ανατολικής Ευρώπης, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην καλύτερη οργάνωση των κρατικών μηχανισμών υγείας, στην καλύτερη ενημέρωση των ασθενών, στην πρωτογενή πρόληψη, στην αλλαγή του τρόπου ζωής, στην τροποποίηση των παραγόντων κινδύνου και στη χρήση τεκμηριωμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Παρολαυτά, σε ετήσια βάση, 1,8 εκατομμύρια θάνατοι αποδίδονται στη ΣΝ. Τεράστιο είναι και το οικονομικό αντίκτυπο, με την Ευρωπαϊκή οικονομία να ξοδεύει 60 δισεκατομμύρια ευρώ το χρόνο, από τα οποία το 33% αντιστοιχεί στο άμεσο κόστος της υγειονομικής περίθαλψης, το 29% στις απώλειες παραγωγικότητας και το 38% στην «άτυπη» φροντίδα των ασθενών [14].

Η μείωση που παρατηρείται οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μείωση του ποσοστού των ασθενών με STEMI. Αντίθετα, το ποσοστό των ασθενών με NSTEMI σημειώνει μια μικρή αύξηση. Στις διάφορες ευρωπαϊκές χώρες η επίπτωση του STEMI κυμαίνεται από 43 έως 144 νέα κρούσματα ανά 100000 πληθυσμού ανά έτος. Παρομοίως, τα αναφερόμενα ποσοστά εμφάνισης από τις ΗΠΑ μειώθηκαν από 133 ανά 100 000 το 1999 σε 50 ανά 100 000 το 2008. Η θνητότητα στους εν λόγω ασθενείς επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Μεταξύ αυτών είναι η προχωρημένη ηλικία, η τάξη Killip, η καθυστέρηση στη έναρξη της επαναιμάτωσης, οι διαθέσιμες θεραπείες (θρομβόλυση ή πρωτογενής αγγειοπλαστική), η παρουσία δικτύων STEMI στις εκάστοτε χώρες, η ύπαρξη προηγούμενου OEM, ο σακχαρώδης διαβήτης, η νεφρική ανεπάρκεια, ο αριθμός των πασχόντων στεφανιαίων αρτηριών και το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας. Αρκετές πρόσφατες μελέτες έχουν επισημάνει μια πτώση της θνητότητας τόσο στην οξεία φάση όσο και στη χρόνια φάση μετά από STEMI που οφείλεται σε συχνότερη χρήση των θεραπειών επαναιμάτωσης, στη πρωτογενή αγγειοπλαστική (PPCI), στη σύγχρονη αντιθρομβωτική θεραπεία και στη δευτερογενή πρόληψη. Εντούτοις, η ενδονοσοκομειακή θνητότητα ανέρχεται στο 4 με 12% και η θνητότητα στο ένα έτος σε άνω του 10% [13].

Αμετάβλητα έχουν παραμείνει η ηλικία και το φύλο των ασθενών αφού η νόσος εμφανίζεται συχνότερα σε νεαρά άτομα ανδρικού φύλου. Οι γυναίκες αποτελούν το 30% των ασθενών με STEMI. Η νόσος τις προσβάλλει κατά μέσο όρο 7-10 χρόνια αργότερα από ότι τους άνδρες. Η προχωρημένη ηλικία, η παρουσία συννοσηροτήτων και τα άτυπα συμπτώματα συντελούν στην ανεπαρκή αντιμετώπιση, γεγονός που δικαιολογεί και τη διαφαινόμενη, σε μερικές μελέτες, δυσμενέστερη έκβαση [13].

Παθοφυσιολογία

Από παθοφυσιολογικής άποψης το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ορίζεται ως νέκρωση των μυοκαρδιακών κυττάρων λόγω παρατεταμένης ισχαιμίας. Η ανάπτυξη ευαίσθητων βιοδεικτών [όπως η τροπονίνη (Tn)] βελτίωσε σημαντικά την ικανότητα των κλινικών ιατρών να ανιχνεύουν το θάνατο των μυοκαρδιακών κυττάρων. Αυξήσεις της συγκέντρωσης της τροπονίνης φανερώνουν μυοκαρδιακή βλάβη, χωρίς όμως αυτό να είναι απαραίτητα και δείκτης ισχαιμικού θανάτου. Αυτή η διάκριση δεν είναι απλώς σημασιολογική, αλλά έχει και σημαντικές παθοφυσιολογικές επιπτώσεις. Σε σύγκριση με την ισχαιμία, η μη ισχαιμική βλάβη μπορεί να ενεργοποιήσει διαφορετικούς μηχανισμούς κυτταρικού θανάτου και μπορεί να προκαλέσει πολύ διαφορετικές αποκρίσεις τόσο σε μυοκαρδιακά κύτταρα όσο και σε μη μυοκαρδιακά κύτταρα.

Διαταραχή της σχέσης μεταξύ της προσφοράς και της ζήτησης οξυγόνου ως αιτία του OEM

Η ισχαιμία του μυοκαρδίου προκύπτει όταν παρατηρείται διαφορά μεταξύ της ζήτησης και της προσφοράς οξυγόνου. Σε κατάσταση ηρεμίας ακόμα και αθηρωματικές πλάκες που αποφράσσουν την επιφάνεια του αυλού σε ποσοστό $\geq 75\%$ (αν έχουν σταδιακά δημιουργηθεί) δεν προκαλούν μείωση της ροής του αίματος. Ωστόσο, όταν οι ανάγκες του μυοκαρδίου σε οξυγόνο αυξάνονται (άσκηση, ταχυαρρυθμία, κλπ.), ο περιορισμός της ροής εμποδίζει την αύξηση της παροχής οξυγόνου, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη ισχαιμίας και την πρόκληση στηθάγχης. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, το OEM οφείλεται σε στεφανιαία αθηρωματική νόσο που περιπλέκεται από την παρουσία θρόμβου [5]. Η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας είναι η πιο συχνή αιτία θρόμβωσης. Το κενό που δημιουργείται στην επιφάνεια της ινώδους κάψας μιας ευάλωτης πλάκας, εκθέτει το νεκρωτικό πυρήνα στο εσωτερικό της στο αίμα με αποτέλεσμα τη δημιουργία θρόμβου (εικόνα 1) [15]. Αν και η πλειοψηφία των ασθενών με OEM έχει στεφανιαία νόσο, η ρήξη της πλάκας μπορεί να παρατηρηθεί εν τη απουσία σημαντικής απόφραξης [16]. Επίσης ένα ευρύ φάσμα πιο σπάνιων νοσημάτων όπως η εμβολή σε ασθενείς με ενδοκαρδίτιδα ή η θρόμβωση προσθετικής βαλβίδας, ο διαχωρισμός των στεφανιαίων και οι διάφορες αρτηρίτιδες μπορεί να οδηγήσει σε απόφραξη ή σοβαρή στένωση των στεφανιαίων και να προκαλέσει OEM. Από μια ευρύτερη οπτική γωνία, όλες οι παθοφυσιολογικές οντότητες που συμβάλλουν στην ανατροπή της ισορροπίας μεταξύ ζήτησης και προσφοράς οξυγόνου από και προς το μυοκάρδιο συχνά συμμετέχουν στην παθογένεση του OEM. Ο σπασμός των στεφανιαίων αγγείων και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μπορεί να μειώσουν την παροχή αίματος στο μυοκάρδιο ενώ η σοβαρή αναιμία μπορεί να μειώσει την παροχή οξυγόνου παρουσία ή απουσία μιας αποφρακτικής βλάβης. Από την άλλη μια πληθώρα συνθήκων που σχετίζονται με αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου (όπως η θυρεοτοξίκωση, η στένωση της αορτικής βαλβίδας ή η χρήση ουσιών με θετική ινότροπο δράση) μπορεί να προκαλέσουν έμφραγμα παρά τη σχετικά μικρή μείωση στην παροχή.

Παθοφυσιολογικές συνέπειες της ισχαιμίας του μυοκαρδίου

Τα μυοκαρδιακά κύτταρα των θηλαστικών έχουν αποθέματα ενέργειας, υπό τη μορφή φωσφορικών αλάτων, ικανά να διατηρήσουν τη συσταλτικότητα για μερικά λεπτά σε συνθήκες πλήρους ισχαιμίας. Ωστόσο, σε πειραματικά μοντέλα ισχαιμίας, η εμφάνιση συστολικής δυσλειτουργίας είναι πολύ πιο γρήγορη, με τη συστολή να παύει μετά από 60 δευτερόλεπτα, παρά τα διαθέσιμα ενεργειακά αποθέματα. Αυτή η άμεση λειτουργική «κατάρριψη» οφείλεται σε δύο κυρίως λόγους. Πρώτον, η δημιουργία ανόργανου φωσφορικού άλατος που απορρέει από τη διάσπαση των αποθεμάτων φωσφορικής κρεατίνης αναστέλλει τη λειτουργία των μυοϊνιδίων [17, 18]. Δεύτερον, η ενδοκυττάρια οξέωση μειώνει την πρόσδεση του ασβεστίου στα μυοϊνίδια μειώνοντας τη συσταλτικότητα. Λόγω της διατήρησης της κλίσης του ασβεστίου και των δυναμικών στα πρώιμα στάδια της ισχαιμίας, η ισχαιμική συστολική δυσλειτουργία φαίνεται να σχετίζεται με την αναστολή των συσταλτών πρωτεϊνών. Η ταχεία διακοπή της σύσπασης σκοπό έχει να παρατείνει την επιβίωση των κυττάρων, καθώς μειώνει τις ενεργειακές απαιτήσεις και ως εκ τούτου την κατανάλωση των αποθεμάτων των φωσφορικών αλάτων.

Εάν η ροή του αίματος αποκατασταθεί εντός 4-5 λεπτών από την απόφραξη, η συστολική δυσλειτουργία είναι πλήρως αναστρέψιμη. Ωστόσο, εάν η ισχαιμία διαρκέσει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (10-20 λεπτά) η δυσλειτουργία εμμένει ακόμη και αν το διάστημα αυτό δεν είναι ικανό να προκαλέσει το θάνατο των μυοκαρδιακών κυττάρων. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται «απόπληκτο μυοκάρδιο» (myocardial

stunning) και συνήθως υποστρέφει εντός 24 ωρών από την αποκατάσταση της ροής στα στεφανιαία. Η παθογένεση του περιλαμβάνει δυο αλληλένδετους μηχανισμούς: την παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και την διαταραχή της ομοιόστασης του ασβεστίου. Η παραγωγή ROS κατά τη διάρκεια των πρώτων σταδίων της επαναιμάτωσης μπορεί να οδηγήσει σε οξείδωση των συστατικών πρωτεϊνών, καθυστερώντας τη λειτουργική αποκατάσταση, άποψη που ενισχύεται από την παρατήρηση ότι οι παράγοντες δέσμευσης των ROS μειώνουν σημαντικά την μετα-ισχαιμική δυσλειτουργία [19]. Επιπλέον η παραγωγή ελευθέρων ριζών και η επαγόμενη υπερφόρτωση ασβεστίου [20], έχουν ως αποτέλεσμα τη μειωμένη απόκριση των πρωτεϊνών των σαρκομερίων στο ασβέστιο [21] και την ενεργοποίηση πρωτεασών, που αποδομούν τις συσταλτές πρωτεΐνες [22, 23].

Η ισχαιμική διαστολική δυσλειτουργία

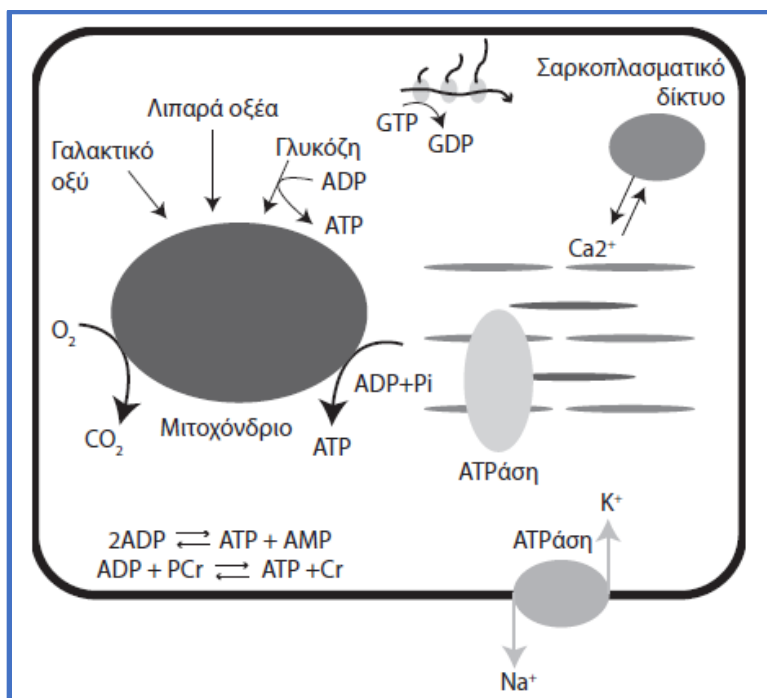
Εκτός από τη συστολική δυσλειτουργία, η ισχαιμία του μυοκαρδίου προκαλεί και διαστολική δυσλειτουργία. Αυτό οφείλεται στη δημιουργία μεταβολικών υποπροϊόντων όπως το γαλακτικό οξύ που προκαλούν ένα υπερωσμωτικό περιβάλλον, και οδηγούν σε διάμεσο οίδημα μειώνοντας την ενδοτικότητα του μυοκαρδίου [24]. Επιπλέον, η χάλαση είναι μια διαδικασία που απαιτεί ενέργεια (από τα φωσφορικά άλατα), για να αντληθεί το ασβέστιο πίσω στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, έναντι της κλίσης συγκέντρωσης του [25].

Οι μεταβολικές συνέπειες της ισχαιμίας

Η εκτέλεση των διεργασιών των μυοκαρδιακών κυττάρων απαιτεί ενέργεια (εικόνα 2). Οι πιο σημαντικές εξ' αυτών είναι η αντλητική λειτουργία, η διαχείριση του ασβεστίου, η σύνθεση των πρωτεϊνών και η διατήρηση των κλίσεων συγκεντρώσεων των ιόντων [26]. Υπό φυσιολογικές συνθήκες το 60–90% της παραγόμενης τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) προέρχεται από την οξείδωση των λιπαρών οξέων και το υπόλοιπο από την οξείδωση της γλυκόζης [27]. Δεδομένης της πολύ υψηλότερης απόδοσης της αερόβιας οξείδωσης σε σύγκριση με την αναερόβια (επί παραδείγματι 2 ATP κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό της γλυκόζης, έναντι 38 ATP κατά τον αερόβιο μεταβολισμό της) είναι εύλογη η προτίμηση της καρδιάς στον αερόβιο μεταβολισμό. Πράγματι, 90% της ενέργειας του καρδιομυοκυττάρου προκύπτει ως αποτέλεσμα του αερόβιου μεταβολισμού, ο οποίος αρχίζει στο κυτταρόπλασμα αλλά ολοκληρώνεται στα μιτοχόνδρια [28].

Η ισχαιμία προκαλεί ξαφνική διακοπή της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης αναγκάζοντας έτσι τα ισχαιμικά κύτταρα να χρησιμοποιήσουν εναλλακτικές οδούς για να παράγουν ATP. Καθώς τα αποθέματα φωσφοκρεατίνης εξαντλούνται ταχέως [29], η αναερόβια γλυκόλυση καθίσταται η κύρια πηγή παραγωγής ATP [30]. Χωρίς να αποκατασταθεί η κυκλοφορία, η γλυκόζη δεν μπορεί να φτάσει στα ισχαιμικά κύτταρα, έτσι, το κύριο υπόστρωμα της γλυκόλυσης κατά την διάρκεια της ισχαιμίας προέρχεται από τα ενδοκυτταρικά αποθέματα γλυκογόνου. Κατά την αναερόβια γλυκόλυση το ATP παράγεται με ρυθμό <10% του απαραίτητου για τη διατήρηση της καρδιακής λειτουργίας με αποτέλεσμα να καταναλώνεται πολύ πιο γρήγορα από ότι παράγεται [31]. Επιπροσθέτως, η ενδοκυτταρική οξέωση που αναπτύσσεται προοδευτικά λόγω της συσσώρευσης γαλακτικού οξέος αναστέλλει πολλά από τα ένζυμα της γλυκολυτικής οδού. Έτσι, μετά από 15-20 λεπτά ισχαιμίας ο ρυθμός αναερόβιας γλυκόλυσης μειώνεται αισθητά και τελικά η γλυκόλυση διακόπτεται παρά την παρουσία γλυκογόνου στα κύτταρα.

Προφανώς, η ισχαιμία επηρεάζει και τη συγκέντρωση του νουκλεοτιδίου της αδενίνης στο μυοκάρδιο. Οι διαφορετικοί ρυθμοί παραγωγής και κατανάλωσης ATP αυξάνουν την συγκέντρωση της διφωσφορικής αδενοσίνης (ADP). Το ένζυμο αδενυλική κινάση μετατρέπει 2 μόρια ADP σε ATP και μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP). Το ATP χρησιμοποιείται, ενώ το AMP μετατρέπεται σε αδενοσίνη με τη βοήθεια του ενζύμου 5'-νουκλεοτιδάση [31]. Η αδενοσίνη διαχέεται στο διάμεσο χώρο όπου μετατρέπεται σε ινοσίνη και υποξανθίνη. Η μείωση των επιπέδων ATP στο ισχαιμικό μυοκάρδιο συνδέεται με την ανάπτυξη μη αναστρέψιμων μεταβολών στα μυοκαρδιακά κύτταρα, καθώς τα κύτταρα που εξαντλούν τα ενεργειακά τους αποθέματα αδυνατούν να διατηρήσουν και την ομοιόστασή τους.



Εικόνα 2. Παραγωγή και κατανάλωση ενέργειας στα καρδιομυοκύτταρα. Απεικονίζονται επίσης οι αντιδράσεις της φωσφοκρεατινικής (PCr) και της αδενυλικής κινάσης. Μεταφρασμένη εικόνα από [26] (με την άδεια των συγγραφέων).

Οι διαταραχές των συγκεντρώσεων των ιόντων κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας.

Οι μεταβολικές επιδράσεις της ισχαιμίας στο μυοκάρδιο έχουν ως αποτέλεσμα και σημαντικές διαταραχές της ιοντικής ισορροπίας. Η ισχαιμία συνδέεται με την εκροή ενδοκυτταρικού καλίου στο διάμεσο χώρο. Η συσσώρευση του καλίου στον εξωκυτταρικό χώρο οδηγεί σε μείωση του δυναμικού ενέργειας (σε ύψος, ρυθμό ανόδου και διάρκεια) [32]. Μετά από μια φάση γρήγορης μεταβολής, κατά τη διάρκεια των πρώτων λεπτών της ισχαιμίας, η συγκέντρωση του καλίου φθάνει σε ένα σταθερό επίπεδο όπου και παραμένει μέχρι την μη αναστρέψιμη φάση της ισχαιμικής βλάβης. Καθώς τα μυοκαρδιακά κύτταρα πεθαίνουν, απελευθερώνουν όλο και περισσότερο κάλιο [33]. Οι μεταβολές στις συγκεντρώσεις του καλίου είναι τοπογραφικά ετερογενείς, με πιο εντυπωσιακές αλλαγές να συμβαίνουν

στο κέντρο του εμφράγματος [34]. Από ηλεκτροφυσιολογικής απόψεως, η αύξηση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του ουδού διέγερσης και την διακοπή της αγωγής [35].

Η ισχαιμία προκαλεί επίσης και σημαντική οξέωση τόσο στο εσωτερικό των κυττάρων όσο και στο διάμεσο χώρο με το pH να μειώνεται κατά μία ή περισσότερες μονάδες. Αυτές οι αλλοιώσεις προκαλούνται από την αυξημένη παραγωγή και την μειωμένη απομάκρυνση των πρωτονίων στην ισχαιμική περιοχή. Η οξείδωση αναστέλλει τους περισσότερους διαύλους ιόντων και οδηγεί σε μείωση του δυναμικού ηρεμίας, παράταση του δυναμικού ενέργειας και εμφάνιση πρώιμων μετα-εκπολώσεων (early afterdepolarizations) [36]. Επιπλέον η μειωμένη παραγωγή ATP επιβραδύνει και την ενεργητική μεταφορά του νατρίου στο εξωτερικό των κυττάρων λόγω της υπολειτουργίας της αντλίας νατρίου-καλίου ($\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase) αυξάνοντας τη συγκέντρωσή του στο κυτταρόπλασμα. Αυτό με τη σειρά του επιδρά στα επίπεδα του κυτοσολικού ασβεστίου αυξάνοντας τα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ή την τροποποίηση της λειτουργίας πολλών διαύλων και μεταφορέων (την οποία και θα αναπτύξουμε διεξοδικά σε μετέπειτα ενότητα). Τέλος η συγκέντρωση του ελεύθερου μαγνησίου αυξάνεται λόγω της απελευθέρωσης του από το υδρολυμένο ATP ή/και από την μειωμένη απομάκρυνση του. Το μαγνήσιο θεωρείται ότι παίζει ρυθμιστικό ρόλο όσον αφορά στη λειτουργία πολλών διαύλων που εξαρτώνται από το διαμεμβρανικό δυναμικό (voltage gated channels) η μεταβολή της λειτουργίας των οποίων μπορεί να οδηγήσει στην πρόκληση αρρυθμιών [37]. Όλες αυτές οι αλλαγές προάγουν ένα αρρυθμογόνο περιβάλλον.

Παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά του OEM

Η στεφανιαία απόφραξη έχει ως αποτέλεσμα την άμεση παύση του αερόβιου μεταβολισμού την ταχεία εξάντληση του ATP και τη συσσώρευση μεταβολιτών. Δευτερόλεπτα μετά την ισχαιμική προσβολή, παρατηρείται σοβαρή συστολική δυσλειτουργία. Μερικά λεπτά αργότερα παρατηρείται μείωση του αριθμού και του μεγέθους των κοκκίων του γλυκογόνου, ενδοκυττάριο οίδημα και διαταραχές του συστήματος των εγκάρσιων σωληναρίων, του σαρκοπλασματικού δικτύου και των μιτοχονδρίων. Εάν η διάρκεια της ισχαιμικής προσβολής είναι <15-20 λεπτά, αυτές οι αλλοιώσεις είναι πλήρως αναστρέψιμες. Μεγαλύτερες περίοδοι ισχαιμίας οδηγούν σε θάνατο των κυττάρων. Σε ζωικά μοντέλα 60 λεπτά στεφανιαίας απόφραξης προκαλούν το θάνατο των περισσότερων κυττάρων στην υπενδοκάρδια στιβάδα της ισχαιμικής περιοχής [38], ενώ 20-30 λεπτά σοβαρής ισχαιμίας επαρκούν για να προκαλέσουν μη αναστρέψιμες μεταβολές [39]. Η διάρρηξη του σαρκελήμματος και οι σημαντικές αλλαγές στη δομή των μιτοχονδρίων (εξοίδηση, κατάλυση των πτυχών, συσσώρευση άμορφου οργανικού υλικού) είναι δείκτες μη αναστρέψιμης βλάβης.

Οι πρώτες χαρακτηριστικές μεταβολές της νέκρωσης των μυοκυττάρων εντοπίζονται με το οπτικό μικροσκόπιο στην περιοχή του εμφράγματος περίπου 3 ώρες μετά από τη στεφανιαία απόφραξη. Η καρυόλυση, ο εκφυλισμός των κενотоπιών (μυοκυτταρόλυση) και η υπερηωσινοφιλία είναι τυπικά ιστολογικά ευρήματα συμβατά με μη αναστρέψιμη βλάβη. Οι "κυματοειδείς" (επιμήκεις και στενές) ίνες περιγράφονται συχνά σε συνδυασμό με διάμεσο οίδημα και πιθανότατα προκύπτουν λόγω των ισχυρών συστολών των βιώσιμων μυοϊνιδίων ή/και λόγω της αύξησης της υδροστατικής πίεσης που προκαλείται από το διάμεσο οίδημα [40]. Η νέκρωση έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση σημάτων κινδύνου που ενεργοποιούν μια έντονη φλεγμονώδη αντίδραση. Στην περίπτωση των εμφραγμάτων που έχουν επαναγγειωθεί, η διήθηση του μυοκαρδίου με λευκοκύτταρα εντοπίζεται στην περιοχή του

εμφράγματος ενώ σε αυτά που δεν έχουν επαναγγειωθεί εντοπίζεται στην περιφέρεια του εμφράγματος [41, 42].

Η ταχεία επαναιμάτωση επιφέρει σημαντικές ιστοπαθολογικές αλλαγές λόγω της ανάπτυξης αντιδραστικής υπεραιμίας. Εάν η κυκλοφορία αποκατασταθεί μετά την εκδήλωση μη αναστρέψιμης βλάβης η εξαγγείωση των κυττάρων του αίματος λόγω της αυξημένης διαπερατότητας των αγγείων έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη αιμορραγικών αλλαγών. Η εισροή των λευκοκυττάρων επιταχύνεται και ενισχύεται, με αποτέλεσμα την ταχύτερη απομάκρυνση των νεκρών μυοκαρδιακών κυττάρων. Ένα άλλο χαρακτηριστικό των μυοκαρδιακών κυττάρων που νεκρώνονται είναι οι «ίνες σύσπασης» (contraction bands) που αποτελούνται από 3-10 υπερ-συσπασμένα σαρκομέρια που φέρνουν τις ζώνες Z σε εγγύτητα. Επίσης οι βλάβες της κυτταρικής μεμβράνης και οι αλλαγές στη δομή των μιτοχονδρίων που προαναφέραμε γίνονται πιο εμφανείς. Αντίθετα εάν η κυκλοφορία αποκατασταθεί πριν την εκδήλωση μη αναστρέψιμης βλάβης δεν αναπτύσσονται «ίνες σύσπασης», το οίδημα των μιτοχονδρίων υποχωρεί και μαζί του υποχωρούν και οι λοιπές δομικές μεταβολές που σχετίζονται με την ισχαιμική βλάβη [43].

Το «κύμα» της ισχαιμικής νέκρωσης

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι κατά την ισχαιμία και για όσο η διάρκεια της παρατείνεται, ο θάνατος των καρδιακών μυοκυττάρων επεκτείνεται από το υπενδοκάρδιο στο επικάρδιο ως ένα "κύμα της νέκρωσης". Η έννοια ότι η ισχαιμία του μυοκαρδίου εμφανίζει μια διατοιχωματική ετερογένεια υποστηρίζεται κυρίως από τα αποτελέσματα πειραμάτων επαναιμάτωσης που διενεργήθηκαν σε σκύλους. Σε αυτά τα πειραματικά μοντέλα το υπενδοκάρδιο παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία στην ισχαιμία από ότι το επικάρδιο [44] με τα υπενδοκάρδια κύτταρα να είναι τα πρώτα που νεκρώνονται μετά από 15-20 λεπτά στεφανιαίας απόφραξης. Όσο η απόφραξη εμμένει, το «κύμα» της νέκρωσης κινείται προς τις λιγότερο ευάλωτες στιβάδες του μυοκαρδίου (μέση και έξω). Έχει προταθεί πως όταν μειώνεται η πίεση άρδευσης λόγω μιας στεφανιαίας βλάβης, η ροή του αίματος στο υπενδοκάρδιο διακυβεύεται περισσότερο από την επικαρδιακή ροή [45] λόγω της αυξημένης αντίστασης των υπενδοκαρδιακών αγγείων [46] ή λόγω της αναστροφής της ροής κατά τη διάρκεια της συστολής από το ενδοκάρδιο στο επικάρδιο [47, 48]. Πειράματα προσομοίωσης της ροής υποδεικνύουν ότι η αυξημένη ευαισθησία του υπενδοκαρδίου στην οξεία μείωση της πίεσης άρδευσης μπορεί κυρίως να οφείλεται σε μεταβολές της ενδοτικότητας των αγγείων που προκαλούνται από διατοιχωματικές διαφορές τόσο της εξωαγγειακής πίεσης, όσο και του πάχους του τοιχώματος των αγγείων [49]. Εδώ θα πρέπει να τονιστεί ότι η έννοια του "κύματος νέκρωσης" βασίζεται σε ζωικά πειραματικά μοντέλα, όπου η παράπλευρη κυκλοφορία είναι ιδιαίτερα ανεπτυγμένη, και ως εκ τούτου ο ρόλος του στην παθοφυσιολογία του εμφράγματος σε άλλα είδη θηλαστικών (και κυρίως στον άνθρωπο) έχει αμφισβητηθεί εντόνως [50]. Σε άλλα ζωικά μοντέλα (προβάτων και ποντικών) η μέση μυοκαρδιακή στιβάδα φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητη στην ισχαιμία με την έσω και έξω στιβάδα να επιδεικνύουν μια σχετική ανθεκτικότητα [50, 51]. Η έκταση και η ανατομία της παράπλευρης κυκλοφορίας αποτελούν βασικούς παράγοντες που καθορίζουν τη διατοιχωματική κατανομή της μυοκαρδιακής νέκρωσης μετά από έμφραγμα.

Μηχανισμοί κυτταρικού θανάτου

Ο θάνατος των κυττάρων του ισχαιμικού μυοκαρδίου λαμβάνει χώρα μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών. Η απόπτωση, είναι μια προγραμματισμένη διαδικασία που χαρακτηρίζεται από τη

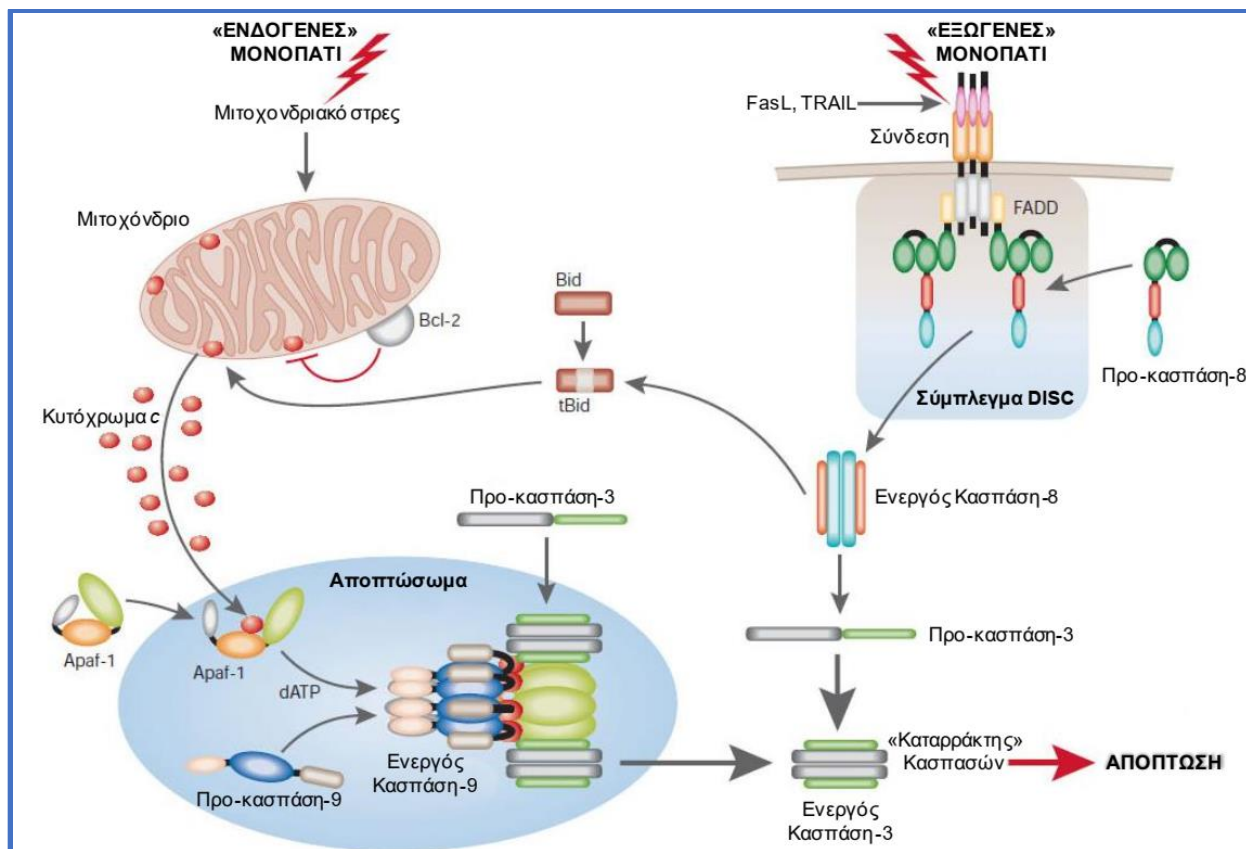
συρρίκνωση των κυττάρων, τον κατακερματισμό τους σε αποπτωτικά σωμάτια και την αφαίρεση τους από μακροφάγα ή περιστασιακά από γειτονικά κύτταρα. Η νέκρωση είναι μια ανεξέλεγκτη διαδικασία που χαρακτηρίζεται από διόγκωση των κυττάρων και διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης. Η απόπτωση οδηγεί σε απομάκρυνση των νεκρών κυττάρων χωρίς να προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση, ενώ η νέκρωση οδηγεί στην απελευθέρωση σημάτων κινδύνου που προκαλούν έντονη φλεγμονή (τα οποία και θα εξετάσουμε πιο αναλυτικά σε μετέπειτα ενότητα). Τα τελευταία χρόνια έχουν έρθει στο φως νεότερα πειραματικά δεδομένα που καταδεικνύουν ότι η νέκρωση μπορεί να είναι προγραμματισμένη και ότι σε παθολογικές καταστάσεις η απόπτωση και η νέκρωση μπορεί να αλληλοσυνδέονται ή να εμφανίζουν μια συνέχεια [52, 53].

Μελέτες της περιοχής του εμφράγματος με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου φανερώνουν διόγκωση των κυττάρων, διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης και μια έντονη φλεγμονώδη αντίδραση υποδηλώνοντας αφθονία νεκρωτικών κυττάρων. Παρόμοιες μελέτες και μελέτες με τη χρήση ιστοχημικών μεθόδων έχουν αποκαλύψει και σημαντικούς αριθμούς αποπτωτικών κυττάρων [54, 55]. Η επιμέρους συμβολή της απόπτωσης και της νέκρωσης στον θάνατο των μυοκαρδιακών κυττάρων είναι δύσκολο να προσδιοριστεί λόγω περιορισμών των πειραματικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται γεγονός που καθιστά μια αυστηρή ποσοτικοποίηση εξαιρετικά δύσκολη. Έχει προταθεί ότι κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας ο κύριος μηχανισμός κυτταρικού θανάτου είναι η νέκρωση ενώ η επαναιμάτωση μπορεί να ενεργοποιήσει ισχυρές προ-αποπτωτικές οδούς με αποτέλεσμα την έντονη αύξηση του θανάτου μέσω απόπτωσης [56, 57]. Τα περισσότερα κύτταρα στην περιοχή του εμφράγματος πεθαίνουν εντός 24 ωρών από την απόφραξη. Αργότερα η ενεργοποίηση προ-φλεγμονωδών μονοπατιών και η μηχανική καταπόνηση μπορεί να προκαλέσουν ένα δεύτερο «κύμα νέκρωσης» πολύ μικρότερης κλίμακας του αρχικού. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε πειραματικά μοντέλα η απόπτωση των μυοκυττάρων σε περιοχές απομακρυσμένες από την περιοχή του εμφράγματος σχετίζεται με την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και είναι ανάλογη στην σοβαρότητα της συστολικής και της διαστολικής δυσλειτουργίας. Η συμβολή αυτού του μηχανισμού στην εμφάνιση της δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας είναι άγνωστη [58].

Η αποπτωτική διαδικασία επάγεται μέσω δυο βιοχημικών οδών: της ενδογενούς (intrinsic) ή μιτοχονδριακής οδού και της εξωγενούς (extrinsic) οδού ή οδού των υποδοχέων νέκρωσης (death receptor pathway) (εικόνα 3). Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που προκαλεί η ισχαιμία σχετίζεται τόσο με τη νέκρωση όσο και με την απόπτωση των κυττάρων [59]. Η κρίσιμη διεργασία που ενεργοποιεί τους απόπτωτικούς μηχανισμούς των μυοκαρδιακών κυττάρων είναι η αύξηση της διαπερατότητας της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης μέσω της δράσης πρωτεϊνών που ανήκουν στην οικογένεια του ογκογονιδίου B-cell λέμφωμα 2 (Bcl-2). Δομικά και λειτουργικά οι πρωτεΐνες Bcl-2 κατηγοριοποιούνται σε τρεις ομάδες: 1) σε αυτές που αναστέλλουν την απόπτωση (αντι-αποπτωτικές) όπως είναι η Bcl-extra large (bcl-XL), και η Mcl-1 σταθεροποιώντας την εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, 2) σε αυτές που προάγουν την απόπτωση όπως είναι η Bcl-2 associated X protein (Bax) και η Bcl-2 homologous antagonist/killer (Bak) που αυξάνουν τη διαπερατότητα της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης και 3) στις BH3-only πρωτεΐνες όπως είναι οι Bad, Bnip3, Nix, Bid, και Puma που δρουν είτε ενεργοποιώντας την Bax μέσω πρόσδεσης και αλλαγής της δομής της είτε ευαισθητοποιώντας την με το να εκτοπίζουν μέλη που δρουν αντι-αποπτωτικά.

Ο ρόλος των πρωτεϊνών Bcl-2 στην ισχαιμία του μυοκαρδίου έχει μελετηθεί εκτενώς με τα αποτελέσματα των πειραματικών μοντέλων να υποδεικνύουν ότι η υπερέκφραση του γονιδίου Bcl-2 και η μειωμένη έκφραση του Bax στα μυοκαρδικά κύτταρα βελτιώνει την καρδιακή λειτουργία και μειώνει την απόπτωση μετά από OEM [60, 61]. Εξάιρεση αποτελούν τα ευρήματα ενός πειραματικού μοντέλου εμφράγματος χωρίς επαναιμάτωση για το οποίο επιστρατεύθηκαν ποντίκια με έλλειμμα του γονιδίου Bax. Είκοσι οχτώ ημέρες μετά την πρόκληση OEM το μέγεθος του εμφράγματος ήταν 50% μικρότερο στα γενετικά τροποποιημένα ζώα ενώ η τελοσυστολική και τελοδιαστολική διάμετρος ήταν σημαντικά μικρότερες [62]. Η αύξηση της διαπερατότητας της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση ποικίλων πρωτεϊνών που επάγουν την απόπτωση (όπως το κυτόχρωμα c, ο παράγοντας επαγωγής απόπτωσης (AIF) και οι Smac / DIABLO) στο κυτταρόπλασμα. Μόλις το κυτόχρωμα c απελευθερωθεί, προσδένεται στην πρωτεΐνη-προσαρμογέα (protein adaptor) πρωτεΐνη ενεργοποίησης της απόπτωσης 1 (Araf-1) και σε ATP προάγοντας τον ολιγομερισμό της. Στη συνέχεια προσδένεται στην προ-κασπάση-9 με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός πρωτεϊνικού συμπλόκου γνωστού ως αποπτώσωμα. Στο αποπτώσωμα η προ-κασπάση μεταπίπτει στην ενεργή μορφή της, την κασπάση-9, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί τις πρωτεΐνες κασπάση-3 και κασπάση-7 που καταλύουν τη διάσπαση πολλών κυτταρικών πρωτεϊνών επιφέροντας το θάνατο [63].

Σε αντίθεση με την απόπτωση, η νέκρωση ορίζεται από τη διάνοιξη του «μιτοχονδριακού πόρου μετάβασης διαπερατότητας» (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) που βρίσκεται στην έσω μιτοχονδριακή μεμβράνη (και στον οποίον θα αναφερθούμε εκτενέστερα σε μετέπειτα ενότητες). Η προγραμματισμένη νέκρωση (programmed necrosis) και ο πιο γνωστός τύπος αυτής, η νεκρόπτωση (necroptosis), προκαλείται από ερεθίσματα όμοια με αυτά που επάγουν και την προώθηση του «εξωγενούς» μονοπατιού της απόπτωσης [64]. Η σύνδεση εξωκυττάριων προσδετών θανάτου (death ligands), όπως είναι: ο προσδέτης του Fas (Fas ligand, FasL), ο παράγοντας νέκρωσης όγκου α (TNFα) και ο TNF-σχετιζόμενος προσδέτης επαγωγής απόπτωσης (TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL) στους αντίστοιχους ομοειδείς διαμεμβρανικούς υποδοχείς τους (death receptors) οδηγεί στην ενεργοποίησή των τελευταίων. Ακολουθεί η σύνδεση της προ-κασπάσης-8 ή της προ-κασπάσης-10 στο σύμπλεγμα του υποδοχέα (που στην περίπτωση των Fas και TRAIL είναι γνωστό και ως DISC) και η επακόλουθη πρόκληση της αυτο-πρωτεόλυσής της σε ενεργό κασπάση-8 (ή ενεργό κασπάση-10). Η κασπάση-8 απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα όπου αναγνωρίζει και πρωτεολύει εκλεκτικά τα υποστρώματα στόχους της, όπως την προ-κασπάση-3. Η τελευταία ενεργοποιεί διαδοχικά την προ-κασπάση-6 και 7 και διασπά πρωτεΐνες όπως είναι η PARP και ICAD. Εναλλακτικά, η ενεργός κασπάση-8 πρωτεολύει την προ-αποπτωτική πρωτεΐνη Bid, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου και την απελευθέρωση διαφόρων πρωτεϊνών που επάγουν την απόπτωση σύμφωνα με τα όσα περιγράψαμε νωρίτερα. Με βάση τα παραπάνω είναι φανερό η αλληλοεπικάλυψη των δύο μονοπατιών της απόπτωσης, του «εξωγενούς» και του «ενδογενούς», με τελικό σκοπό τον γονιδιακά ελεγχόμενο κυτταρικό θάνατο [65, 66].



Εικόνα 3. Σχηματική απεικόνιση του «ενδογενούς» και «εξωγενούς» μονοπατιού της απόπτωσης που οδηγούν στην ενεργοποίηση του ρεπερτορίου των κασπάσων. Μεταφρασμένη εικόνα από [67] (με την άδεια των συγγραφέων).

Η πυρόπτωση (pyroptosis) είναι ένα προσφάτως αναγνωρισμένο μονοπάτι προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου που εξαρτάται από την κασπάση-1. Ενεργοποιείται τόσο από μια σειρά μικροβιακών λοιμώξεων όσο και από ερεθίσματα ανεξάρτητα από λοιμώδεις παράγοντες όπως αυτά που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια του OEM [68]. Η κασπάση-1 αναγνωρίστηκε αρχικά ως πρωτεάση που δρα στις αδρανείς πρόδρομες μορφές της ιντερλευκίνης 1 β (IL-1 β) και της ιντερλευκίνης 18 (IL-18) και τις μετατρέπει σε ενεργείς κυτταροκίνες. Ωστόσο, η ενεργοποίηση της κασπάσης 1 μπορεί να οδηγήσει όχι μόνο στην παραγωγή ενεργοποιημένων φλεγμονωδών κυτταροκινών αλλά και σε κυτταρικό θάνατο που χαρακτηρίζεται από ρήξη της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και απελευθέρωση ενδοκυτταρικού περιεχομένου προκαλώντας φλεγμονή. Το καθοριστικό χαρακτηριστικό της πυρόπτωσης και αυτό που τη διαχωρίζει από άλλες οδούς προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου είναι η εξάρτηση του μονοπατιού από την κασπάση-1. Οι αποπτωτικές κασπάσες, συμπεριλαμβανομένης της κασπάσης-3, 6 και 8, και τα υποστρώματά τους δεν εμπλέκονται στην πυρόπτωση. Το ίδιο ισχύει και για την αυξημένη διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου και την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c. Στην πυρόπτωση η ρήξη της μεμβράνης είναι αποτέλεσμα της δημιουργίας (εξαρτώμενων από την κασπάση-1) πόρων που άρουν τις κλίσεις συγκέντρωσης των ιόντων και προάγουν

την εισροή ύδατος. Κοινό στοιχείο μεταξύ της απόπτωσης και της πυρόπτωσης είναι η βλάβη που προκαλείται στο γενετικό υλικό των κυττάρων μέσω όμως διαφορετικών οδών [69].

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να τονίσουμε ότι η ενεργοποίηση ορισμένων κασπασών συμμετέχει και σε μηχανισμούς που δεν σχετίζονται με την απόπτωση, όπως είναι η υπερτροφία των μυοκαρδιακών κυττάρων [70].

Ο ρόλος της αυτοφαγίας στον κυτταρικό θάνατο

Ο όρος "αυτοφαγία" περιγράφει τη διαδικασία κατά την οποία γερασμένα ή/και αλλοιωμένα πρωτεϊνικά μόρια και κυτταρικά οργανίδια στο εσωτερικό του κυττάρου προωθούνται στα λυσοσώματα όπου αποδομούνται για να αντικατασταθούν από νέα [71]. Εκτός από το ρόλο της ως μηχανισμού απόρριψης δυσλειτουργικών οργανιδίων, η αυτοφαγία χρησιμεύει επίσης και ως προσαρμοστικός μηχανισμός που παρέχει θρεπτικά συστατικά και ενέργεια κατά την έκθεση στο στρες [72]. Σε κανονικές συνθήκες, η αυτοφαγία παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της δομής και της λειτουργίας του μυοκαρδίου. Η ατελής έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την αυτοφαγία, όπως η πρωτεΐνη αυτοφαγίας 5, προκαλεί καρδιομυοπάθεια που σχετίζεται με την ηλικία και υπογραμμίζει το σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει η αυτοφαγία στη διατήρηση της ομοιόστασης του κυττάρου [73]. Πρόσφατες έρευνες έχουν αναδείξει τη σημαντική συμβολή της αυτοφαγίας στη ρύθμιση της επιβίωσης καρδιακών μυοκυττάρων μετά από OEM με τα στοιχεία να υποδηλώνουν τόσο προστατευτικές όσο και βλαβερές συνέπειες [74, 75]. Στη φάση της ισχαιμίας, τα χαμηλά επίπεδα ATP επάγουν την ενεργοποιούμενη από μονοφοσφορική αδενοσίνη κινάση (Adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) η οποία μέσω της οδού της mTOR επάγει την αυτοφαγία. Η πλειοψηφία των πειραματικών δεδομένων καταδεικνύει ότι κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας η αυτοφαγία προστατεύει τα κύτταρα από το θάνατο [188]. Αυτό συμβαδίζει με τον προσαρμοστικό ρόλο που επέχει η αυτοφαγία σε συνθήκες περιορισμένης παροχής οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών. Αντίθετα, η επαγωγή της αυτοφαγίας κατά τη διάρκεια της επαναιμάτωσης περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του γονιδίου beclin-1 και είναι ανεξάρτητη από την AMPK. Σε αυτό το στάδιο ο ρόλος της αυτοφαγίας στην επιβίωση και τη λειτουργία των μυοκαρδιακών κυττάρων είναι αμφιλεγόμενος καθώς έχουν αναφερθεί τόσο προστατευτικές όσο και επιβλαβείς επιδράσεις [75].

Οι ινοβλάστες και τα υπόλοιπα κύτταρα του ενδομύϊου

Εκτός από τα μυϊκά κύτταρα η καρδιά αποτελείται και από ένα μεγάλο αριθμό μη-μυϊκών κυττάρων τα οποία απαντώνται στο ενδομύϊο. Από αυτά οι ινοβλάστες αποτελούν την πλειοψηφία των κυττάρων του διάμεσου χώρου [76] και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην αποκατάσταση της καρδιακής λειτουργίας μετά από το έμφραγμα. Επίσης σημαντικός είναι και ο αριθμός των ενδοθηλιακών κυττάρων, των περικυττάρων και των λείων μυϊκών κυττάρων. Σε μικρότερους αριθμούς απαντώνται τα μακροφάγα κύτταρα, τα ιστιοκύτταρα και τα δενδριτικά κύτταρα [77-79]. Λόγω της έλλειψης των υπαρχόντων πειραματικών δεδομένων η κατάληξη αυτών των κυτταρικών πληθυσμών μετά το έμφραγμα παραμένει εν πολλοίς άγνωστη. Η ιδέα ότι αυτοί οι κυτταρικοί πληθυσμοί παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανοχή στην υποξική βλάβη αφήνει ανοικτό το ενδεχόμενο της ενεργοποίησης των ινοβλαστών, των ενδοθηλιακών κυττάρων, των μακροφάγων και των ανοσοκυττάρων από σήματα κινδύνου που απελευθερώνονται από τα μυϊκά κύτταρα που πεθαίνουν. Η επιστράτευση και ο πολλαπλασιασμός μεγάλου αριθμού φλεγμονωδών κυττάρων περιπλέκει περαιτέρω τη μελέτη της τύχης του ενδογενούς πληθυσμού.

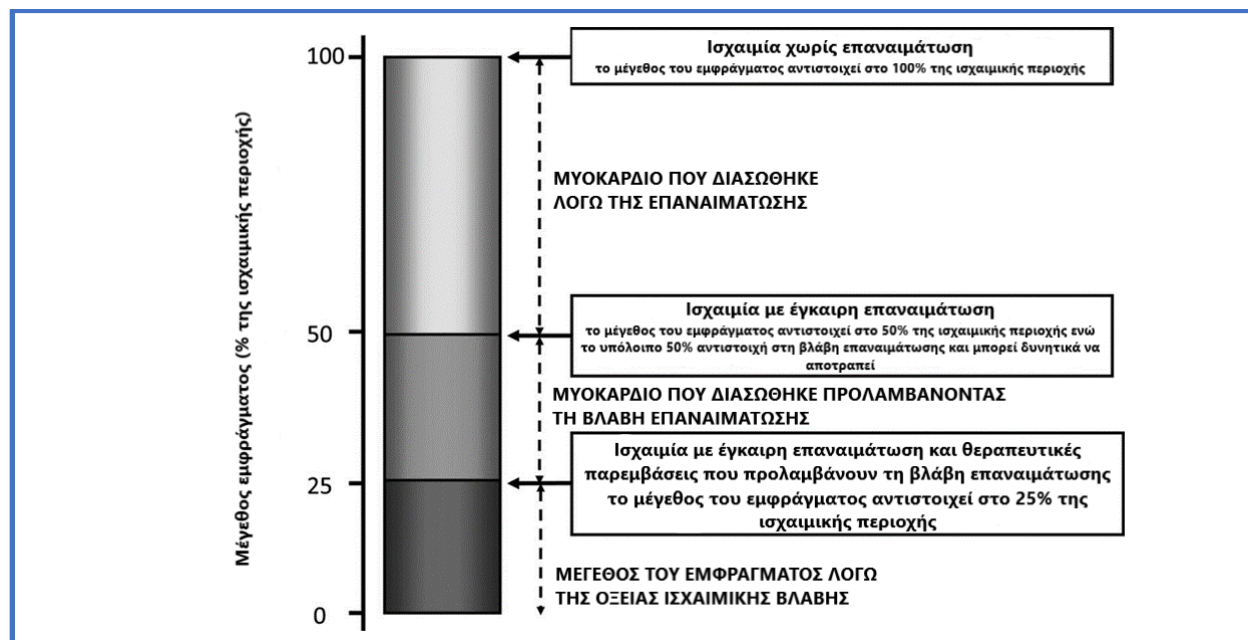
Πρόσφατα οι ερευνητές σε ένα πειραματικό μοντέλο ισχαιμίας χωρίς επαναιμάτωση έδειξαν ότι ένα μεγάλος αριθμός των μακροφάγων πεθαίνει μετά από 12 ώρες μόνιμης στεφανιαίας απόφραξης [80].

ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ ΚΑΙ ΒΛΑΒΗ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ

Η έκταση της δυσλειτουργίας, της βλάβης ή/και του θανάτου των κυττάρων επηρεάζεται τόσο από τη σοβαρότητα όσο και από τη διάρκεια της ισχαιμίας [81, 82]. Η διάνοιξη του πάσχοντος αγγείου αποτελεί τον κύριο τρόπο περιορισμού του μεγέθους του εμφράγματος με την προϋπόθεση ότι αυτό είναι εφικτό να επιτευχθεί νωρίς μετά την έναρξη της ισχαιμίας πριν επέλθει η νέκρωση των κυττάρων [83-86]. Παράλληλα το μέγεθος του εμφράγματος, είναι ένας σημαντικός προγνωστικός δείκτης, όχι μόνο της θνησιμότητας, αλλά και της συνολικής λειτουργικότητας του μυοκαρδίου, καθώς και της πιθανότητας εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας [87-89]. Υπό αυτό το πρίσμα, η αποκατάσταση της ροής του αίματος (με διάφορους τρόπους π.χ. θρομβόλυση, αγγειοπλαστική, αορτοστεφανιαία παράκαμψη ή λύση του σπασμού με την χορήγηση κατάλληλης φαρμακευτικής αγωγής) το συντομότερο δυνατόν παραμένει ο βασικός πυλώνας όλων των σημερινών θεραπευτικών προσεγγίσεων σε περιπτώσεις ισχαιμίας. Παρά όμως το γεγονός ότι η άμεση επαναγγείωση αποκαθιστά την παροχή οξυγόνου και των υποστρωμάτων που απαιτούνται για την επανέναρξη της αερόβιας παραγωγής ATP και ομαλοποιεί το εξωκυτταρικό pH απομακρύνοντας τα συσσωρευμένα κατιόντα υδρογόνου (H^+), η ίδια η επαναιμάτωση φαίνεται να έχει και επιζήμιες συνέπειες. Βιοχημικές διεργασίες που συνέβησαν κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας αλλά που δεν συνετέλεσαν στην ισχαιμική βλάβη *per se*. πυροδοτούν, μετά την αποκατάσταση της ροής του αίματος, μια αλληλουχία γεγονότων που οξύνει την ιστική βλάβη.

Ο όρος βλάβη επαναιμάτωσης χρησιμοποιείται σήμερα για να περιγράψει μια σειρά παθοφυσιολογικών διεργασιών που σχετίζονται με την αποκατάσταση της ροής του αίματος και που δεν είχαν λάβει χώρα κατά τη διάρκεια της ισχαιμικής περιόδου που προηγήθηκε. Το αποτέλεσμα τους μπορεί να τροποποιηθεί με παρεμβάσεις που πραγματοποιούνται μόνο κατά τη στιγμή της επαναιμάτωσης. Η έννοια εισήχθη για πρώτη φορά το 1960 από τους Jennings et al. κατά τη διάρκεια πειραμάτων ισχαιμίας και επαναιμάτωσης σε σκύλους που σκοπό είχαν την περιγραφή των ιστολογικών χαρακτηριστικών του ισχαιμικού μυοκαρδίου [38]. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η επαναιμάτωση επιτάχυνε την εμφάνιση της κυτταρικής νέκρωσης (οίδημα, σύσπαση των μυοϊνιδίων, διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης και συσσώρευση άμορφου οργανικού υλικού εντός των μιτοχονδρίων). Η πρόκληση μη αναστρέψιμης βλάβης (νέκρωσης) λόγω της αποκατάστασης της αιματικής ροής υπήρξε μια έννοια που έγινε πολύ δύσκολα αποδεκτή από την επιστημονική κοινότητα ενώ η ύπαρξή της στον άνθρωπο αποτέλεσε αντικείμενο έντονης διαμάχης για δεκαετίες. Το 1986 οι Murry et. al. έδειξαν ότι η έκθεση της καρδιάς σε σύντομα διαστήματα ισχαιμίας και επαναιμάτωσης (ισχαιμική προετοιμασία, *ischemic preconditioning*) πριν από μια παρατεταμένη μείωση της ροής του αίματος στη στεφανιαία κυκλοφορία είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του μεγέθους του εμφράγματος [90]. Αυτή η σημαντική διαπίστωση δημιούργησε μια έκρηξη ενδιαφέροντος για την ανακάλυψη στρατηγικών που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την έκβαση των θεραπευτικών παρεμβάσεων μετά από OEM ανοίγοντας ουσιαστικά το δρόμο για την αποδοχή της έννοιας. Αν και κλινικά οι βλάβες που προκαλούνται κατά την επαναιμάτωση και κυρίως αυτό που αποκαλείται «θανατηφόρος βλάβη επαναιμάτωσης» ή *lethal reperfusion injury* είναι δύσκολο, αν όχι αδύνατο, να διακριθεί με σαφήνεια από την κυτταρική νέκρωση που προκαλεί η ισχαιμία *per se*, η πληθώρα των πειραματικών δεδομένων που συνελέγησαν, στα χρόνια

που ακολούθησαν, έδειξε ότι παρεμβάσεις κατά τη φάση της επαναιμάτωσης μπορούν πράγματι να μειώσουν το μέγεθος του εμφράγματος έως και 50% (εικόνα 4) [91]. Πέρα όμως της μείωσης του μεγέθους του εμφράγματος η κατανόηση των σχετικών μηχανισμών θα μπορούσε να ανοίξει και το δρόμο για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών μεθόδων προκειμένου να επεκταθεί ο χρόνος που ένας ιστός θα μπορούσε να υποβληθεί σε ισχαιμία πριν εμφανιστεί μη αναστρέψιμη βλάβη, εύρημα που θα είχε σημαντικές επιπτώσεις στη μεταμόσχευση οργάνων, ή σε περιπτώσεις χειρουργείων αορτοστεφανιαίας παράκαμψης (CABG).



Εικόνα 4. Το σχήμα απεικονίζει το πλεονέκτημα της έγκαιρης επαναιμάτωσης (επαναγγείωσης) και την προσθήκη μιας θεραπευτικής παρέμβασης για την πρόληψη της βλάβης επαναιμάτωσης. Σχεδόν το 50% του τελικού μεγέθους εμφράγματος του μυοκαρδίου οφείλεται στη βλάβη επαναιμάτωσης και μπορεί συνεπώς να μειωθεί, μεγιστοποιώντας έτσι τα οφέλη της επαναγγείωσης. Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [91] (με την άδεια των συγγραφέων).

Παθοφυσιολογία της βλάβης επαναιμάτωσης

Η παθοφυσιολογία του φαινομένου δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί ενώ παραμένει ακόμα και σήμερα αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας. Οι κύριοι μηχανισμοί που αποτελούν τη βάση της βλάβης επαναιμάτωσης είναι πολύπλοκοι και περιλαμβάνουν (1) το οξειδωτικό στρες και τη παραγωγή ελευθέρων ριζών η οποία τροφοδοτείται από την επανεισαγωγή μορίων οξυγόνου στο μέχρι πρότινος ισχαιμικό μυοκάρδιο, (2) την διαταραγμένη ομοιόσταση του ενδοκυττάριου ασβεστίου (Ca^{++}), (3) τη διάνοιξη του MPTP, και (4) την έντονη φλεγμονώδη αντίδραση.

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

Το οξειδωτικό στρες (oxidative stress) προκαλείται σε περιπτώσεις διαταραχής της ισορροπίας μεταξύ των προοξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών μηχανισμών σε βάρος του δευτέρου σκέλους [92]. Το 1973 πρώτοι οι Hearse et al. παρατήρησαν μια μαζική απελευθέρωση πρωτεϊνών και ενζύμων από το μυοκάρδιο αμέσως μετά την επαναιμάτωση [93]. Μερικά χρόνια αργότερα οι Guarnieri et al. έδειξαν ότι οι ρίζες (τα ανιόντα) του σουπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$) που παρήχθησαν κατά την επαναιμάτωση υπερέβησαν την ικανότητα των ενδογενών κυτταρικών αντιοξειδωτικών συστημάτων [94]. Τα αποτελέσματα αυτών και άλλων συναφών πειραμάτων οδήγησαν στην ιδέα ότι μεταβολικά αναγωγικά ισοδύναμα (reducing equivalents) που συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας, χρησιμεύουν ως υποστρώματα για τη δημιουργία ελευθέρων ριζών κατά την επαναιμάτωση [95]. Παράλληλα ex vivo πειράματα που μελετούσαν τη δράση ενός εκ των πιο σημαντικών ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών που διαθέτει το κύτταρο, της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου (SOD), στοχοποιούσαν τις ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο ως κύριους μεσολαβητές της βλάβης επαναιμάτωσης [96]. Στα τέλη της δεκαετίας του 80 η χρήση ειδικών οργάνων (ηλεκτρονικοί παραμαγνητικοί συντονιστές, EPR ή ESR), με τα οποία έγινε δυνατή η άμεση ανίχνευσή τους είχε καταλυτική συμβολή στην αναγνώριση του ρόλου τους [97, 98]. Παρά το ότι τα αρχικά πειραματικά μοντέλα δεν μπορούσαν να προσδιορίσουν σαφώς τις ρίζες που παράγονταν, έδειξαν ξεκάθαρα ότι τα επίπεδα δραστικών ειδών οξυγόνου, αζώτου και άνθρακα αυξάνονταν οριακά κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας, έμεναν σταθερά όταν η επαναιμάτωση γινόταν με μέσα με χαμηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο και κορυφώνονταν με τη χρήση μέσων πλούσιων σε οξυγόνο [99]. Μεταγενέστερες μελέτες, στις οποίες εξωγενώς χορηγήθηκαν ROS σε επίπεδα παρόμοια με εκείνα που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της επαναιμάτωσης ανέφεραν αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυτταρικού ασβεστίου («υπερφόρτωση ασβεστίου», calcium overload), λειτουργική κατάρριψη και μεταβολικές αλλαγές κατοχυρώνοντας ουσιαστικά τα ROS ως κεντρικούς μεσολαβητές αυτής της βλάβης [100].

Οι πηγές σουπεροξειδίου κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση

Το ίδιο το οξυγόνο που αναπνέουμε αποτελεί μία ελεύθερη ρίζα, αφού περιέχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια που βρίσκονται σε δύο διαφορετικά τροχιακά. Η μορφή όμως αυτή του οξυγόνου, που λέγεται οξυγόνο τριπλής κατάστασης (triplet state), δεν είναι ιδιαίτερα δραστική. Μπορεί να αναχθεί πλήρως με την αποδοχή τεσσάρων ηλεκτρονίων και πρωτονίων για να δώσει τελικά δύο μόρια νερού. Η μερική αναγωγή του έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή δραστικών ενδιάμεσων ειδών (intermediate species). Η προσθήκη ενός μόνο ηλεκτρονίου οδηγεί στην παραγωγή $O_2^{\bullet-}$, ενώ η προσθήκη ενός επιπλέον ηλεκτρονίου (σε ένα υδατικό διάλυμα) παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), το οποίο μπορεί περαιτέρω να αναχθεί στην εξαιρετικά δραστική ρίζα του υδροξυλίου ($\bullet OH$). Παρά το ότι όλα αυτά τα είδη οξυγόνου παράγονται κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης, πειράματα με τη SOD που καταλύει την αντίδραση: $O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$, έδειξαν ότι ρυθμιστικό ρόλο παίζει η δημιουργία $O_2^{\bullet-}$ [98, 101].

Ελεύθερες ρίζες $O_2^{\bullet-}$ μπορεί να παραχθούν (σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις) ως παραπροϊόν κατά τη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων. Κατά τη διαδικασία αυτή ορισμένα ηλεκτρόνια ξεφεύγουν από τα μόρια που μεταφέρουν τα ηλεκτρόνια στην αναπνευστική αλυσίδα και περνούν στο οξυγόνο ανάγοντας το σε $O_2^{\bullet-}$. Στην επαναιμάτωση όμως η δραματική αύξηση της

παραγωγής τους οφείλεται στη δραστηριότητα του κυτοχρώματος p450, στη βλάβη (της αναπνευστικής αλυσίδας) των μιτοχονδρίων, στη μετατροπή της κυτταρικής αφυδρογονάσης της ξανθίνης σε οξειδάση, στη δράση του ενζύμου NADPH οξειδάση και στη δράση της επαγόμενη ισομορφής του ενζύμου «συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου» (NOS, NOSynthase) [102].

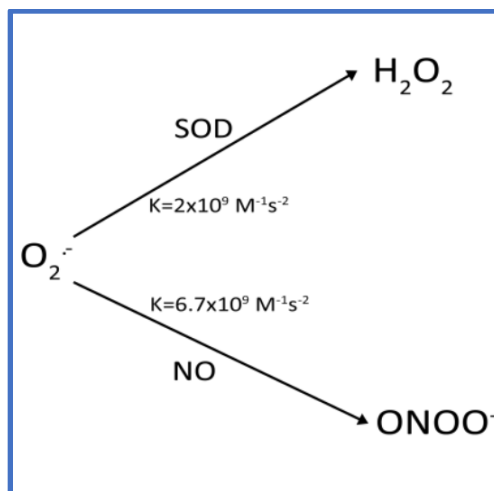
Η παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση

Μια από τις πρώτες βιολογικές δράσεις του μονοξειδίου του αζώτου ($\text{NO}^\bullet$) που ανακαλύφθηκε είχε σχέση με τη χάλαση των αγγείων. Στη δεκαετία του 80 οι επιστήμονες διαπίστωσαν ότι αυτό που μέχρι τότε ονόμαζαν προερχόμενος από το ενδοθήλιο παράγοντας χάλασης των αγγείων (EDRF, endothelial derived relaxing factor) ήταν το $\text{NO}^\bullet$ [103, 104]. Η δράση του αυτή σχετίζεται με την ικανότητά του να συνδέεται με τον σίδηρο της αίμης στο ένζυμο “κυκλάση του GMP”, το οποίο βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των λείων μυϊκών κυττάρων και καταλύει τη δημιουργία κυκλικού-GMP (cGMP) από GTP. Το $\text{NO}^\bullet$ είναι μια σχετικά σταθερή ελεύθερη ρίζα με χρόνο ημιζωής λίγων δευτερολέπτων η οποία είναι διαλυτή τόσο σε υδατικά όσο και σε οργανικά διαλύματα και η οποία μπορεί εύκολα να διαχέεται διαμέσου των βιολογικών μεμβρανών, μια ιδιότητα αποφασιστικής σημασίας για τη δράση του. Στο πλαίσιο της βλάβης επαναιμάτωσης ιδιαίτερη σημασία αποκτά η αντίδρασή του με το $\text{O}_2^{\bullet-}$ [105]. Η αντίδραση αυτή είναι τόσο γρήγορη, ώστε να καθορίζεται από την ταχύτητα διάχυσης του $\text{NO}^\bullet$ (diffusion controlled). Η σταθερά αυτής της αντίδρασης είναι περισσότερο από τρεις φορές μεγαλύτερη από την αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο SOD. Η τύχη του $\text{O}_2^{\bullet-}$ εξαρτάται από τις σταθερές των αντιδράσεων πολλαπλασιαζόμενες επί τη συγκέντρωση της ένωσης με την οποία αντιδρά. Συνεπάγεται ότι μικρές αυξήσεις του $\text{O}_2^{\bullet-}$ ή $\text{NO}^\bullet$ μπορούν να αυξήσουν γρήγορα τα επίπεδα του σχηματιζόμενου περοξυνιτρικού (ONOO^-), του μορίου που θεωρείται ως κυρίως υπεύθυνος για την έκφραση της τοξικότητας του $\text{NO}^\bullet$. Η συγκέντρωση του ενζύμου SOD στα περισσότερα είδη κυττάρων είναι της τάξεως των μM και θεωρείται γενικά ο κυριότερος δρόμος απομάκρυνσης του $\text{O}_2^{\bullet-}$. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, οι συγκεντρώσεις του $\text{NO}^\bullet$, είναι της τάξεως των nM και δεν φαίνεται να επηρεάζουν την αντίδραση του $\text{O}_2^{\bullet-}$ με την SOD. Όταν, όμως, η συγκέντρωση του $\text{NO}^\bullet$ ανέλθει σε επίπεδα μM , τότε μπορεί να ανταγωνιστεί αποτελεσματικά την SOD για τον σχηματισμό ONOO^- (εικόνα 5). Η αντίδραση του $\text{NO}^\bullet$ με το $\text{O}_2^{\bullet-}$ μπορεί να εξεταστεί και από μια άλλη οπτική γωνία: Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις όπου τα επίπεδα του $\text{O}_2^{\bullet-}$ είναι αυξημένα, το $\text{NO}^\bullet$ δεν μπορεί να επιτελέσει τη φυσιολογική του λειτουργία (π.χ., χάλαση των αγγείων) λόγω της αντίδρασής του με το $\text{O}_2^{\bullet-}$. Το $\text{NO}^\bullet$ κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση παράγεται είτε μέσω της δράσης των ενζύμων NOS (τα οποία έχουν τρεις ισομορφές) είτε μέσω της αναγωγής των νιτρικών [102].

Η παραγωγή ριζών υδροξυλίου κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση

Η συμμετοχή των ριζών υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$) στο οξειδωτικό στρες του κυττάρου κατά την επαναιμάτωση εικαζόταν πολύ πριν την ανακάλυψη τους στον καρδιακό ιστό. Με δεδομένο ότι το $\text{O}_2^{\bullet-}$, σε σχέση τουλάχιστον με τις υπόλοιπες ρίζες, επιδεικνύει μια μειωμένη δραστικότητα απέναντι στα περισσότερα βιολογικά μόρια, και με βάση το ότι οι κυτταρικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί το μετατρέπουν σε O_2 και H_2O με ρυθμούς που καθορίζονται από την ταχύτητα διάχυσης, οι ερευνητές πιθανολόγησαν την ύπαρξη μιας άλλης αντίδρασης ικανής να ανταγωνιστεί με τη SOD, η οποία ευνοείται κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης και η οποία αποδίδει ένα προϊόν με μεγαλύτερη δραστικότητα από τα

αντιδραστήρια. Η μετέπειτα ανακάλυψη τους στο ισχαιμικό μυοκάρδιο επιβεβαίωσε τις αρχικές υποψίες τους [106, 107].



Εικόνα 5. Αξιολόγηση της πιθανότητας αντίδρασης του $O_2^{\bullet-}$ μετά τον σχηματισμό του, ανάλογα με τα επίπεδα της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου (SOD) ή του μονοξειδίου του αζώτου (NO). Όπου κ η σταθερή της αντίδρασης.

Επιπλέον, η διαπίστωση ότι τα επίπεδα τους μειώνονταν με τη δράση της SOD επικύρωσε την άποψη ότι το $O_2^{\bullet-}$, μέσω κάποιας αντίδρασης μέσα στο κύτταρο, συμμετείχε στην παραγωγή τους. Μέχρι στιγμής δύο πιθανές οδοί παραγωγής $\bullet OH$ έχουν περιγραφεί: μια καταλυόμενη από το σίδηρο αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) γνωστή και ως αντίδραση Haber–Weiss (η οποία είναι και η λιγότερο πιθανή λόγω των κινητικών παραμέτρων της) και ο μεταβολισμός του $ONOO^-$ [102].

Η βλάβη που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση

Οι ελεύθερες ρίζες είναι γενικά ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες, αλλά ο βαθμός στον οποίο αντιδρούν με τα μόρια που συναντούν είναι διαφορετικός για κάθε ρίζα. Για παράδειγμα, ο βραχύς χρόνος ημιζωής και η αντιδραστικότητα της $\bullet OH$ υπαγορεύει ότι αφαιρεί τα άτομα υδρογόνου από μια ευρεία σειρά βιολογικών μορίων, υπό την προϋπόθεση ότι βρίσκονται κοντά στην ρίζα τη στιγμή της δημιουργίας της. Εναλλακτικά, οι λιγότερο δραστικές ρίζες ($NO\bullet$, $O_2^{\bullet-}$) μπορούν να διαχυθούν σε πιο απομακρυσμένες περιοχές πριν αρχίσουν να αντιδρούν με πιο συγκεκριμένους στόχους.

Οι περισσότερες αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών λαμβάνουν χώρα μέσω ενός αλυσιδωτού σχήματος (chain scheme). Τα αλυσιδωτά σχήματα ριζών περιλαμβάνουν τρία διαφορετικά είδη σταδίων. Το πρώτο στάδιο είναι η έναρξη (initiation) που δημιουργεί την αρχική ρίζα. Στα πλαίσια της βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, οι αντιδράσεις έναρξης είναι εκείνες που παράγουν $O_2^{\bullet-}$, $NO\bullet$, ανθρακική ρίζα ($CO_3^{\bullet-}$) (παράγεται μετά από μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων του $ONOO^-$) και $\bullet OH$. Το δεύτερο στάδιο είναι μια σειρά αντιδράσεων διάδοσης (propagation) που συνήθως περιλαμβάνει την απόσπαση ατόμων υδρογόνου και την προσθήκη μοριακού οξυγόνου. Η διάδοση οφείλεται στο ότι μετά την αντίδραση μιας ελεύθερης ρίζας με ένα μόριο μη-ελεύθερη ρίζα, τουλάχιστον ένα από τα προϊόντα της αντίδρασης θα

είναι μία νέα ελεύθερη ρίζα, η οποία με τη σειρά της αντιδρά με άλλα μόρια ή ενώσεις σχηματίζοντας εκ νέου άλλες ελεύθερες ρίζες. Το τρίτο και τελευταίο στάδιο είναι ο τερματισμός που συμβαίνει όταν δύο ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους με αποτέλεσμα την παραγωγή μιας μη ρίζας ή όταν μια ελεύθερη ρίζα αντιδράσει με ένα αντιοξειδωτικό μόριο, το οποίο μπορεί να προκαλέσει αναγωγή της ελεύθερης ρίζας σε ένα σχετικά αδρανές μόριο που δεν περιέχει ελεύθερα ηλεκτρόνια. Τα προϊόντα των ριζικών αντιδράσεων είναι μη-ενζυματικά τροποποιημένα οργανικά βιομόρια που συνήθως διαταράσσουν τη λειτουργία των μεγαλύτερων κυτταρικών δομών. Έτσι, τα προϊόντα υπεροξειδωσής των λιπιδίων μπορούν να διακυβεύσουν την ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών ή των πρωτεϊνών που είναι ενσωματωμένες εκεί, η οξείδωση των αμινοξέων μπορεί να επηρεάσει τη φυσιολογική λειτουργία των πρωτεϊνών και η οξείδωση του DNA μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις.

Υπεροξειδωση των λιπιδίων

Πρωτεύοντα ρόλο στην υπεροξειδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης παίζουν οι χημικές ομάδες των αλκενίων. Απόσπαση ενός ατόμου υδρογόνου από μια μεθυλομάδα έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας νέας (εξαιρετικά ασταθούς) ελεύθερης ρίζας στο αντίστοιχο άτομο άνθρακα [108]. Μετά από μια σειρά αντιδράσεων διάδοσης ο καταρράκτης διακόπτεται όταν δύο ριζικά είδη συνδυάζονται σε μια αντίδραση τερματισμού. Αξίζει να αναφερθεί ότι το $\text{NO}\cdot$ δεν είναι αρκετά δραστικό για να ξεκινήσει την υπεροξειδωση των λιπιδίων, αλλά αντίθετα μπορεί να δράσει τερματίζοντας την αλυσίδα [109].

Τα υπεροξειδία των λιπαρών οξέων που συσσωρεύονται αντιδρούν μεταξύ τους και διασπώνται με πολύπλοκους μηχανισμούς, σχηματίζοντας μια πλειάδα προϊόντων τα οποία περιλαμβάνουν ισοπροσάνες, διάφορες αλδεΐδες (όπως η μαλονδιαλδεΐδη, malondialdehyde MDA) και αέριους υδρογονάνθρακες. Από αυτά η MDA και οι ισοπροσάνες έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνονται σε περιπτώσεις ισχαιμίας και επαναιμάτωσης του μυοκαρδίου [110, 111]. Σε ζωικά πειραματικά μοντέλα ένα ισομερές ισοπροσάνης, το 15-F₂t-isoprostane, προκαλεί δοσοεξαρτώμενη αγγειοσύσπαση των στεφανιαίων αγγείων [112] και επιδεινώνει την καρδιακή δυσλειτουργία μετά από ισχαιμία και επαναιμάτωση [113]. Σε κλινικές μελέτες η ίδια ουσία έχει βρεθεί ότι αυξάνεται μετά από παρεμβάσεις αγγειοπλαστικής ή αορτοστεφανιαίας παράκαμψης [114, 115] ενώ μετεγχειρητικά έχει σχετιστεί με δυσλειτουργία του μυοκαρδίου [116, 117].

Πέρα όμως της υπεροξειδωσης των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης ιδιαίτερη σημασία παρουσιάζει και η υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών των μιτοχονδρίων. Το σύμπλοκο III της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδρια είναι η κύρια πηγή παραγωγής ROS κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση. Το λιπίδιο καρδιολιπίνη αποτελεί το 20% της έσω μεμβράνης των μιτοχονδρίων και παίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της δομής και της λειτουργίας τους [118]. Η μεταφορά ηλεκτρονίων από την οξειδάση του κυτοχρώματος c εξαρτάται την αλληλεπίδραση της με την καρδιολιπίνη. Κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας, λόγω της υπεροξειδωσης, η περιεκτικότητα της έσω μεμβράνης σε καρδιολιπίνη μειώνεται διαταράσσοντας τη λειτουργία του κυτοχρώματος c και άρα την παραγωγή ενέργειας. Επιπλέον η απελευθέρωση μορίων του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα επάγει την απόπτωση [119].

Οξείδωση των πρωτεϊνών

Οι κυτταρικές πρωτεΐνες μπορούν και αυτές με τη σειρά τους να τροποποιηθούν από τη δράση των ROS οδηγώντας κατά περίπτωση είτε σε νέκρωση (ή απόπτωση) των κυττάρων είτε σε συστολική και διαστολική δυσλειτουργία. Η «ευαισθησία» των πρωτεϊνών έγκειται στο ότι η $\bullet\text{OH}$ αποσπά εύκολα άτομα υδρογόνου από τις λειτουργικές ομάδες (functional groups) των αμινοξέων και από το άτομο άνθρακα (α -άνθρακας) που τις συνδέει, [120]. Έτσι οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να διασπάσουν πεπτιδικούς δεσμούς, να συνδέσουν λειτουργικές ομάδες και να μεταβάλουν την υδροφοβικότητα των αμινοξέων στην επιφάνεια των πρωτεϊνών. Το τελικό προϊόν εξαρτάται από την λειτουργική ομάδα των αμινοξέων που συμμετείχαν στην αντίδραση, τον τύπο της ρίζας με την οποία αυτά αντέδρασαν και τέλος από την τυχαία φύση αυτών των αντιδράσεων. Ορισμένες από τις μεταβολές είναι αντιστρεπτές ενώ άλλες μπορούν να υπερκεράσουν τη δυνατότητα των αντιοξειδωτικών συστημάτων των κυττάρων [102].

Στην περίπτωση της βλάβης ισχαιμίας και επαναιμάτωσης οι πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι οι μεταβολές των πρωτεϊνών στην μεν ισχαιμία είναι κατά κύριο λόγο ανεξάρτητες της δράσης των ROS ενώ στη δε επαναιμάτωση οφείλονται στη δράση των ROS [121]. Αυτά τα ευρήματα είναι συμβατά με την ιδέα ότι η περιορισμένη παραγωγή ROS κατά την ισχαιμία εξαντλεί τις ενδογενείς αντιοξειδωτικές άμυνες καθιστώντας το κύτταρο ευάλωτο στη δράση τους κατά την επαναιμάτωση. Στο πλαίσιο αυτό ενδιαφέρον αποκτούν οι μεταβολές σε πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην ομοιόσταση του ασβεστίου και στις οποίες θα αναφερθούμε εκτεταμένα σε παρακάτω ενότητα και σε πρωτεΐνες του σαρκομεριδίου [122]. Οι δομικές τροποποιήσεις του σαρκομεριδίου που προκαλούνται από τα ROS περιλαμβάνουν τις άμεσες οξειδωτικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών των μυοϊνιδίων, τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών των μυοϊνιδίων μέσω κινασών που έχουν ενεργοποιηθεί από τα ROS και τη διάσπαση των πρωτεϊνών των μυοϊνιδίων μέσω πρωτεασών που έχουν ενεργοποιηθεί από τα ROS. Το συνολικό αποτέλεσμα όλων αυτών των μεταβολών στη λειτουργία της καρδιάς ως αντλία είναι δύσκολο να προβλεφθεί και πιθανόν να διαφέρει αναλόγως των συνθηκών.

Επίδραση στο γενετικό υλικό

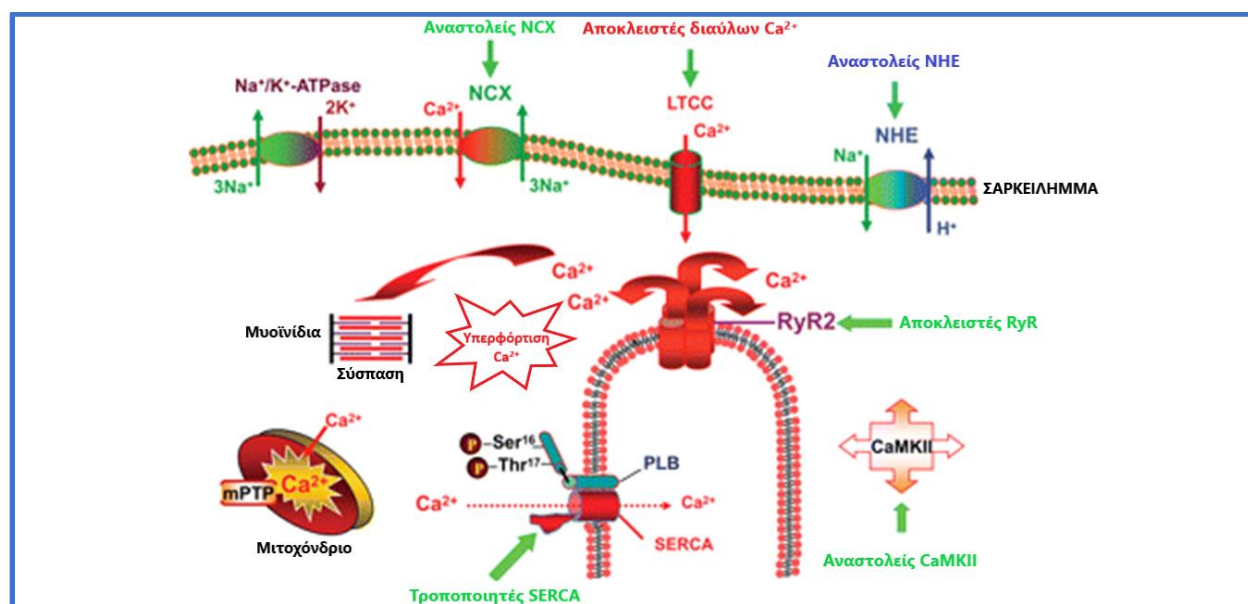
Το οξειδωτικό στρες μπορεί να επηρεάσει το γενετικό υλικό (deoxyribonucleic acid, DNA) των κυττάρων μέσω άμεσων ή έμμεσων οδών. Η άμεση οδός περιλαμβάνει ένα μηχανισμό παρόμοιο με αυτόν που επιδρά στις πρωτεΐνες· η $\bullet\text{OH}$ αποσπά άτομα υδρογόνου από τις βάσεις του DNA τροποποιώντας ή ακόμα και διασπώντας αυτές [123]. Εναλλακτικά η MDA που σχηματίζεται κατά την υπεροξείδωση των λιπιδίων μπορεί να προσαρτάται στις βάσεις του DNA δρώντας ως καρκινογόνο [124]. Οι παραπάνω μηχανισμοί ισχύουν και σε ότι αφορά και το DNA των μιτοχονδρίων. Στη συγκεκριμένη περίπτωση μάλιστα λόγω της απουσίας συμπαγούς οργάνωσης και της περιτύλιξης γύρω από ιστόνες, της εγγύτητας σε πηγές παραγωγής ROS και των λιγότερο αποτελεσματικών μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA που διαθέτουν τα μιτοχόνδρια, το DNA των μιτοχονδρίων πλήττεται σφοδρότερα. Η βλάβη του γονιδιώματος μπορεί να επάγει αποπτωτικές οδούς, να μειώσει την έκφραση διαφόρων πρωτεϊνών, να καταναλώσει αποθέματα ενέργειας και NAD^+ και να αναστείλει τη λειτουργία των μιτοχονδρίων [125]. Παρόλα αυτά οι μέχρι τώρα μελέτες δείχνουν ότι η οξείδωση των λιπιδίων και των πρωτεϊνών είναι οι κύριοι αρωγοί της βλάβης ισχαιμίας/επαναιμάτωσης.

ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΤΗΝ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

Όπως έχει γίνει ήδη φανερό η επαναιμάτωση προκαλεί δραστικές αλλαγές που επηρεάζουν την επιβίωση του κυττάρου με ριζικό τρόπο. Το ασβέστιο (Ca^{2+}) πρωταγωνιστεί σε μια πληθώρα σηματοδοτικών μονοπατιών που συμμετέχουν στη ρύθμιση του συνόλου των κυτταρικών διεργασιών καθορίζοντας σε μεγάλο βαθμό την έκταση της βλάβης που προκύπτει μετά την αποκατάσταση της αιματικής ροής.

Κεντρικοί ρυθμιστές της ομοιόστασης του ενδοκυτταρικού Ca^{2+}

Η ομοιόσταση του ασβεστίου κατά τη σύζευξη διέγερσης-συστολής ρυθμίζεται από αρκετές πρωτεΐνες κλειδιά που εντοπίζονται στη μεμβράνη του μυοκυττάρου (σαρκοίλημμα, SL), το σαρκοπλασματικό δίκτυο (SR), τα μιτοχόνδρια και το κυτταρόπλασμα (εικόνα 6). Πρωτεΐνες όπως ο L-τύπου διάυλος Ca^{2+} (LTCC), ο ανταλλάκτης $\text{Na}^{+}-\text{Ca}^{2+}$ ($\text{Na}^{+}-\text{Ca}^{2+}$ exchanger, NCX), ο διάυλος απελευθέρωσης Ca^{2+} του SR – υποδοχέας της ρυανοδίνης (ryanodine receptor, RyR), η Ca^{2+} -ΑΤΡάση του σαρκο/ενδοπλασματικού δικτύου (SERCA), η φωσφολαμβάνη (PLB), η καλπαΐνη, και ο μιτοχονδριακός μονομεταφορέας Ca^{2+} (mitochondrial Ca^{2+} uniporter, MCU) ρυθμίζουν τη δυναμική του Ca^{2+} τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές συνθήκες.



Εικόνα 6. Βασικά στοιχεία των μυοκαρδιακών κυττάρων που συμμετέχουν στη ρύθμιση της ομοιόστασης του ασβεστίου στη μετα-ισχαιμική καρδιά. (i) Ca^{2+} -ΑΤΡάση του σαρκο/ενδοπλασματικού δικτύου (SERCA) (ii) ανταλλάκτης $\text{Na}^{+}-\text{Ca}^{2+}$ (NCX) (iii) διάυλος απελευθέρωσης Ca^{2+} του SR – υποδοχέας της ρυανοδίνης (RyR) (iv) L-τύπου διάυλος Ca^{2+} (LTCC), (v) ανταλλάκτης $\text{Na}^{+}-\text{H}^{+}$ ($\text{Na}^{+}-\text{H}^{+}$ exchanger) και (vi) πρωτεϊνική κινάση II που εξαρτάται από το σύμπλοκο Ca^{2+} /καλμοδουλίνης, (Ca^{2+} and calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII). mPTP, πόρος μετάβασης της μιτοχονδριακής διαπερατότητας. Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [126] (με την άδεια των συγγραφέων).

Δίαυλοι ασβεστίου L-τύπου

Οι τάσεοελεγχόμενοι διάυλοι Ca^{2+} (voltage-gated Ca^{2+} channels, VGCC) επιτρέπουν την εισροή Ca^{2+} ως απόκριση στην εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης. Ανήκουν σε μία υπεροικογένεια διαμεμβρανικών πρωτεϊνών που συμπεριλαμβάνει τους τάσεοελεγχόμενους διαύλους καλίου και νατρίου [127]. Οι VGCC του μυοκαρδίου εμφανίζουν μακράς διάρκειας (long lasting) ρεύματα (L-τύπου) λόγω της σχετικά αργής απενεργοποίησής τους [128]. Κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης εκπόλωσης τους, η υπερφόρτιση Ca^{2+} προλαμβάνεται μέσω αρνητικής ανάδρασης που εμπλέκει δύο διαφορετικές διεργασίες. Αυτές με τη σειρά τους διακρίνονται βάσει του μηχανισμού ενεργοποίησής τους (τάση ή ενδοκυτταρικό Ca^{2+}). Η δράση τους αναστέλλεται από αποκλειστές των διαύλων Ca^{2+} L-τύπου, συμπεριλαμβανόμενων των διυδροπυριδινών, των φαινυλαλκυλαμινών, και των βενζοδιαζεπινών.

Κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1980 και στις αρχές της δεκαετίας του 1990 τα αποτελέσματα μίας σειράς ζωικών πειραματικών μοντέλων καλλιέργησαν την πεποίθηση ότι η αυξημένη εισροή Ca^{2+} μέσω των LTCC ήταν υπεύθυνη για την υπερφόρτιση Ca^{2+} και την βλάβη επαναιμάτωσης. Κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους απέφεραν αντικρουόμενα αποτελέσματα και μεταγενέστερα πειράματα σε ζώα απέτυχαν να επιβεβαιώσουν τις προηγούμενες παρατηρήσεις. Μετέπειτα, οποιαδήποτε μείωση της μυοκαρδιακής βλάβης αποδιδόταν στη μείωση της κατανάλωσης του οξυγόνου στο μυοκάρδιο, ως αποτέλεσμα των αρνητικών ινότροπων και χρονότροπων δράσεων αυτών των παραγόντων [129]. Νεότερα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η είσοδος του Ca^{2+} μέσω των LTCC μπορεί να συνεισφέρει στην αύξηση του Ca^{2+} κατά την ισχαιμία. Επιπλέον οι LTCC μπορούν να λειτουργήσουν ως στόχος για φαρμακευτική προ-ισχαιμική προετοιμασία. Το 2010 οι Gonzalez *et al.* ανέφεραν ότι η προ-ισχαιμική προετοιμασία με διαζοξειδη συνοδεύτηκε από 50% μείωση στα επίπεδα της α_{1c} υπομονάδας των LTCC, και αντιστρεπτή πτώση του πλάτους του ρεύματος L-τύπου και των διακυμάνσεων του Ca^{2+} ενώ προκάλεσε και αύξηση στην τάσεοεξαρτώμενη απενεργοποίηση του διαύλου [130]. Το 2013 οι Zhang *et al.* έδειξαν ότι η αναστολή των LTCC με διλτιαζέμη ή νιφεδιπίνη εμπόδιζε την ενδοκυττάρια υπερφόρτιση Ca^{2+} και καθυστέρησε αισθητά την απώλεια του δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης [131]. Το 2014 οι Viola *et al.* ανέφεραν ότι η χορήγηση (σε καρδιές ινδικών χοιριδίων *ex vivo* και σε αρουραίους *in vivo*) του πεπτιδίου AID μείωσε τη βλάβη ισχαιμίας και επαναιμάτωσης μέσω ρύθμισης της μιτοχονδριακής λειτουργίας [132] και υποστήριξαν ότι η μείωση του μεγέθους του εμφράγματος και η βελτίωση στη συστατικότητα μετά από τη χορήγηση του πεπτιδίου μπορούσε να προσφέρει σημαντικά οφέλη μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου στην ανθρώπινη καρδιά.

Ανταλλάκτης $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$

Οι ανταλλάκτες $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ (NCXs) των θηλαστικών είναι μέλη τριών κλάδων μιας πολύ μεγαλύτερης οικογένειας πρωτεϊνών μεταφορέων, της CaCA (αντιμεταφορείς Ca^{2+} /κατιόντων) υπεροικογένειας, των οποίων ο κύριος ρόλος είναι να παρέχουν έλεγχο της ροής του Ca^{2+} δια μέσω των πλασματικών μεμβρανών ή των ενδοκυτταρικών διαμερισμάτων [133]. Ο ανταλλάκτης δρα επιτρέποντας μία ηλεκτρογόνου διεργασία ανταλλαγής ιόντων ($3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$) και μπορεί να λειτουργήσει με ορθό (εξώθηση Ca^{2+}) ή με ανάστροφο (είσοδος Ca^{2+}) τρόπο, ανάλογα με την εξωκυττάρια και την ενδοκυττάρια συγκέντρωση Na^+ και Ca^{2+} και το δυναμικό της μεμβράνης [134]. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, το μόριο λειτουργεί κυρίως ορθόδρομα και εξωθεί Ca^{2+} από το κυτταρόπλασμα εξισορροπώντας όλη την εισροή Ca^{2+} από τους LTCC [135]. Κατά την ισχαιμία, λόγω της επακόλουθης οξέωσης, ο ανταλλάκτης

Na^+/H^+ (NHE), ο συµµεταφορέας $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$ και η συνεχής (µη απενεργοποιούµενη) λειτουργία των διαύλων Na^+ [136], οδηγούν σε σταθερή άνοδο του ενδοκυτταρικού Na^+ . Αυτή η µεταβολή στις κλίσεις των ιόντων $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, σε συνδυασµό µε την εκπόλωση της µεµβράνης οδηγεί τους NCX του SL να έχουν ανάστροφη λειτουργία, ξεκινώντας µία αύξηση στο ενδοκυττάριο Ca^{2+} [137]. Η χαµηλή συγκέντρωση ATP υποβαθµίζει τη δραστηριότητα της ATPάσης Na^+/K^+ του SL και της SERCA, λειτουργώντας ως µηχανισµός πρόκλησης της κυτταροπλασµατικής υπερφόρτισης Na^+ και Ca^{2+} [138]. Κατά την επαναιµάτωση η απομάκρυνση των εξωκυττάρων H^+ αυξάνει επιπλέον την κλίση των πρωτονίων κατά µήκος του SL, και έτσι επιταχύνει τη λειτουργία του NHE και επιδεινώνει την υπερφόρτιση του Ca^{2+} [139].

Με δεδοµένο πως το µέγεθος της ενδοκυτταρικής υπερφόρτισης Ca^{2+} κατά την επαναιµάτωση παρουσιάζει µια σηµαντική, γραµµική συσχέτιση µε τη µείωση της ανάκτησης της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας [140], η ρύθµιση της δραστηριότητας του NCX κατά την ισχαιµία και την επαναιµάτωση φαίνεται εύλογος φαρµακολογικός στόχος. Στο πλαίσιο αυτό διενεργήθηκαν µια πληθώρα πειραµάτων. Το caldaret (MC-135) είναι ένας ρυθµιστής της ενδοκυττάριας οµοιόστασης του Ca^{2+} που λειτουργεί µέσω της αναστολής της ανάστροφης λειτουργίας των NCX και πιθανόν την ενίσχυση της πρόσληψης Ca^{2+} από το SR [141]. Σε *in situ* πειράµατα σε καρδιές σκύλων έδειξε ότι µειώνει το µέγεθος του εµφράγµατος [142]. Η µελέτη CASTEMI ήταν η πρώτη εµπειρία χορήγησης caldaret σε ασθενείς µε STEMI που υποβλήθηκαν σε πρωτογενή διαδερµική στεφανιαία αγγειοπλαστική [143]. Τριακόσιοι ογδόντα επτά ασθενείς κατανεµήθηκαν σε δύο οµάδες που έλαβαν είτε ενδοφλέβια έγχυση 48 ωρών caldaret ή εικονικό σκεύασµα ξεκινώντας πριν την PCI. Το πρωτογενές καταληκτικό σηµείο ήταν η µείωση του εµφράγµατος σε ασθενείς µε ροή κατά TIMI 0 ή 1 πριν από την PCI. Σε αυτούς τους ασθενείς δεν παρατηρήθηκε εµφανής µείωση του µεγέθους εµφράγµατος, αν και παρατηρήθηκαν τάσεις για ευεργετικό αποτέλεσµα στο υποσύνολο των ασθενών µε πρόσθιο έµφραγµα. Οι τελευταίες επιβεβαιώθηκαν µετά από υποανάλυση αυτού του πληθυσµού η οποία και έδειξε σηµαντική µείωση στη συχνότητα εµφάνισης σηµαντικής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας στους ασθενείς που έλαβαν το φάρµακο [144]. Εντούτοις µία άλλη τυχαιοποιηµένη, διπλά τυφλή, µε έλεγχο µε εικονικό σκεύασµα (placebo-controlled) µελέτη, η µελέτη EVOLVE, χρησιµοποιώντας έναν παρόµοιο πληθυσµό ασθενών µε την µελέτη CASTEMI, απέτυχε να επιδείξει στατιστικά σηµαντικό όφελος του MCC-135 στη διαφύλαξη της λειτουργίας της αριστερής κοιλίας και τη µείωση του µεγέθους εµφράγµατος [145].

Η πιο διεξοδικά µελετηµένη κλινική προσέγγιση περιλαµβάνει την αναστολή του NHE ως έναν τρόπο να ελεγχθεί έµμεσα η υπερφόρτιση Ca^{2+} . Η µελέτη GUARDIAN συµπεριέλαβε 11590 ασθενείς και απέτυχε να δείξει κάποιο όφελος του καριποριδίου (cariporide) στο θάνατο ή το έµφραγµα του µυοκαρδίου σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε θροµβόλυση ή σε στεφανιαία επαναγγείωση [146]. Παρόµοιες ήταν και οι αναφορές από τους ερευνητές της µελέτης ESCAMI [147]. Η µελέτη EXPEDITION ήταν η πρώτη µελέτη φάσης III µυοκαρδιακής προστασίας στην οποία επετεύχθη το τελικό σηµείο αποτελεσµατικότητας (µείωση της θνησιµότητας ή του µεγέθους εµφράγµατος στις 5 ηµέρες) [148]. Η µελέτη συµπεριέλαβε 5761 ασθενείς υψηλού ρίσκου που υποβλήθηκαν σε επέµβαση αορτοστεφανιαίας παράκαµψης µε µόσχευµα (CABG), στους οποίους χορηγήθηκε ο παράγοντας, καριπορίδιο, προχειρουργικά και μεταχειρουργικά. Τα ευνοϊκά αποτελέσµατα έρχονται σε συµφωνία µε τις προκλινικές µελέτες που δείχνουν ότι αναστολή του NHE προστατεύει ενάντια στην ισχαιµική βλάβη αλλά όχι στη βλάβη

επαναιμάτωσης (δηλαδή αυτοί οι παράγοντες πρέπει να χορηγούνται πριν την ισχαιμία για να είναι αποτελεσματικοί).

Σύμπλοκο Ca^{2+} -ΑΤΡάσης σαρκο/ενδοπλασματικού δικτύου – Φωσφολαμβάνης

Οι ΑΤΡάσες Ρ-τύπου είναι αντλίες ιόντων που χρησιμοποιούν ΑΤΡ ως πηγή ενέργειας. Ταξινομούνται σε πέντε υποοικογένειες P1-P5 [149]. Οι αντλίες SERCA, που εντοπίζονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) ή στο SR των ευκαρυωτικών κυττάρων, ανήκουν στην P2A υποοικογένεια. Εναλλακτικό μάτισμα των μεταγράφων τριών παράλογων γονιδίων, οδηγεί σε πολλαπλές ισομορφές. Στον καρδιακό μυ η ισομορφή SERCA2a απαντάται σε αφθονία. Η βασική της λειτουργία είναι να αντλεί κυτταροπλασματικό Ca^{2+} ενάντια σε μια σχεδόν 10,000 φορές μεγαλύτερη κλίση κατά μήκος της μεμβράνης ER/SR [150]. Κατά συνέπεια ελέγχει τόσο τη ροή της απομάκρυνσης του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} όσο και το φορτίο Ca^{2+} του SR.

Αρκετές πρωτεΐνες που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα, τη μεμβράνη και τον αυλό του SR έχειδειχθεί ότι αλληλεπιδρούν με τη SERCA2a, ρυθμίζοντας τη λειτουργία της ως μέρος ενός μακρομοριακού συμπλέγματος [151]. Η φωσφολαμβάνη (PLN) είναι μια μικρή (μεγέθους 52 αμινοξέων) πρωτεΐνη της μεμβράνης του SR, η οποία είναι ο βασικός ρυθμιστής της λειτουργίας της SERCA2a. Στο τέλος της δεκαετίας του 1980 έγινε εμφανές πως η αποφωσφορυλιωμένη PLN είναι στην πραγματικότητα αναστολέας της καρδιακής SERCA2a και πως η φωσφορυλίωση της αναστέλλει αυτή την δράση, δίνοντας την εικόνα μιας ενεργοποίησης που προκαλείται από φωσφορυλίωση [152]. Δύο κατάλοιπα είναι οι βασικοί στόχοι αυτής της φωσφορυλίωσης. Η πρωτεϊνική κινάση CaMKII [Ca^{2+} -Calmodulin (CaM)-dependent protein kinase II] καταλύει αποκλειστικά τη φωσφορυλίωση της θρεονίνης (Thr) 17 ενώ η εξαρτώμενη από το cAMP πρωτεϊνική κινάση (cAMP-dependent protein kinase) καταλύει τη φωσφορυλίωση της σερίνης (Ser) 16. Και οι δύο αυτές φωσφορυλιώσεις μπορούν να αντιστραφούν από την πρωτεϊνική φωσφατάση 1 (PP1), μια μεμβρανική πρωτεΐνη του SR. Η PLN υφίσταται σε ισορροπία μεταξύ της μονομερούς και της πενταμερούς μορφής της. Όταν φωσφορυλιωθεί, η PLN εντοπίζεται κυρίως σε μορφή πενταμερούς, το οποίο είναι λιγότερο ενεργό στην αναστολή της δραστηριότητας της SERCA2a από τη μονομερή μορφή. Σε αντίθεση με τη φωσφορυλιωμένη της μορφή, η αποφωσφορυλιωμένη μορφή της PLN εντοπίζεται κυρίως ως μονομερές, το οποίο μπορεί να προσδένεται και να αναστέλλει την λειτουργία της SERCA2a [151].

Στοιχεία σχετικά με την επίδραση της ισχαιμίας και επαναιμάτωσης στη λειτουργία του SR υπήρχαν ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του 1960 [120]. Αρκετοί επιστήμονες ανέφεραν μείωση στην επαναπρόσληψη Ca^{2+} από το SR ή/και στη λειτουργία της SERCA [153]. Στα πρώτα λεπτά της επαναιμάτωσης, με την επανεκκίνηση παραγωγής ενέργειας από το μιτοχόνδριο, λαμβάνει χώρα μια ταχεία πρόσληψη Ca^{2+} από το SR μέσω της SERCA και μετέπειτα απελευθέρωση (όταν έχει ξεπεραστεί η αποθηκευτική χωρητικότητα του) μέσω του RyR2. Το κυτταροπλασματικό φορτίο Ca^{2+} ακολουθεί αυτόν το φαύλο κύκλο παρά την παρουσία των ΑΤΡ-εξαρτώμενων μηχανισμών εξώθησης ασβεστίου στο SL, εξαιτίας της πολύ στενής χωρικής επικοινωνίας μεταξύ του SR και των μιτοχονδρίων. Η SERCA ξεκινάει μία σπίθα κατά την οποία το Ca^{2+} που απελευθερώνεται από μια μονάδα SR, επαναπρολαμβάνεται από την επόμενη. Αυτή η ταλάντωση του ασβεστίου με τη σειρά της μπορεί διαδοθεί στο κύτταρο ως «κύματα» Ca^{2+} , τα οποία προκαλούν υπερσυστολή και κυτταρικό θάνατο [154]. Η σημασία της λειτουργίας της SERCA στη ρύθμιση

του Ca^{2+} έχει διερευνηθεί περαιτέρω σε μια πληθώρα πειραματικών μοντέλων με γενετικά τροποποιημένα ζώα. Οι Talukder *et al.* χρησιμοποιώντας τόσο μοντέλα ενίσχυσης (gain-of-function) (υπερέκφραση SERCA) όσο και απώλειας της λειτουργικότητας (loss-of-function) (έλλειψη SERCA) έδειξαν πειστικά πως η υπερέκφραση της SERCA2a μείωσε τη μετα-ισχαιμική υπερφόρτιση Ca^{2+} , παρέχοντας έτσι ισχυρή μυοκαρδιακή προστασία σε περιόδους ισχαιμίας και επαναιμάτωσης, ενώ η μειωμένη έκφραση μετέτρεψε μη θανατηφόρα μυοκαρδιακή βλάβη σε έμφραγμα και επηρέασε την αποκατάσταση της λειτουργικότητας [155, 156].

Τα πρώτα *in vivo* στοιχεία της φωσφορυλίωσης της PLN ήρθαν στις αρχές της δεκαετίας του 1980 [157]. Η ενσωμάτωση ορθοφωσφορικού στην PLN συσχετίστηκε με αυξημένη πρόσληψη Ca^{2+} στο SR, ενισχυμένη λειτουργία της SERCA και βελτιωμένες παραμέτρους λειτουργίας της αριστερής κοιλίας (συσταλτικότητα και χάλαση) [158]. Μετέπειτα παρατηρήσεις έδειξαν αποκλίσεις μεταξύ της *in vivo* και της *in vitro* φωσφορυλίωσης της PLN [159]. Πρόσφατα οι ερευνητές έδειξαν ότι η αναστολή της μεσολαβούμενης από την PP1 αποφωσφορυλίωσης της PLN, με τη χρήση πεπτιδίων «δόλωμα» κατά την επαναιμάτωση, αποκατέστησε σε σημαντικό βαθμό την καρδιακή λειτουργία [160]. Μια κλινική μελέτη με θετικά αποτελέσματα που μπορούν πιθανά να αποδοθούν σε βελτιωμένη ομοιοστασία του Ca^{2+} είναι η J-WIND-ANP μελέτη [161]. Σε αυτή τη μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση του ανθρώπινου κοιλιακού νατριουρητικού πεπτιδίου και αυτή της νικορανδίνης στο μέγεθος του εμφράγματος και την καρδιαγγειακή έκβαση. Το κοιλιακό νατριουρητικό πεπτίδιο μείωσε το μέγεθος του εμφράγματος και τις βλάβες επαναιμάτωσης, και βελτίωσε την έκβαση σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.

Υποδοχείς Ρυανοδίνης

Οι υποδοχείς της ρυανοδίνης εντοπίζονται στην μεμβράνη του σαρκοπλασματικού/ενδοπλασματικού δικτύου. Είναι υπεύθυνοι για την απελευθέρωση Ca^{2+} από τα ενδοκυτταρικά αποθέματα μετά από επαγόμενη από εκπόλωση εισροή Ca^{2+} μέσω των LTCC [162]. Η κυρίαρχη μορφή RyR στον καρδιακό μυ είναι ο RyR2 [163]. Σε αντίθεση με το σκελετικό μυ, η επαγόμενη από Ca^{2+} απελευθέρωση Ca^{2+} στα μυοκύτταρα της καρδιάς δεν απαιτεί φυσική επαφή μεταξύ των δύο διαύλων (LTCC και RyR). Βασίζεται σε μία λειτουργική σύζευξη που με τη σειρά της θεωρείται ότι εξαρτάται από τη χωρική εγγύτητα. Το ενδοκυττάριο pH και η οξειδοαναγωγική κατάσταση μαζί με πληθώρα άλλων μορίων και πρωτεϊνών μεταβάλλουν την πιθανότητα ανοίγματος (Po) του υποδοχέα [164]. Μεταξύ αυτών, το Ca^{2+} παίζει αποφασιστικό ρόλο. Άλλοι σημαντικοί ρυθμιστές είναι το Mg^{2+} , το ATP, η πρωτεΐνη FK506 (FKBP, calstabin), η FKBP12.6 (calstabin2) και η καλμοδουλίνη [162]. Είναι σημαντικό πως στην πλευρά του αυλού, οι RyR2 είναι απευθείας συνδεδεμένοι με την τριαδίνη, την τζανκτίνη και την καλουμενίνη (calumenin) [165]. Αυτές οι πρωτεΐνες είναι αισθητήρες της συγκέντρωσης Ca^{2+} στο SR μέσω της αλληλεπίδρασής τους με την καλσικεστρίνη (CSQ) και επηρεάζουν το άνοιγμα των διαύλων [166]. Όταν το φορτίο Ca^{2+} στο SR φτάσει ένα συγκεκριμένο κατώφλι έχει παρατηρηθεί το φαινόμενο της αυθόρμητης (χωρίς να προηγηθεί κάποιο ερέθισμα) απελευθέρωσης του. Αυτή η διεργασία, που ονομάζεται και απελευθέρωση Ca^{2+} λόγω υπερφόρτωσης (store-overload-induced Ca^{2+} release, SOICR), παράγει κυτταροπλασματικά κύματα Ca^{2+} και επακόλουθες καθυστερημένες μετά-εκπολώσεις (delayed after depolarization, DAD) [167].

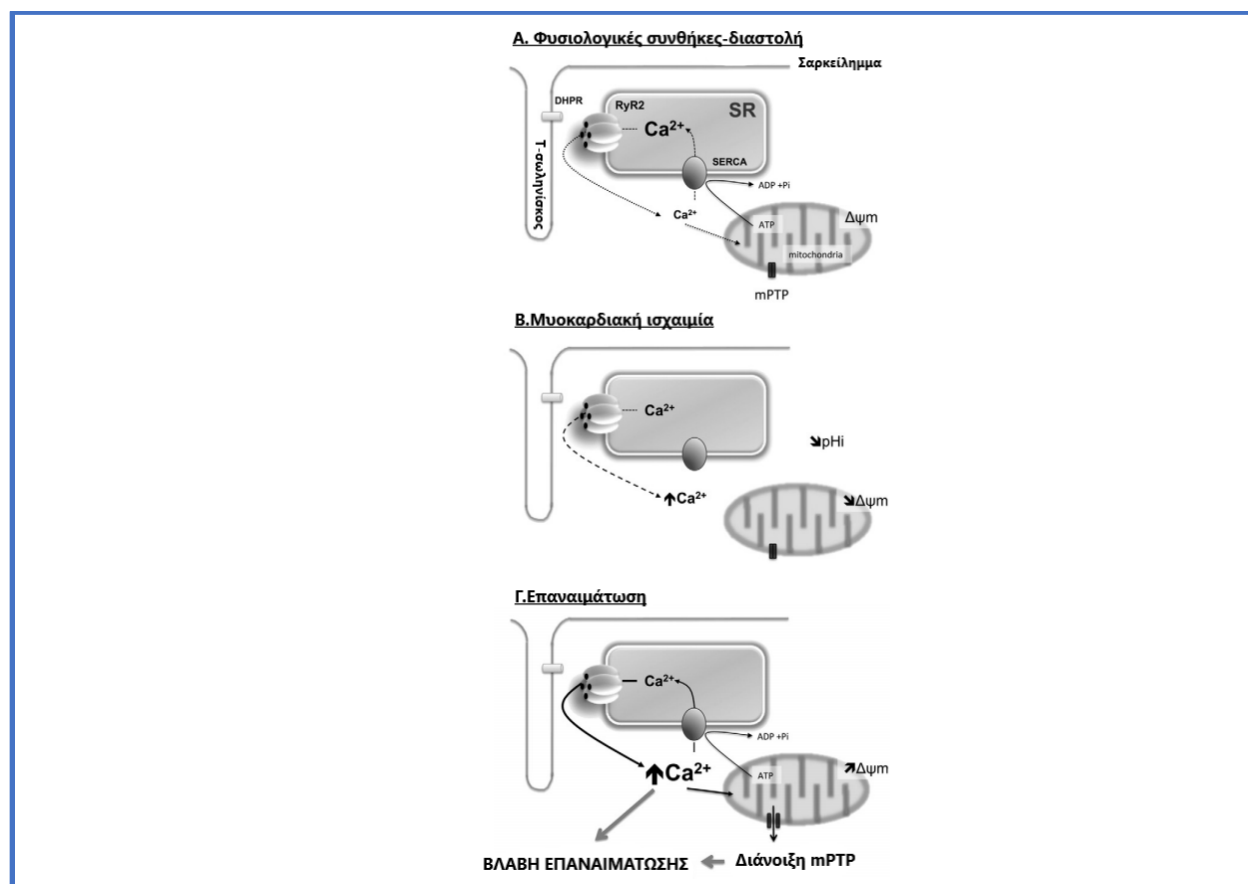
Μια πληθώρα *in vitro* και *in vivo* μοντέλων βλάβης επαναιμάτωσης έδειξαν ότι η χορήγηση δαντρολενίου, ενός ανταγωνιστή του RyR1 που χρησιμοποιείται στη θεραπεία της κακοήθους υπερθερμίας έχει ευεργετική δράση στην προστασία των καρδιακών μυοκυττάρων [168]. Η θέση πρόσδεσης του δαντρολενίου στον RyR2 πιθανόν να εξαρτάται από τη διαμόρφωση του [169]. Η αλλαγή στη διαμόρφωση μπορεί να οφείλεται σε μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις που συμβαίνουν κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση. Κάτω από αυτές τις συνθήκες έχουν αναφερθεί οξειδωτικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών της ρύθμισης του Ca^{2+} [170]. Αρκετά κατάλοιπα κυστεΐνης που βρίσκονται στον RyR2 είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε οξειδοαναγωγικές μεταβολές και συνεπώς δρουν ως πιθανοί στόχοι τέτοιων τροποποιήσεων [171]. Η S-νιτροζυλίωση του RyR2 και η αποδέσμευση της FKBP12.6 (calstabin2) από το σύμπλοκο του RyR2 έχει δειχθεί να είναι αποτέλεσμα της ενεργοποίησης της κασπάσης-8. Η πρόληψη της αποδέσμευσης της FKBP12.6 (calstabin2) με τον σταθεροποιητή διαύλων Ca^{2+} S107 (RyCal) ανέστειλε τη διαρροή Ca^{2+} από το SR Ca^{2+} και μείωσε το μέγεθος εμφράγματος και την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας [172]. Επιπλέον σε ένα *in vitro* πείραμα φάνηκε ότι η οξείδωση του NADH και η οξεία οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυτταροπλάσματος είναι πιθανόν να εμπλέκονται σε ένα μηχανισμό ρύθμισης μέσω αρνητικής ανάδρασης του υποδοχέα [173]. Χρησιμοποιώντας μια διαφορετική προσέγγιση οι Guo *et al.*, μελέτησαν την επίδραση παρεμβολής RNA έναντι της έκφρασης του RyR2 σε καρδιομυοκύτταρα που υποβλήθηκαν σε ισχαιμία και επαναιμάτωση και περιέγραψαν θετικά αποτελέσματα [174]. Το 2010, ο ρόλος των καλπαϊνών και του πρωτεασώματος στην αποικοδόμηση του RyR2 κατά τη βλάβη ισχαιμίας/επαναιμάτωσης προτάθηκε από τους Pedrozo *et al.* [175]. Το 2012, οι Cai *et al.* έφεραν στο φως στοιχεία που δείχνουν ότι ο έλεγχος της RyR2-εξαρτώμενης απελευθέρωσης Ca^{2+} στον αυλό του SR παίζει ρόλο κλειδί στη βλάβη επαναιμάτωσης [176]. Η ομάδα των ερευνητών έδειξε ότι απαλοιφή της τριαδίνης και της τζανκτίνης, μείωσε τη μετα-ισχαιμική ανάκτηση συσταλτικότητας κατά την επαναιμάτωση, αύξησε τα κυτταροπλασματικά επίπεδα Ca^{2+} και ενεργοποίησε τις πρωτεάσες καλπαΐνες. Πρόσφατα φάνηκε μία σαφής αύξηση στην CaMKII-εξαρτώμενη φωσφορυλίωση του διαύλου RyR2 στην αρχή της επαναιμάτωσης [177].

Ο ρόλος του Ca^{2+} στο θάνατο των μυοκαρδιακών κυττάρων και η βλάβη επαναιμάτωσης

Η κλασική άποψη που θέλει τις μεταβολές της ομοιόστασης του Ca^{2+} κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση να εμπλέκονται στην κυτταρική βλάβη, αμφισβητήθηκε πρόσφατα λόγω του ότι άλλες παθοφυσιολογικές διεργασίες λαμβάνουν χώρα πρότερα. Αυτές περιλαμβάνουν τη μετάβαση της μιτοχονδριακής διαπερατότητας (mitochondrial permeability transition) ως αποτέλεσμα του σχηματισμού ROS (την οποία και θα αναπτύξουμε σε βάθος λίγο παρακάτω). Εντούτοις, η περαιτέρω μελέτη της σχέσης μεταξύ του SR και των μιτοχονδρίων, φανερώνει ότι η υπερφόρτιση Ca^{2+} παίζει ρόλο κλειδί στη ρύθμιση των κυτταρικών αποκρίσεων (εικόνα 7). Αυτές κλιμακώνονται με την διάδοση ενός «κύματος» Ca^{2+} που εξορμάτε από το SR και οδηγούν σε συστολική υπερδραστηριότητα και μιτοχονδριακή βλάβη [154]. Εκτός από την αλληλεπίδραση του Ca^{2+} των μιτοχονδρίων με αυτό του SR και την υπερσυστολή, η αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} φαίνεται να συνεισφέρει στη βλάβη επαναιμάτωσης μέσω της πρωτεόλυσης, που προκαλείται από την ενεργοποίηση των καλπαϊνών. Έτσι προκύπτει ένα μοτίβο κατά το οποίο η ισχαιμία μεταβάλλει τη φυσιολογική ενδοκυττάρια ομοιόσταση του Ca^{2+} , που ακολουθείται από προκαλούμενη από την επαναιμάτωση Ca^{2+} -εξαρτώμενη υπερσυστολή, πρωτεόλυση και μιτοχονδριακή βλάβη. Το αποτέλεσμα είναι η ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης και η νέκρωση [138].

Υπερσύσπαση

Κατά την περίοδο της ισχαιμίας τα μυϊκά κύτταρα επιδεικνύουν έντονη σύσπαση, εξαιτίας της εξάντλησης του ATP, η οποία είναι ανεξάρτητη των επιπέδων του Ca^{2+} [178]. Όπως προαναφέραμε, στην φάση της επαναιμάτωσης οι αυξημένες συγκεντρώσεις Na^+ και Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα οδηγούν σε μια παρατεταμένη εισροή Ca^{2+} . Η επανεκκίνηση της σύνθεσης ATP τροφοδοτεί την εξαρτώμενη από ενέργεια



Εικόνα 7. Διακίνηση του ασβεστίου στα καρδιομυοκύτταρα. Ιόντα ασβεστίου (Ca^{2+}) αποθηκεύονται στο σαρκοπλασματικό δίκτυο (SR). Τόσο η εκροή μέσω αυθόρμητου ανοίγματος των υποδοχέων ρυανοδίνης (RyR2) όσο και η εισροή μέσω της Ca^{2+} ATPάσης του σαρκο/ενδοπλασματικού δικτύου (SERCA), ρυθμίζουν το περιεχόμενο στο SR Ca^{2+} . Τα μιτοχόνδρια επίσης προσλαμβάνουν Ca^{2+} , συντηρώντας τη σύνθεση του ATP. **A.** Σε φυσιολογικές συνθήκες, στη διαστολική κατάσταση ισορροπίας η διακίνηση του Ca^{2+} είναι χαμηλή. **B.** Κατά την ισχαιμία, η μιτοχονδριακή βλάβη, οδηγεί σε απώλεια της παραγωγής ATP, και ως συνέπεια μειώνει την πρόσληψη Ca^{2+} στο SR από την SERCA και η διαστολική συγκέντρωση του Ca^{2+} αυξάνεται. **Γ.** Στη μυοκαρδιακή επαναιμάτωση η επανοξυγόνωση αποκαθιστά τη λειτουργία της SERCA εξαιτίας της παραγωγής ATP. Η επαναιμάτωση συνοδεύεται από ελαττωματική λειτουργία του RyR2. Σε συνδυασμό, αυτό οδηγεί σε μια ασταθή διαστολική ισορροπία της διακίνησης Ca^{2+} με τη δημιουργία κυμάτων Ca^{2+} , συμβάλλοντας στη βλάβη επαναιμάτωσης. Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [179] (με την άδεια των συγγραφέων).

διακίνηση του σαρκοπλασματικού Ca^{2+} . Η άρση της αναστολής της αλληλεπίδρασης του Ca^{2+} με την τροπονίνη C εξαιτίας της αποκατάστασης του μέχρι πρότινος όξινου ενδοκυτταρικού pH, σε συνδυασμό με τις αυξομειώσεις του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} , οδηγούν σε μια ιδιαίτερα έντονη σύσπαση των μυοϊνιδίων (υπερσύσπαση) [180]. Η τεράστια μηχανική καταπόνηση του SL από τη δραστηριότητα του συσταλτικού μηχανισμού οδηγεί σε λύση των μυοκυττάρων και την χαρακτηριστική ιστολογική εμφάνιση της νέκρωσης με ζώνες συστολής (contraction band necrosis) [154]. Μελέτες υποδεικνύουν τη συσχέτιση μεταξύ της έκτασης της υπερσύσπασης κατά την επαναιμάτωση και την απελευθέρωση μυοκυτταρικών ενζύμων, και μεταξύ της αναστολής της σύσπασης στην εκκίνηση της επαναιμάτωσης και της διάσωσης του μυοκαρδίου [181, 182].

Ενεργοποίηση των καλπαϊνών κατά τη βλάβη επαναιμάτωσης

Οι καλπαΐνες ανήκουν σε μια οικογένεια μη λυσοσωμικών, κυτταροπλασματικών, Ca^{2+} -εξαρτώμενων πρωτεασών κυστεΐνης. Τα πρώτα μέλη αυτής της ομάδας που απομονώθηκαν σε πρωτεϊνική μορφή είναι δυο πρωτεάσες (τα μ- και m- ισοένζυμα καλπαΐνης) και ένας αναστολέας που ονομάζεται καλπαστατίνη. Αυτές οι δυο πρωτεάσες ανήκουν στις «συμβατικές» ή «τυπικές» καλπαΐνες που εκφράζονται σε όλους τους ιστούς. Οι διάφοροι ιστοί περιέχουν είτε μια και μοναδική μορφή είτε ένα συνδυασμό των δύο. Οι καλπαΐνες και η καλπαστατίνη συνήθως εντοπίζονται σε εγγύτητα στο χώρο. Είναι ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες που αλληλοεπιδρούν κυρίως με υποκυτταρικά οργανίδια. Ενώ εντοπίζονται κυρίως κοντά στο Z-δίσκο των μυϊκών ινών του σκελετικού και του καρδιακού μυ [183].

Οι μικρο- και m- καλπαΐνες είναι ετεροδιμερή αποτελούμενα από ένα πολυπεπτίδιο μεγέθους 80 kDa και ένα 30 kDa. Οι ενεργές πρωτεάσες υφίστανται μόνο ως διμερή. Η κλωνοποίηση και η αλληλούχιση του DNA έχει καταδείξει τα ομόλογα γονίδια (CAPN1-15) τα οποία κωδικοποιούν τις αντίστοιχες πρωτεΐνες (calpn1-15). Η καλπαΐνη 1 (μ-καλπαΐνη) και η καλπαΐνη 2 (m-καλπαΐνη) είναι οι βιολογικά ενεργές πρωτεάσες. Η καθεμία φέρει μια πανομοιότυπη υπομονάδα 30 kDa. Σε αντίθεση με τις 'τυπικές' καλπαΐνες, οι παρόμοιες με τις καλπαΐνες (calpain-like) πρωτεϊνικές ισομορφές ('α-τυπικές', 'ιστοειδικές' ή n-καλπαΐνες) δεν έχουν δράσεις πρωτεάσης, υποδεικνύοντας ότι το σύστημα των καλπαϊνών μπορεί και να δρα μέσω μονοπατιών διαφορετικών από την πέψη των πρωτεϊνών. Οι τυπικές καλπαΐνες εμπεριέχουν επίσης μια περιοχή που μοιάζει στη καλμοδουλίνη και η οποία απουσιάζει από τις n-καλπαΐνες [184]. Η πρόσδεση Ca^{2+} οδηγεί σε αλλαγές στην ανώτερη δομή των καλπαϊνών. Ως αποτέλεσμα, η θέση κατάλυσης σχηματίζει ένα πρωτεολυτικά ενεργό κέντρο, ενισχύεται ισχυρά η συγγένεια για τα φωσφολιπίδια και επάγεται η μετατόπιση στις κυτταρικές μεμβράνες [185]. Επίσης το Ca^{2+} προκαλεί την αυτο-πρωτεόλυσή τους που έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση των υπομονάδων τους.

Η καλπαστατίνη είναι ένας ειδικός αναστολέας της δράσης των μ- και m-καλπαϊνών. Αντίθετα, η α2-μακροσφαιρίνη (α2-macroglobulin) και το h-κινινογόνο (h-kininogen) αναστέλλουν εκτός από τις καλπαΐνες και άλλες πρωτεάσες. Οι διάφορες ισομορφές (17.5 - 107 kDa), που κωδικοποιούνται από ένα μόνο γονίδιο, περιέχουν τις ανασταλτικές περιοχές I – IV και ένα αμινοτελικό άκρο. Κάθε ανασταλτική περιοχή προσδένεται σε ένα μόνο μόριο καλπαΐνης με ανταγωνιστικό, Ca^{2+} -εξαρτώμενο τρόπο [183]. Λαμβάνοντας υπόψη την φυσική εγγύτητα των μορίων ενδοκυτταρικά και το γεγονός πως το Ca^{2+} αυξάνει την αλληλεπίδρασή τους, η μετατόπιση της καλπαΐνης που αναφέρθηκε παραπάνω, ή τα αποτελέσματα

άλλων ενδοκυτταρικών ρυθμιστικών σημάτων, μπορεί να παρέχουν ένα μονοπάτι άρσης της αναστολής της καλπαστατίνης.

Κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης η σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του σαρκοπλασματικού Ca^{2+} φαίνεται να ενεργοποιεί τις καλπαΐνες των μυοκυττάρων [185]. Οι Garcia-Dorado *et al.* το 2010 εστίασαν στην αλληλεπίδραση του Ca^{2+} και των καλπαϊνών [186]. Η ομάδα μελέτησε την μετατόπιση και την ενζυμική δράση των καλπαϊνών σε επίμυες, τόσο σε απομονωμένες καρδιές όσο και *in vivo*. Συμπέραναν ότι η υπερφόρτιση Ca^{2+} κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας προκαλεί τη μετατόπιση των καλπαϊνών στο SL. Νησίδες αλληλεπίδρασης της φωσφολιπιδικής διπλοστιβάδας, ονομαζόμενες μεμβρανικές λιπιδικές σχεδίες, δεσμεύουν τις καλπαΐνες και μειώνουν το απαραίτητο για την ενεργοποίησή τους Ca^{2+} *in vivo*, ενώ τοποθετούν το ένζυμο κοντά σε υποστρώματα και τελικούς τελεστές, όπως τα συστατικά του σαρκεληματικού κυτταροσκελετού και οι ιοντικοί δίαυλοι [187]. Ο φυσιολογικά αυστηρός έλεγχος του συστήματος των καλπαϊνών (μέσω ενδοκυτταρικού εντοπισμού, ρυθμιστικών μορίων, κ.λ.π) χάνεται και επικρατεί απρόσφορη ενεργοποίηση [180]. Αδιαμφισβήτητα, η ενεργοποίηση των καλπαϊνών λαμβάνει χώρα πριν από τη ρήξη του SL και παίζει σημαντικό ρόλο στη βλάβη επαναιμάτωσης [185]. Η ομάδα ανακάλυψε πως παρά τη μετατόπιση, ακόμα και μετά από 60 λεπτά ισχαιμίας, οι καλπαΐνες παραμένουν ανενεργές πριν την επαναιμάτωση. Η έλλειψη πρωτεολυτικής δράσης κατά την ισχαιμία, παρά την υπερφόρτιση Ca^{2+} και τη μετατόπιση των καλπαϊνών, είχε ήδη αναφερθεί με το όξινο pH να θεωρείται ως ο κύριος υπεύθυνος [188]. Κατά την έναρξη της επαναιμάτωσης, η δραστηριότητα των καλπαϊνών αυξήθηκε σε βαθμό ευθέως ανάλογο με τη διάρκεια της ισχαιμίας που προηγήθηκε ενώ συσχετίστηκε και στενά με την έκταση του κυτταρικού θανάτου. Ενδιαφέρον έχει πως η αναστολή της μετατόπισης σε αυτό το ζωικό μοντέλο δεν απέτρεψε την ενεργοποίηση κατά την επαναιμάτωση, υπογραμμίζοντας την διαφορά στην ενεργοποίηση των πρωτεϊνών σε φυσιολογικές συνθήκες και σε συνθήκες ισχαιμίας και επαναιμάτωσης [186]. *In vitro* έχουν μελετηθεί διάφορα υποστρώματα της πρωτεολυτικής δράσης των καλπαϊνών [189]. Ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί στην α -φοδρίνη (α -fodrin) και την αγκυρίνη (ankyrin). Η α -φοδρίνη σχηματίζει τον κυτταροσκελετικό κορμό του SL. Η αγκυρίνη σχηματίζει συνδέσεις μεταξύ του ικριώματος της α -φοδρίνης και διαφόρων άλλων υποδοχέων του SL και ιοντικών διαύλων, πχ. της Na^+/K^+ ATPάσης, ρυθμίζοντας τη θέση και τη λειτουργία τους. Η λύση αυτών των πρωτεϊνών από τις καλπαΐνες καθιστά το SL ευάλωτο και ως εκ τούτου πιο πιθανό να διαρραγεί λόγω της μηχανικής καταπόνησης που προκαλεί η υπερσυστολή. Επιπλέον, η δυσλειτουργία των τοπικών διαμεμβρανικών ιοντικών διαύλων εντείνει την απώλεια ελέγχου του Ca^{2+} [185]. Άλλα σημεία ενδιαφέροντος περιλαμβάνουν την δράση των καλπαϊνών στις πρωτεΐνες μεταφοράς Ca^{2+} του SR (SERCA και RyR) [175], καθώς και την εξαρτώμενη από τις καλπαΐνες ενεργοποίηση της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bid, με απελευθέρωση του κυτοχρώματος c και άλλων προ-αποπτωτικών παραγόντων [190].

Ο πολύπλευρος ρόλος των καλπαϊνών κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση οδήγησε σε μια πληθώρα πειραμάτων που ως στόχο είχαν τη μείωση του μεγέθους του εμφράγματος μέσω της αναστολής της δράσης τους [185, 186]. Το MDL-28170, ένας αναστολέας της καταλυτικής περιοχής της καλπαΐνης, όταν χρησιμοποιήθηκε σε αρουραίους μείωσε την αποικοδόμηση της α -φοδρίνης κατά 44% και το μέγεθος του εμφράγματος κατά 32% [186]. Η αναστολή των καλπαϊνών έχει προταθεί ως ο κυρίαρχος μηχανισμός και στην περίπτωση της προ-ισχαιμικής και μετα-ισχαιμικής προετοιμασίας του μυοκαρδίου [191]. Φαίνεται πως ο σχετικός χρόνος της εξομάλυνσης της συγκέντρωσης του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} , σε σχέση

με την αποκατάσταση του pH, μπορεί να καθορίσει τον κυτταρικό θάνατο (αποκατάσταση του pH πριν το Ca^{2+}) ή την κυτταρική διάσωση (η ρύθμιση του Ca^{2+} προηγείται της αποκατάστασης του pH) [185, 188].

Αλληλεπίδραση μεταξύ του σαρκοπλασματικού δικτύου και των μιτοχονδρίων

Η ροή του Ca^{2+} κατά μήκος των μιτοχονδριακών μεμβρανών επηρεάζεται από το δυναμικό της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης (MIM) και τις συγκεντρώσεις Ca^{2+} του κυτταροπλάσματος και της μήτρας του μιτοχονδρίου [192]. Τασεοεξαρτώμενα κανάλια ανιόντων (Voltage dependent anion-selective channels, VDAC) παρέχουν ένα μονοπάτι για τη μεταφορά Ca^{2+} και μεταβολιτών κατά μήκος της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης (MOM). Διάφορες πρωτεΐνες της MIM λειτουργούν ως δίαυλοι και μεταφορείς Ca^{2+} . Η είσοδος Ca^{2+} συμβαίνει κυρίως μέσω του μιτοχονδριακού μονομεταφορέα Ca^{2+} (MCU), του μηχανισμού ταχείας πρόσληψης (rapid mode of uptake, RaM) και του μιτοχονδριακού RyR (mRyR). Η εκροή Ca^{2+} ρυθμίζεται από τον MPTP, τον μιτοχονδριακό NCX (mNCX), το μιτοχονδριακό ανταλλαγέα $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ (mHCX) και τα συνδεδεμένα με την διακυλογλυκερόλη (DAG-associated cation channels, DAG) κανάλια κατιόντων (DCC). Η πρόσληψη Ca^{2+} από τα μιτοχόνδρια είναι απαραίτητη για τη ρύθμιση του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} (καθυστέρηση της υπερφόρτισης Ca^{2+}), την απόκριση στην ενδοκυτταρική μετάδοση σήματος μέσω του Ca^{2+} , και την κινητοποίηση του κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος (tricarboxylic acid, TCA), της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (electron transport chain, ETC) και της ATP συνθάσης [192]. Όμως, η μιτοχονδριακή υπερφόρτιση Ca^{2+} , όπως αυτή μετά από διαρκείς αυξήσεις στο κυτταροπλασματικό Ca^{2+} κατά την ισχαιμία και επαναιμάτωση, οδηγεί σε εκπόλωση της MIM, παραγωγή ROS, και διάνοιξη του MPTP (την οποία και θα αναπτύξουμε στην αμέσως επόμενη ενότητα).

Ένας αποκλειστής του MCU, ο Ru360, φάνηκε να μειώνει την πρόσληψη Ca^{2+} από τα μιτοχόνδρια και να προλαμβάνει τη καρδιακή βλάβη ισχαιμίας και επαναιμάτωσης μέσω της αναστολής του ανοίγματος του MPTP τόσο *in vitro* [154] όσο και *ex vivo* [193].

Γίνεται εμφανές ότι η μιτοχονδριακή υπερφόρτιση Ca^{2+} είναι ένα ολέθριο υποκυτταρικό παθολογικό συμβάν που οδηγεί στη μετάπτωση της διαπερατότητας της μιτοχονδριακής μεμβράνης και τη βλάβη της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων κατά τη βλάβη επαναιμάτωσης. Αντίθετα, σε νορμοζικά κύτταρα, η δυνατότητα των υγιών μιτοχονδρίων για διαμερισματοποίηση του Ca^{2+} , μαζί με το SR, είναι επαρκής για τη ρύθμιση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} [194]. Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες του SR (SERCA, RyR2) ελέγχουν την είσοδο και την απελευθέρωση Ca^{2+} μεταξύ του κυτταροπλάσματος και του αυλού του SR, ρυθμίζοντας τη σύζευξη διέγερσης-συστολής, και τη ρύθμιση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} . Η εγγύτητα των T-σωληνίσκων (T-tubules) και των μιτοχονδρίων λειτουργεί βοηθητικά στο ρόλο του SR [195]. Το μιτοχονδριακό ATP είναι ουσιαστικής σημασίας για την τροφοδοσία της διακίνησης του Ca^{2+} στο SR που οδηγεί τη σύσπαση και τη χάλαση. Αλλαγές στην απελευθέρωση Ca^{2+} του SR ανιχνεύονται από τα μιτοχόνδρια και χρησιμοποιούνται για τη ρύθμιση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης σύμφωνα με τις μεταβολικές ανάγκες. Τα μιτοχόνδρια που βρίσκονται σε εγγύτητα με το SR διαφέρουν από τα υπόλοιπα. Όντως, υπάρχουν δύο υποπληθυσμοί μιτοχονδρίων, τα διαμυοϊνδιακά (παράλληλα με το SR), και τα υποσαρκεληματικά [196]. Διαφορές στον εντοπισμό, στη δομή και στο λειτουργικό δυναμικό υπογραμμίζουν επιπλέον τη διαφορική τους αλληλεπίδραση με άλλα συστατικά των κυττάρων [197]. Επιπλέον, συγκεκριμένα σημεία επαφής έχουν περιγραφεί μεταξύ της MOM και του SR, εμπλουτισμένα με την πρωτεΐνη μιτοφουσίνη 2 [198]. Κάθε ζώνη επαφής μεταξύ του SR και των μιτοχονδρίων

περιλαμβάνει πολλαπλές άγκυρες που τα συνδέουν σε μία χωρικά ευνοϊκή διάταξη [199]. Αυτό επιτρέπει την τοπική ενίσχυση των σημάτων Ca^{2+} σε αυτές τις πλούσιες σε Ca^{2+} μικροανατομικές περιοχές, επιτρέποντας ζωτικής σημασίας αποκρίσεις βιοενεργητικής ανάδρασης σε στρεσογόνους παράγοντες [200]. Κατά την επαναιμάτωση, η επανεκκίνηση της παραγωγής ενέργειας από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων παρέχει ATP στο SR και τροφοδοτεί τις διαδιδόμενες ταλαντώσεις Ca^{2+} , προκαλώντας υπερσυστολή. Οι μικροπεριοχές υψηλής συγκέντρωσης Ca^{2+} γύρω από τον RyR2 του SR έχει προταθεί ότι εμπλέκονται στη μετάπτωση της διαπερατότητας της μιτοχονδριακής μεμβράνης των μιτοχονδρίων που βρίσκονται σε στενή εγγύτητα, κατά την έναρξη της επαναιμάτωσης [197]. Η μιτοχονδριακή βλάβη ακολουθεί λόγω της ανεπαρκούς αναπνοής και σύνθεσης ATP. Παρ'όλα αυτά, αυτή είναι μια αμφίδρομη διεργασία, με τοπικά διαμυοϊνιδιακά μιτοχόνδρια που έχουν υποστεί βλάβη (χαμηλότερου λειτουργικού δυναμικού από τα υποσαρκεληματικά) να επιτρέπουν την εκροή Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα και να ενεργοποιούν περαιτέρω τις ταλαντώσεις Ca^{2+} του SR, την υπερσυστολή και τον κυτταρικό θάνατο [197]. Ταυτόχρονα, ένας υποπληθυσμός ανέπαφων μιτοχονδρίων που παράγουν ενέργεια έχει προταθεί ότι συνυπάρχει με τα διαπερατά κατεστραμμένα μιτοχόνδρια και οδηγεί τις ενεργο-εξαρτώμενες ΑΤΡάσες και την υπερσυστολή [201]. Εφόσον η βλάβη επαναιμάτωσης συμβαίνει και σε κύτταρα που στερούνται συστατικών μηχανισμών, ο θάνατος των μυοκυττάρων στη βλάβη επαναιμάτωσης μπορεί να εξηγηθεί είτε μέσω μεταβολής στην ομοιοστασία του Ca^{2+} με αποτέλεσμα την πρωτεόλυση από καλπαΐνες και την υπερσυστολή, είτε μέσω της βλάβης των μιτοχονδρίων με αποτέλεσμα την εξάντληση των αποθεμάτων ενέργειας και την παραγωγή ROS [138]. Μετά από σύντομες περιόδους ισχαιμίας, η αναστολή της μετάπτωσης της διαπερατότητας της μιτοχονδριακής μεμβράνης απέτυχε να προστατεύσει τα καρδιομυοκύτταρα από τη βλάβη επαναιμάτωσης, ενώ η πρόληψη της Ca^{2+} - και ενεργο-εξαρτώμενης υπερσυστολής ήταν πιο προστατευτική. Το αντίθετο ίσχυε μετά από παρατεταμένη ισχαιμία, υποδεικνύοντας την πιθανή επίδραση της διάρκειας της ισχαιμίας στις κυτταρικές διεργασίες που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο [138].

ΔΙΑΝΟΙΞΗ ΤΟΥ ΜΡΤΡ

Σε υγιή κύτταρα, η έσω μιτοχονδριακή μεμβράνη δεν είναι διαπερατή από νερό, ιόντα ή πρωτόνια. Κατά την διάρκεια της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης παρατηρείται μια μη εκλεκτική αύξηση της διαπερατότητάς της σε μόρια μικρότερα του 1,5 kDa. Υπό αυτές τις συνθήκες η μεγάλης κλίμακας παραγωγή ROS, τα εξαντλημένα αποθέματα ενέργειας και η μεγάλη αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου στα μιτοχόνδρια (που αναπτύξαμε με λεπτομέρειες στην προηγούμενη ενότητα) προάγουν μια κυτταρική διεργασία που είναι γνωστή ως μετάβαση της μιτοχονδριακής διαπερατότητας (mitochondrial permeability transition) [202, 203] και η οποία εξαρτάται από τη δημιουργία και τη διάνοιξη πόρων στην έσω μεμβράνη [204, 205]. Η μοριακή δομή αυτών των πόρων δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Πρωτεΐνες που θεωρούνταν βασικά δομικά του στοιχείου όπως ο μεταφορέας του νουκλεοτιδίου της αδενίνης (adenine nucleotide transporter, ANT), βρέθηκε ότι τελικά ασκούν αποκλειστικά ρυθμιστικό και όχι δομικό ρόλο [206]. Οι He και Lemasters πρότειναν ότι ο ΜΡΤΡ δεν έχει μια μοναδική μοριακή σύνθεση αλλά σχηματίζεται από συμπλέγματα ελεύθερων πρωτεϊνών της εσωτερικής μεμβράνης τα οποία σταθεροποιούνται από την κυκλοφιλίνη-D παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ασβεστίου [207].

Κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας το χαμηλό pH (κάτω από 7) δρα ανασταλτικά εμποδίζοντας τη διάνοιξη των πόρων. Στα πρώτα όμως λεπτά της επαναιμάτωσης και μόλις το pH αρχίσει να αποκαθιστάται οι πόροι ανοίγουν [208, 209] και ως εκ τούτου τα πρωτόνια περνούν πίσω στη μήτρα των μιτοχονδρίων, καταργούν την ηλεκτροχημική βαθμίδωση (electrochemical gradient), αναστέλλουν την λειτουργία της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων και διακόπτουν την παραγωγή ATP [210, 211]. Οι περισσότερες από τις πρωτεΐνες της μήτρας, λόγω μεγέθους (>1,5 kDa), δεν δύνανται να διαχυθούν στο κυτόπλασμα μέσω των πόρων, παραμένουν στη μήτρα και δρουν κολλοειδωσμητικά. Μόρια νερού εισρέουν στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων, με αποτέλεσμα τη διόγκωση των οργανιδίων και κατά περίπτωση τη ρήξη της εξωτερικής τους μεμβράνης. Ταυτόχρονα η υπεροξειδωση της καρδιολιπίνης στην εσωτερική μεμβράνη απελευθερώνει το κυτόχρωμα c [212, 213] το οποίο στη συνέχεια διαχέεται στο κυτταρόπλασμα όπου δρα προάγοντας αποπτωτικές οδούς και ενεργοποιώντας την κασπάση [74, 214]. Αν η αύξηση της διαπερατότητας της έσω μεμβράνης είναι παροδική και η εξωτερική μεμβράνη παραμένει ανέπαφη, τότε το κύτταρο μπορεί να αναρρώσει και να επιβιώσει [215]. Εναλλακτικά αν αυτή η αύξηση είναι εμμένουσα τότε το κύτταρο θα υποστεί απόπτωση εφόσον τα ενεργειακά του αποθέματα δεν έχουν εξαντληθεί και νέκρωση αν έχουν εξαντληθεί [216, 217].

Η διάνοιξη του MPTP φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο και στο φαινόμενο της ισχαιμικής προετοιμασίας (ischemic preconditioning) του μυοκαρδίου αφού έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τη διάνοιξη των πόρων κατά την επαναιμάτωση [204, 218]. Η προστασία που επάγει στο μυοκάρδιο πιθανόν να οφείλεται στη διαλείπουσα διάνοιξη των πόρων κατά τις σύντομες περιόδους ισχαιμίας που προηγούνται της παρατεταμένης διακοπής της ροής στην εκάστοτε αρτηρία [219]. Ομοίως και στο φαινόμενο της μετά-ισχαιμικής προετοιμασίας (ischemic postconditioning), όταν οι σύντομες περίοδοι ισχαιμίας εφαρμόζονται μετά την αποκατάσταση της ροής στο μέχρι πρότινος αποφραγμένο αγγείο, η αναστολή της διάνοιξης του MPTP που παρατηρείται κατά την ισχαιμία φαίνεται να επεκτείνεται και στα πρώιμα στάδια της επαναιμάτωσης, προστατεύοντας τον καρδιακό μυ [220].

Δεδομένων των συνεπειών της διάνοιξης του MPTP δεν αποτελεί έκπληξη το ότι η (φαρμακευτική) αναστολή του αντιπροσωπεύει ένα σημείο σύγκλισης για ένα πλήθος καρδιοπροστατευτικών στρατηγικών. Η μεγάλη πλειοψηφία των ζωικών πειραματικών μοντέλων αναφέρει ευεργετικές επιδράσεις στη μείωση του μεγέθους του εμφράγματος και στη διατήρηση της συστολικής καρδιακής λειτουργίας [221]. Η κυκλοφιλίνη -D, μια peptidylprolyl cis-trans ισομεράση που ευρίσκεται εντός της μιτοχονδριακής μήτρας εμπλέκεται στην εξοίδηση των μιτοχονδρίων και στη νέκρωση που προκαλούν τα ισχαιμικά ερεθίσματα τόσο in vivo όσο και in vitro. Πειραματικά μοντέλα με διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία είχε αφαιρεθεί το γονίδιο της κυκλοφιλίνης-D έδειξαν αξιοσημείωτη αντοχή στη νέκρωση από ισχαιμία και επαναιμάτωση [214].

Στρατηγικές που εντέλει τροποποιούν τη διάνοιξη του MPTP, έχουν ξεκινήσει να εμφανίζονται σε κλινικές μελέτες, σχεδιασμένες να περιορίσουν τη βλάβη επαναιμάτωσης και το μέγεθος του εμφράγματος [222, 223]. Ωστόσο, τα μέχρι τώρα αποτελέσματα είναι μάλλον απογοητευτικά [224]. Πρόσφατα οι Cung et al. δημοσίευσαν τα αποτελέσματα μιας διπλά τυφλής τυχαιοποιημένης μελέτης που διεξήχθη σε κέντρα σε Βέλγιο και Ισπανία [225]. Η μελέτη συμπεριέλαβε 970 ασθενείς με πρόσθιο STEMI, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε αγγειοπλαστική εντός 12 ωρών από την έναρξη των συμπτωμάτων και οι οποίοι είχαν πλήρη απόφραξη του ένοχου αγγείου. Σε 475 ασθενείς, σε μια προσπάθεια αναστολής της κυκλοφιλίνης

–D, χορηγήθηκε κυκλοσπορίνη (2,5 mg/kg) πριν από την πρωτογενή αγγειοπλαστική ενώ οι υπόλοιποι έλαβαν εικονικό φάρμακο (placebo). Η χορήγηση κυκλοσπορίνης δεν φάνηκε να έχει επίδραση στην κλινική έκβαση των ασθενών ή στην αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας μετά από ένα έτος

ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗ

Η ανθρώπινη ενήλικη καρδιά περιλαμβάνει περίπου 4-5 δισεκατομμύρια μυοκαρδιακά κύτταρα. Ένα μεγάλο έμφραγμα μπορεί να οδηγήσει στον ξαφνικό θάνατο ενός και πλέον δισεκατομμυρίου από αυτά. Λόγω της πτωχής αναγεννητικής της ικανότητας, η απώλεια σημαντικής ποσότητας καρδιακού μυός οδηγεί στο σχηματισμό κολλαγονώδους ουλής που αποσκοπεί στο να διατηρήσει τη δομική ακεραιότητα της κοιλίας προλαμβάνοντας καταστροφικά συμβάντα όπως η ρήξη του καρδιακού τοιχώματος. Η επούλωση εξαρτάται από μία αυστηρά συντονισμένη φλεγμονώδη απάντηση που συμπεριλαμβάνει τρία καλά διακριτά αλλά επικαλυπτόμενα στάδια: το φλεγμονώδες, το πολλαπλασιαστικό και το στάδιο της ωρίμανσης (Πίνακας 1) [226]. Ο θάνατος των μυοκαρδιακών κυττάρων ενεργοποιεί μονοπάτια του έμφυτου ανοσοποιητικού πυροδοτώντας μία έντονη, παροδική φλεγμονώδη απάντηση που χαρακτηρίζεται από την επιστράτευση λευκοκυττάρων ούτως ώστε να εκκαθαριστεί η πληγείσα περιοχή από τα νεκρά κύτταρα και να παραχθούν μοριακά σήματα για την ενεργοποίηση των κυττάρων που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση. Κατά το πολλαπλασιαστικό στάδιο, τμήματα μακροφάγων εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες επιστρατεύοντας και ενεργοποιώντας μεσεγχυματικά επιδιορθωτικά κύτταρα, ιδιαίτερα μυοϊνοβλάστες και αγγειακά κύτταρα. Οι μυοϊνοβλάστες εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες εξωκυττάρων θεμελιωδών πρωτεϊνών (ΕΘΠ) οι οποίες διατηρούν τη δομική ακεραιότητα της κοιλίας. Το τέλος του πολλαπλασιαστικού σταδίου σημειώνεται με την απόπτωση των επιδιορθωτικών κυττάρων, καθώς η πληγείσα περιοχή ωριμάζει και σχηματίζεται ουλή που περιλαμβάνει διασυνδεδεμένες ίνες (cross-linked) κολλαγόνου [226]. Ενώ η ουλή σχηματίζεται, η κοιλία διαστέλλεται για να διατηρεί την καρδιακή παροχή και τα μη εμπλεκόμενα τμήματα υφίστανται εκτεταμένη αναδιαμόρφωση λόγω της υπερφόρτισης πίεσης και όγκου (pressure and volume overload) που υφίστανται.

Μη ειδική ανοσολογική απόκριση (εγγενής ή έμφυτη ανοσία)

Το σύστημα του συμπληρώματος

Το σύστημα του συμπληρώματος, περιλαμβάνει 35 διαφορετικά είδη διαλυτών και μεμβρανικών πρωτεϊνών. Επάγει έναν καταρράκτη πρωτεολυτικών αντιδράσεων, που στοχεύει στη διατήρηση της ομοιόστασης, αναγνωρίζοντας και απομακρύνοντας κατεστραμμένο ή αλλοιωμένο κυτταρικό υλικό καθώς και εξωγενή μολυσματικά μικρόβια. Συνιστά κεντρικό κομμάτι της έμφυτης ανοσίας, λειτουργώντας ως μεσολαβητής βασικών λειτουργιών της μη ειδικής ανοσολογικής απόκρισης και ρυθμίζοντας αντιδράσεις της επίκτητης ανοσίας. Τρεις διακριτοί μηχανισμοί που ορίζονται ως το κλασικό, το εναλλακτικό και το μονοπάτι των λεκτινών ενεργοποιούν τον καταρράκτη του συμπληρώματος και οδηγούν στην κατάλυση της διάσπασης της πρωτεΐνης C3, με επακόλουθο την ενεργοποίηση της C5 και το σχηματισμό του λυτικού συμπλέγματος membrane attack complex (MAC) [227, 228]. Τόσο η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) όσο και τα IgM αντισώματα, εντοπίζονται με το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα στο ανθρώπινο ισχαιμικό μυοκάρδιο, υποδεικνύοντας ένα ρόλο στην ενεργοποίησή του [229, 230]. Η ενεργοποίηση του καταρράκτη του συμπληρώματος ρυθμίζεται από

διαφορετικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες, όπως ο αναστολέας της C1 (C1 inhibitor, C1-INH) και ο υποδοχέας του συμπληρώματος 1 (complement receptor 1, CR1) [231].

Το 1971 οι Hill και Ward ήταν οι πρώτοι που εντόπισαν διάσπαση της C3 στο ισχαιμικό μυοκάρδιο επιμυών τεκμηριώνοντας τη σύνδεση μεταξύ των λευκοκυττάρων και της ενεργοποίησης του συμπληρώματος [232]. Μερικά χρόνια αργότερα οι Pinckard et al. πρότειναν ότι η νέκρωση των κυττάρων του μυοκαρδίου οδηγεί στη απελευθέρωση υποκυτταρικών μεμβρανικών συστατικών πλούσιων σε μιτοχόνδρια, που είναι ικανά να ενεργοποιήσουν το σύστημα του συμπληρώματος [233]. Περαιτέρω κατανόηση αυτών των μηχανισμών προήλθε από τις μελέτες των Rossen et al. [234]. Οι ερευνητές προτείνουν ότι κατά την ισχαιμία, τα μιτοχόνδρια εξωθούμενα μέσω κενών στο σαρκείλημμα, ξεδιπλώνονται και απελευθερώνουν μεμβρανικά θραύσματα, στα οποία η καρδιολιπίνη είναι στενά συνδεδεμένη με πρωτεΐνες.

Προσδένοντας τη C1 και παρέχοντας θέσεις για τη πρόσδεση πρωτεϊνών του συμπληρώματος που δρουν στη συνέχεια, αυτά τα θραύσματα παρέχουν το μέσο της διάδοσης της φλεγμονώδους αντίδρασης, στην περιοχή της ισχαιμικής βλάβης. Άλλοι ερευνητές ασχολήθηκαν με το ρόλο του συμπληρώματος στην επιστράτευση των λευκοκυττάρων [235, 236].

Η γνώση αυτή πυροδότησε μια σειρά πειραματικών πρωτοκόλλων. Χρησιμοποιώντας διαφορετικούς τύπους και μορφές αναστολής του συμπληρώματος, αρχικά σε ζωικά πειραματικά μοντέλα, αυτές οι πρώτες απόπειρες είχαν ως επί το πλείστον θετικά αποτελέσματα [237-243] οδηγώντας στο συμπέρασμα πως η εκλεκτική στόχευση των παραγόντων του συμπληρώματος, μπορεί να μειώσει τη βλάβη του μυοκαρδίου κατά την ισχαιμία και την επανααιμάτωση [244, 245]. Δεδομένα από την κλινική μελέτη COMMA (Complement Inhibition in Myocardial Infarction Treated with Angioplasty) έδειξαν ότι η πεξελιζουμάμπη (pexelizumab), ένα εξανθρωπισμένο μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της C5, χορηγούμενο ως συμπληρωματική θεραπεία σε διαδερμική στεφανιαία αγγειοπλαστική (PCI) σε ασθενείς με STEMI μείωσε τη θνησιμότητα στις 90 ημέρες [246]. Μερικά χρόνια αργότερα, μία μεγάλη, πολυκεντρική, προοπτική, διπλά τυφλή κλινική δοκιμή φάσης III, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο (placebo-controlled), η APEX-AMI (Assessment of Pexelizumab in Acute Myocardial Infarction), δεν επιβεβαίωσε τις αρχικές παρατηρήσεις [247]. Μία πρόσφατη μέτα-ανάλυση επτά κλινικών μελετών, στόχο είχε να αξιολογήσει το προφίλ κινδύνου/οφέλους της πεξελιζουμάμπης (ταχεία και βραδεία έγχυση) έναντι εικονικού σκευάσματος ως συμπληρωματική αγωγή σε ασθενείς που υποβάλλονται είτε σε PCI ή σε CABG. Η χορήγηση πεξελιζουμάμπης δεν έδειξε κάποιο όφελος στην αγωγή ασθενών με STEMI που υποβλήθηκαν σε αγγειοπλαστική. Αντίθετα, μία σημαντική μείωση της τάξεως του 26% παρατηρήθηκε στο πλαίσιο της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης [248]. Σε μία μικρή μελέτη με τριάντα έναν ασθενείς που υποβάλλονταν σε θρομβολυτική θεραπεία για STEMI, η συνεχής έγχυση αναστολέα της C1 (C1-INH) μείωσε τη βλάβη του μυοκαρδίου [249]. Σε συμφωνία με αυτό το αποτέλεσμα, οι Fattouch et al. ανέφεραν ότι σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επανααιμάτωση για STEMI, η αγωγή με αναστολέα της C1 (C1-INH) είχε ως αποτέλεσμα βελτιωμένη αιμοδυναμική κατάσταση και μειωμένη απελευθέρωση καρδιακών ενζύμων [250].

Μοριακά πρότυπα σχετιζόμενα με βλάβη/κίνδυνο [damage (or danger) associated molecular patterns (DAMPs)]

Η θεωρία του «μοντέλου κινδύνου» (danger model), που αναπτύχθηκε από την Matzinger, περιγράφει ένα μοντέλο ανοσίας βασισμένο στην ιδέα ότι το ανοσοποιητικό σύστημα εστιάζει περισσότερο σε οντότητες που έχουν καταστροφική δράση παρά σε εκείνες που είναι ξένες προς τον οργανισμό [251].

Στάδιο επούλωσης	Βασικά χαρακτηριστικά
Φλεγμονώδες 1ώρα- 4ημέρες	Ενεργοποίηση του συμπληρώματος από συμπλέγματα καρδιολιπίνης και άλλων ενδογενών ανοσολογικών μονοπατιών από μόρια που συλλογικά καλούνται αλαρμίνες (όπως η πρωτεΐνη HMGB1, οι πρωτεΐνες της οικογενείας s100, η ιντερλευκίνη-1α και οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ), ακολουθούμενη από την επιστράτευση φλεγμονωδών λευκοκυττάρων που καθαίνουν την πληγείσα περιοχή από τα νεκρά κύτταρα και τα συγκρίματα τους.
Πολλαπλασιαστικό 4ώρες- 14 ημέρες	Καταστολή της προφλεγμονώδους σηματοδότησης και ενεργοποίηση αντιφλεγμονωδών μονοπατιών που οδηγούν σε περιορισμό και λύση της φλεγμονώδους αντίδρασης. Ακολουθεί διήθηση του εμφράκτου από ενεργοποιημένους ινοβλάστες και αγγειακά κύτταρα, τα οποία εκκρίνουν δομικές πρωτεΐνες υπό τη καθοδήγηση μακροφάγων και λεμφοκυττάρων.
Ωρίμανση 14 ημέρες- 2 μήνες	Πληθώρα προοδευτικών μεταβολών στα κυτταρικά στοιχεία της ουλής και στη σύνθεση των εξωκυττάρων δομών: 1. Διασύνδεση των ινών κολλαγόνου μέσω ειδικών ενζύμων, όπως η λυσολυξειδάση 2. Μείωση της έκφρασης μιας σειράς πρωτεϊνών που ρυθμίζουν την αλληλεπίδραση των κυττάρων με την εξωκυττάρια μήτρα (extracellular matrix) 3. Μείωση του αριθμού των ενεργοποιημένων μυοϊνοβλαστών. Τα απενεργοποιημένα κύτταρα μπορεί να οδηγηθούν σε απόπτωση ενώ παρουσιάζουν και μειωμένη ικανότητα σύνθεσης και έκφρασης συσταλών πρωτεϊνών 4. Αναστολή της αγγειογένεσης

Πίνακας 1. Τα τρία διακριτά, αλλά επικαλυπτόμενα στάδια της καρδιακής επιδιόρθωσης και τα κύρια χαρακτηριστικά του κάθε σταδίου.

Ενδογενή συστήματα συναγερμού τα οποία προσδιορίζονται συλλογικά ως μοριακά πρότυπα σχετιζόμενα με βλάβη/κίνδυνο (DAMPs) και τα οποία έχουν απελευθερωθεί από κύτταρα ή εξωκυττάρια ύλη που έχουν υποστεί μη αναστρέψιμες βλάβες, μπορούν να ενεργοποιήσουν μια μη ειδική ανοσολογική απόκριση και να επηρεάσουν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Έως και σήμερα, δεν είναι γνωστό αν η καρδιακή ισχαιμία οδηγεί στην έκφραση διαφορετικών DAMPs από την επαναιμάτωση ή αν ενεργοποιούνται διαφορετικά μονοπάτια σηματοδότησης. Θραύσματα υαλουρονικού και φμπρονεκτίνης, η πρωτεΐνη high-mobility group box-1, (HMGB1), οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (heat shock proteins, HSPs), το ATP και το μιτοχondριακό DNA μπορούν όλα να λειτουργήσουν ως σήματα κινδύνου μετά από έμφραγμα [251].

Η σύνθεση των HSPs αρχικά είχε συσχετισθεί μόνο με την απόκριση σε θερμικό στρες [252]. Οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες δρουν ως συνοδοί (chaperones) που προστατεύουν τις ανώτερες δομές των κυτταρικών πρωτεϊνών. Ορισμένες HSPs, όπως η HSP70 και η HSP20, φάνηκε να προστατεύουν το μυοκάρδιο από ισχαιμική βλάβη [253, 254]. Ωστόσο σε *in vivo* πειράματα σε κονίκλους απέτυχαν να μειώσουν το μέγεθος του εμφράγματος μετά από θερμικό στρες [255]. Η HSP60, μελετήθηκε πρόσφατα, και έδειξε να ευθύνεται για την επαγωγή της απόπτωσης μέσω του toll-like υποδοχέα 4 (toll-like receptor, (TLR)-4) στα μυοκαρδιακά κύτταρα [256]. Η χορήγηση αντισώματος έναντι της HSP60 ανέστειλε τόσο την απόπτωση των κυττάρων, όσο και την επαγόμενη από την HSP60 ενεργοποίηση της κινάσης που σχετίζεται με τον υποδοχέα της ιντερλευκίνης-1 (IL-1 receptor associated kinase, (IRAK)-1) και άρα την παραγωγή κυτταροκινών [257].

Ένας άλλος παράγοντας ενεργοποίησης της άμυνας του ξενιστή ή/και των οδών επιδιόρθωσης της ιστικής βλάβης είναι η πρωτεΐνη HMGB1 [258]. Αυτός ο εξελικτικά συντηρημένος πυρηνικός παράγοντας που εμπλέκεται στη σταθεροποίηση των νουκλεϊκών οξέων και τη γονιδιακή έκφραση μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα (NF)-κΒ μέσω των toll-like υποδοχέων TLR2, TLR4 και TLR9 [259, 260]. Πρόσφατα, ο υποδοχέας τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (receptor for advanced glycation end products, RAGE) ταυτοποιήθηκε ως υποδοχέας της HMGB1 [261]. Σε πρώιμα στάδια της βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης η HMGB1 παίζει κεντρικό ρόλο καθώς προσδενόμενη στο RAGE, ενεργοποιεί προφλεγμονώδη μονοπάτια και αυξάνει τη βλάβη του μυοκαρδίου [262] ενώ στη φάση της επούλωσης η HMGB1 δρα ευεργετικά [263, 264].

Δραστικά είδη οξυγόνου (ROS)

Στα δραστικά είδη οξυγόνου έχουμε αναφερθεί εκτενώς σε προηγούμενη ενότητα. Εδώ θα καλύψουμε επιγραμματικά τη δράση τους σε σχέση με τη φλεγμονώδη απόκριση και κάποια πειραματικά δεδομένα στο πλαίσιο αυτό.

Τα ROS μπορούν να ενεργοποιήσουν καταρράκτες αντιδράσεων κυτταροκινών και χυμοκινών μέσω της ενεργοποίησης του NF-κΒ [265-267] και συνεισφέρουν στη χημειοταξία των λευκοκυττάρων [268] μέσω διαφόρων μηχανισμών [81-86]. Προσφάτως, ο πόρος μετάπτωσης της μιτοχondριακής διαπερατότητας (mPTP) και ο ρόλος του στη βλάβη ισχαιμίας/επαναιμάτωσης έχει συγκεντρώσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Τα ROS μπορούν να προκαλέσουν τη διάνοιξή του, όπως θα καλύψουμε σε επόμενη ενότητα, οδηγώντας

σε ένα μηχανισμό θετικής ανατροφοδότησης απελευθέρωσης ελευθέρων ριζών από τα μιτοχόνδρια (“ROS-induced ROS release”) [269].

Μια σειρά ερευνών που εστίασαν στη δημιουργία ελευθέρων ριζών, έχουν δείξει ευεργετικά αποτελέσματα αντιοξειδωτικών παρεμβάσεων σε πειραματικά μοντέλα εμφράγματος του μυοκαρδίου [270-272]. Άλλες έρευνες έδειξαν μια αποτυχία των αντιοξειδωτικών να αποτρέψουν τη βλάβη ή έδειξαν μια πρώιμη προστατευτική δράση η οποία εξασθένησε κατά τη διάρκεια της επαναιμάτωσης [272-274]. Η χρήση ανασυνδυασμένης SOD σε ασθενείς που είχαν υποβληθεί είτε σε θρομβόλυση είτε σε PCI, στο πλαίσιο OEM, δεν οδήγησε σε κάποια σημαντική βελτίωση στην λειτουργία της αριστεράς κοιλίας [275, 276]. Το γεγονός αυτό πιθανώς να οφείλεται στην αυξημένη διάρκεια της στεφανιαίας απόφραξης, που είχε ως αποτέλεσμα ένα σχετικά μικρό αριθμό βιώσιμων μυοκυττάρων που θα μπορούσαν να επηρεαστούν από τη δράση των ROS [277].

Toll-like υποδοχείς (TLRS)

Οι Toll-like υποδοχείς (TLRs) είναι μια οικογένεια διαμεμβρανικών πρωτεϊνών στα θηλαστικά ομόλογη της πρωτεΐνη Toll στη δροσόφιλα, η οποία παίζει ρόλο στην ανάπτυξη και την ανοσία. Περιγράφησαν για πρώτη φορά στον άνθρωπο από τους Medzhitov et al. ως ένα σημαντικό κομμάτι του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος [278]. Εκφράζονται εκτενώς από μια πλειάδα διαφορετικών κυτταρικών πληθυσμών όπως είναι τα ηπατικά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και οι νευρώνες. Από τους δεκατρείς TLRs που εντοπίζονται στα θηλαστικά, δέκα εκφράζονται στον άνθρωπο. Τέσσερις από αυτούς (TLR3, TLR7, TLR8, και TLR9) βρίσκονται σε ενδοκυτταρικά κυστίδια (ενδοσώματα) ενώ οι υπόλοιποι (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, και TLR10) εντοπίζονται στην κυτταρική επιφάνεια. Ο ρόλος τους είναι η αναγνώριση μοριακών μοτίβων που σχετίζονται με παθογόνα (pathogen associated molecular patterns, PAMPs). Η σύνδεση των προσδετών τους, οδηγεί στην ενεργοποίηση διαφόρων κινασών καθώς και του NF-κΒ. Ενώ οι περισσότεροι από τους TLRs αλληλεπιδρούν με το μόριο προσαρμογέα myeloid differentiation factor 88 (MyD88) για την εκκίνηση της ενδοκυτταρικής σηματοδότησης, ο TLR4 αλληλεπιδρά, τόσο με τον MyD88 όσο και με τον προσαρμογέα επαγωγής της ιντερφερόνης-β (TIR domain-containing adapter inducing interferon-β, TRIF) (εικόνα 8). Εκτός από τα PAMPs, διάφορα DAMPs είναι ικανά να ενεργοποιήσουν το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα μέσω των οδών μετάδοσης σήματος των TLRs [279-281].

Παρά το γεγονός πως ο ρόλος των TLRs στην καρδιακή ανεπάρκεια δεν έχει διαλευκανθεί, ο TLR4 έχει αναγνωριστεί ως υποδοχέας κλειδί στην διαβίβαση της φλεγμονώδους απόκρισης στο ισχαιμικό μυοκάρδιο [282, 283]. Πρόσφατες έρευνες εμπλέκουν και τον TLR2 στη βλάβη επαναιμάτωσης και την αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας [284, 285]. Το Eritoran, ένας ειδικός ανταγωνιστής του TLR4, μείωσε το μέγεθος του εμφράγματος, τη δράση του NF-κΒ, τα επίπεδα των κυτταροκινών και τη φωσφορυλίωση της κινάσης c-Jun N- terminal kinase (JNK) σε ποντίκια άγριου τύπου που είχαν υποβληθεί σε ισχαιμία και επαναιμάτωση [286]. Το 2007, οι Kim et al. έδειξαν πως σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε ισχαιμία και επαναιμάτωση με μεταλλαγμένο TLR4 υποδοχέα, το μέγεθος του εμφράγματος και τα επίπεδα κυτταροκινών στον ορό ήταν μειωμένα χωρίς όμως αυτό να μεταφραστεί σε διατηρημένη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου [287]. Τον ίδιο χρόνο οι Sakata et al. έδειξαν πως η σηματοδότηση μέσω του TLR2 συνεισφέρει σημαντικά στη διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας που ακολουθεί την επαναιμάτωση [288]. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν πως η σηματοδότηση

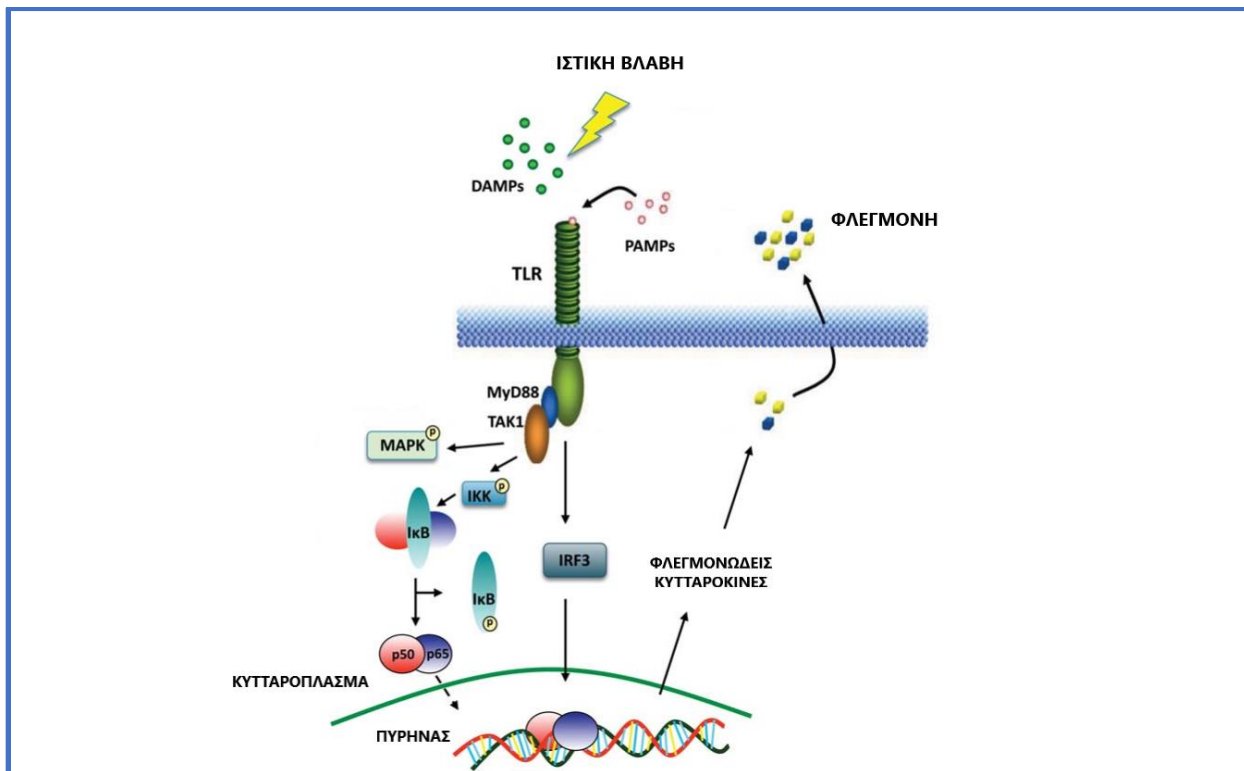
μέσω του TLR2 μπορεί να διαμορφώσει σημαντικά την απόθεση του ινώδους ιστού. Ο Chao καλύπτει εκτενώς το πώς η έλλειψη των TLR4, TLR2 και του MyD88, συνδέονται με μειωμένη φλεγμονή του μυοκαρδίου, μειωμένο μέγεθος εμφράγματος καθώς και με μειωμένη αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας μετά από ισχαιμία και επαναιμάτωση [289]. In vitro μελέτες καρδιακών μυοκυττάρων έχουν δείξει πως η ενεργοποίηση των TLR2 και TLR4 από τους προσδέτες τους, οδηγεί στην ενεργοποίηση του NF-κΒ και στην έκφραση της ιντερλευκίνης-6 (IL-6), της χυμοκίνης προερχόμενης από κερατινοκύτταρα (keratinocyte derived chemokine, KC), της φλεγμονώδους πρωτεΐνης των μακροφάγων 2 (macrophage inflammatory protein 2, MIP-2) και του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης (intercellular adhesion molecule, ICAM)-1 [290]. Η επαγόμενη από τα ROS έκφραση του TLR4 στα μυοκαρδιακά κύτταρα μπορεί να ενισχυθεί από την ιντερλευκίνη-1β (IL-1β) ή από το λιποπολυσακχαρίτη (LPS) [291]. Ενδιαφέρον αποτελεί το ότι ποντίκια που έλαβαν χαμηλές δόσεις LPS πριν υποβληθούν σε καρδιακή ισχαιμία είχαν σημαντικά μικρότερο μέγεθος εμφράγματος σε σύγκριση με ποντίκια στα οποία δεν χορηγήθηκε LPS [292]. Επίσης η απόπτωση και η δραστηριότητα της κασπάσης-3 ήταν σημαντικά μειωμένα. Αυτά τα φαινόμενα μεσολαβούνται από τα μονοπάτια της κινάσης φωσφοϊνσιτίδης-3 και της Akt (PI3K/Akt). Όμοια μονοπάτια φαίνεται να ενεργοποιούνται και στην περίπτωση του TLR2 [293]. Επιπλέον, οι Dong et al. έδειξαν ότι η προϊσχαιμική προετοιμασία επάγεται, τουλάχιστον εν μέρει, ενός σηματοδοτικού μονοπατιού που περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση του TLR2 με την πρωτεΐνη προσαρμογέα TIR domain-containing adapter protein, (TIRAP-D) [294].

Η πρόσδεση στους TLR μπορεί επιπλέον να ενεργοποιήσει μέλη της οικογένειας των πεντραξινών (PTX). Οι πεντραξίνες ανήκουν σε μία υπεροικογένεια πολυμερικών πρωτεϊνών αναγνώρισης μοτίβων (pattern recognition proteins). Χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τις οικογένειες κοντών και μακρών πεντραξινών και παίζουν βασικό ρόλο στις φλεγμονώδεις διεργασίες. Σε απόκριση σε φλεγμονώδη σήματα, τα χαρακτηριστικά μέλη της οικογένειας των κοντών πεντραξινών, CRP και το αμυλοειδές P του ορού (Serum Amyloid P (SAP) Component) παράγονται από το ήπαρ ως πρωτεΐνες οξείας φάσης [295]. Η συγκέντρωση της CRP στην περιοχή του εμφράγματος μπορεί να ενεργοποιήσει τοπικά τον καταρράκτη του συμπληρώματος [296]. Το χαρακτηριστικό μέλος της οικογένειας των μακρών πεντραξινών, PTX3, επάγεται του εμφράγματος του μυοκαρδίου και φαίνεται να παίζει ένα σημαντικό καρδιοπροστατευτικό ρόλο μέσω της ρύθμισης του καταρράκτη του συμπληρώματος [297].

Το σύστημα του πυρηνικού παράγοντα (Nuclear Factor)-κΒ (NF-κΒ)

Η υπεροικογένεια μεταγραφικών παραγόντων NF-κΒ που περιεγράφη στα θηλαστικά πριν από είκοσι πέντε και πλέον χρόνια [298], αποτελείται από πέντε τουλάχιστον γονίδια που κωδικοποιούν τα μέλη RelA (p65), RelB, c-Rel, p50, και p52 [299]. Βάσει της δομής του καρβοξυλικού άκρου η υπεροικογένεια των NF-κΒ χωρίζεται σε δύο υπο-οικογένειες. Οι περιοχές ενεργοποίησης της μεταγραφής (transcriptional activating domains, TADs) που εμπεριέχονται στο καρβοξυτελικό άκρο της υπο-οικογένειας “Rel” έχουν τη δυνατότητα να επιστρατεύουν τη βασική μεταγραφική μηχανή και να στοχεύουν περιοχές υποκινητών και ενισχυτών. Η υπο-οικογένεια “NF-κΒ”, λόγω της απουσίας των TADs προϋποθέτει το διμερισμό με μέλη της οικογένειας “Rel” για την ενεργοποίηση της μεταγραφής [299]. Σε μη ενεργοποιημένα κύτταρα, ο NF-κΒ εντοπίζεται ως ανενεργό ετεροδιμερές στο κυτταρόπλασμα (το p50/p65 είναι το επικρατέστερο σύμπλεγμα στα μυοκαρδιακά κύτταρα), δεσμευμένο από αναστολείς των κΒ (IκΒ) πρωτεϊνών. Οι σημαντικότεροι αναστολείς είναι οι: IκΒα, IκΒβ, και IκΒε. Η φωσφορυλίωση

των IκB, ένα βήμα-κλειδί στην ενεργοποίηση του NF-κB, επάγεται από την IκB κινάση (IKK). Κατά την διέγερση, η εξαρτώμενη από φωσφορύλιση αποδόμηση των IκB πρωτεϊνών μέσω ενός ρυθμιζόμενου πρωτεασωμικού μονοπατιού, οδηγεί στην ενεργοποίηση του NF-κB, ο οποίος μετατοπίζεται στον πυρήνα και προσδένεται σε περιοχές υποκινητών ή ενισχυτών των γονιδίων στόχων, εκκινώντας τη μεταγραφή τους (εικόνα 8). Τα γονίδια που ρυθμίζονται από τον NF-κB ποικίλουν και περιλαμβάνουν γονίδια που εμπλέκονται στη φλεγμονώδη αντίδραση, την προσκόλληση των κυττάρων και τον έλεγχο της ανάπτυξης [300, 301].



Εικόνα 8. TLR σηματοδότηση. Εκτός από τα PAMPs και τα DAMPs μπορούν να προσδεθούν στους TLRs και να εκκινήσουν τον ενδοκυτταρικό καταρράκτη μετάδοσης σήματος. Με εξαίρεση τον TLR3, όλοι οι TLRs αλληλεπιδρούν με την MyD88 για να ενεργοποιήσουν την TAK1, που στη συνέχεια φωσφορυλιώνει τις MAPK και IKK. Η ενεργοποιημένη IKK φωσφορυλιώνει τον αναστολέα IκB, που στη συνέχεια ουβικιτινιλιώνεται και αποδομείται. Αυτό επιτρέπει στον NFκB να μετατοπιστεί στον πυρήνα και να ξεκινήσει τη μεταγραφή προφλεγμονωδών γονιδίων. Ο TLR4 μπορεί επίσης να μεταδώσει σήμα μέσω ενός μη-εξαρτώμενου από τη MyD88 μονοπατιού, που ενεργοποιεί την IRF3 και περιλαμβάνει την τελική φάση της ενεργοποίησης του NFκB. Συντομογραφίες: DAMP, μοριακό πρότυπο που σχετίζεται με κίνδυνο; IKK, κινάση IκB, I kappa B alpha kinase; IκB, αναστολέας του πυρηνικού παράγοντα κB, inhibitor of nuclear factor kappa B; IRF3, ρυθμιστική πρωτεΐνη για ιντερφερόνες, interferon-regulatory factor 3; MAPK, κινάση ενεργοποιούμενη από μιτογόνα, mitogen-activated protein kinases; MyD88, παράγοντας 88 μυελοειδούς διαφοροποίησης, myeloid differentiation primary response 88; PAMP, μοριακό πρότυπο που σχετίζεται με παθογόνα, pathogen-associated molecular pattern; TAK1 κινάση που σχετίζεται με το

μεταμορφωτικό αυξητικό παράγοντα β, transforming-growth-factor-beta-activated kinase 1; TLR, toll-like υποδοχέας, toll-like receptor. Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [302] (με την άδεια των συγγραφέων).

Τα αποτελέσματα των μελετών για την αποσαφήνιση της δράσης του NF-κΒ στην καρδιά, μέχρι στιγμής τουλάχιστον, δεν έχουν οδηγήσει σε σαφή συμπεράσματα. Ένας αριθμός ερευνών συνηγορεί υπέρ ενός επιβλαβούς ρόλου της ενεργοποίησης του NF-κΒ. Οι Morishita et al. εισήγαγαν *in vivo*, ως «δόλωμα», συνθετικό δίκλωνο DNA με υψηλή συνάφεια για τον NF-κΒ. Δεσμεύοντας το μεταγραφικό παράγοντα και εμποδίζοντας την ενεργοποίηση των γονιδίων που μεταγράφονται κατά το έμφραγμα, κατάφεραν να μειώσουν το μέγεθος του [303]. Οι Maekawa et al. βασιζόμενοι στα πειράματά τους με ποντίκια που δεν εκφράζουν τον παράγοντα νέκρωσης όγκων α (TNF-α) πρότειναν ότι η μειωμένη ενεργοποίηση του NF-κΒ μπορεί να δικαιολογεί την καλύτερη πρόγνωση και τη μειωμένη φλεγμονώδη απόκριση που παρατηρήθηκε [304]. Επιπλέον, μοντέλα με διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία είχε κατασταλεί η ενεργοποίηση του NF-κΒ ειδικά στην καρδιά, έδειξαν μια μείωση της τάξης του 70% στο μέγεθος του εμφράγματος μετά από βλάβη ισχαιμίας και επαναιμάτωσης. Οι Frantz et al. έδειξαν πως η απουσία της υπομονάδας p50 του NF-κΒ βελτιώνει την επιβίωση στα αρχικά στάδια του εμφράγματος και μειώνει την διάταση της αριστεράς κοιλίας [305]. Σε ένα παρόμοιο μοντέλο χρησιμοποιώντας ποντίκια με εξουδετερωμένο το γονίδιο της υπομονάδας p50, μειώθηκε σημαντικά η κοιλιακή ρήξη, βελτιώθηκε η καρδιακή λειτουργία και αυξήθηκε η επιβίωση [306]. Τέλος η χορήγηση ενός αναστολέα της IKK σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε απολίνωση του προσθίου κατιόντα και επαναιμάτωση, μείωσε τη φωσφορυλίωση του IκΒα και το μέγεθος του εμφράγματος, βελτίωσε την καρδιακή λειτουργία και μείωσε τα επίπεδα των προφλεγμονωδών κυτταροκινών [307].

Άλλες έρευνες υποδεικνύουν έναν καρδιοπροστατευτικό ρόλο. Οι de Moissac et al. έδειξαν πως το πρωτεϊνικό προϊόν του γονιδίου Bcl-2 κατέστειλε τον κυτταρικό θάνατο των κοιλιακών μυοκυττάρων μέσω ενός μηχανισμού ο οποίος περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του NF-κΒ μετά από αποδόμηση του IκΒα [308, 309]. Ένα *ex vivo* μοντέλο καρδιακών μυοκυττάρων έδειξε ότι η απενεργοποίηση του NF-κΒ είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη ευαισθησία στην απόπτωση που επάγεται από τη δράση του TNF-α [310]. Παρόμοια ευρήματα περιγράφησαν και σε διαγονιδιακά ποντίκια τα οποία εμφανίζουν ελαττωματική ενεργοποίηση του NF-κΒ [311], ενώ σε ποντίκια με εξουδετερωμένο το γονίδιο p50 (p50 -/-) εμφανίστηκε έντονη δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας μετά την ισχαιμική βλάβη [312]. Το 2005 και το 2006 οι ερευνητές παρατήρησαν πως ο NF-κΒ καταστέλλει τη μεταγραφή του επαγόμενου από την υποξία προ-αποπτωτικού παράγοντα BNIP3 [313, 314], γεγονός που διερευνήθηκε περαιτέρω με σκοπό την αποσαφήνιση των μοριακών του μηχανισμών [315, 316]. Το 2011 οι Gordon et al. πρότειναν ότι η κυτταρική απόκριση εξαρτάται από επιπρόσθετους παράγοντες όπως η χρονική στιγμή και η διάρκεια της σηματοδότησης, καθώς και από περιβαλλοντικά σήματα συμπεριλαμβανομένης και της υποξίας και άλλων φλεγμονωδών σημάτων [317].

Το φλεγμονόσωμα

Το φλεγμονόσωμα, ένα πρόσφατα ανακαλυφθέν μονοπάτι της έμφυτης ανοσίας, εμπλέκεται σε έναν αριθμό από νοσήματα στα οποία πρωταγωνιστεί η άσηπτη φλεγμονή. Με δεδομένο ότι το OEM είναι

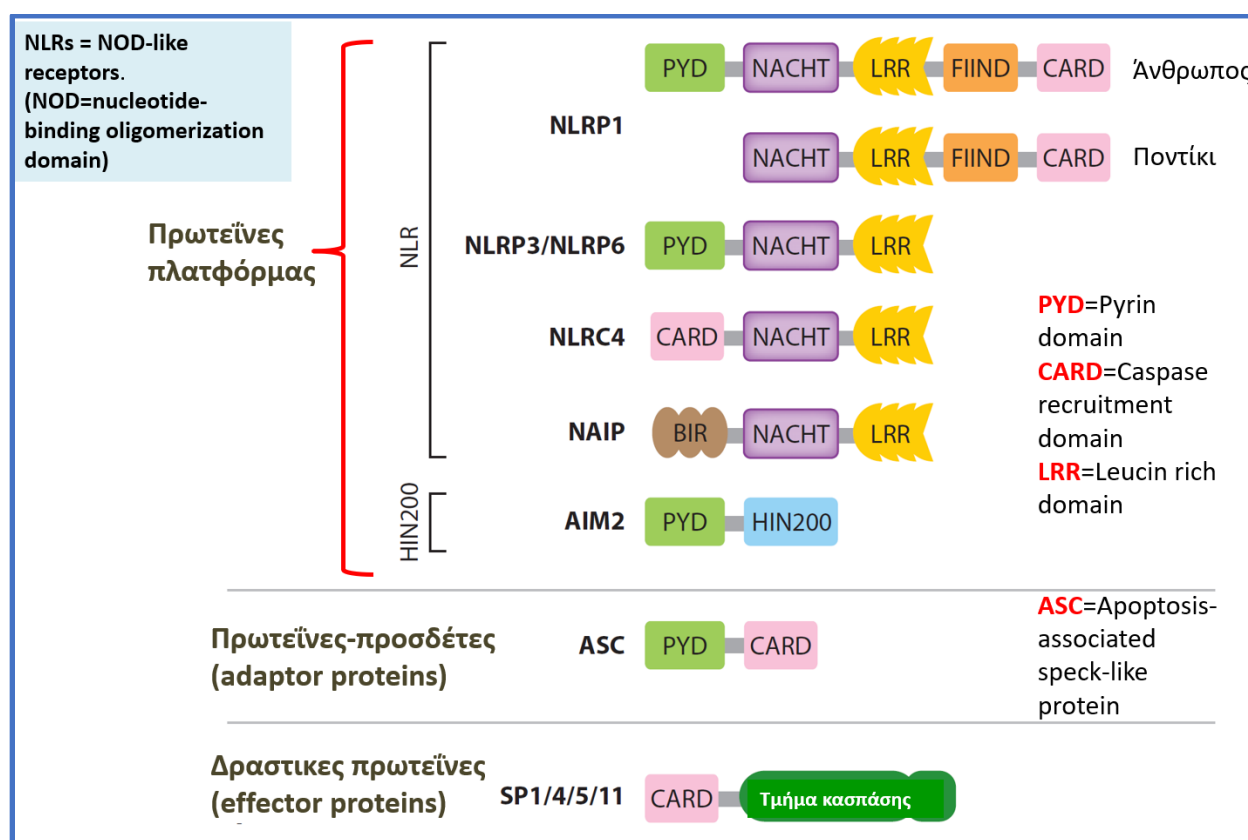
ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα άσηπτης φλεγμονής, η απόκριση στη βλάβη και η επιστράτευση φλεγμονωδών κυττάρων είναι, εν μέρει τουλάχιστον, αναμενόμενο να εξαρτώνται από αυτό [318]. Το φλεγμονόσωμα είναι ένα μεγάλο πολυπρωτεϊνικό σύμπλοκο που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και αποτελείται από πρωτεΐνες πλατφόρμας, πρωτεΐνες προσδέτες και δραστικές πρωτεΐνες [319] (εικόνα 9). Επάγει την ενεργοποίηση της κασπάσης-1. Αν και η κασπάση-1 έχει πολλές δράσεις που δεν σχετίζονται με φλεγμονόσωμα, ο κύριος ρόλος της στο φλεγμονόσωμα είναι η διάσπαση της προ-ιντερλευκίνης-1β (pro-IL-1β) στην ενεργή της μορφή IL-1β. Η ιντερλευκίνη-1α (IL-1α) και η IL-18 ανήκουν στην οικογένεια των κυτταροκινών της ιντερλευκίνης-1 (IL-1). Η κασπάση-1 μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει την IL-18 με διάσπαση της ανενεργού προ-IL-18. Αντίθετα με την προ-IL-1β και την προ-IL-18, η προ-IL-1α δεν διασπάται από την κασπάση-1, αλλά είναι ήδη ενεργή σε αυτή τη μορφή. Παρ'όλα αυτά, η διάσπαση της προ-IL-1α φαίνεται να αυξάνει τη συγγένεια της IL-1α με τον υποδοχέα της IL-1. Σε σπάνιες περιπτώσεις, η προ-IL-1α διασπάται από το εξαρτώμενο από Ca^{2+} ένζυμο καλπαΐνη [320]. Επιπλέον, η κασπάση-1 μπορεί να ρυθμίζει την έκκριση της προ-IL-1α [321]. Η ενεργοποίηση της κασπάσης-1 μέσα στο φλεγμονόσωμα έχει ως αποτέλεσμα την πυρόπτωση (εικόνα 10).

Είναι ικανό να εντοπίζει σήματα κινδύνου, όπως η αποσταθεροποίηση των λυσοσωμικών μεμβρανών και η μείωση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης K^+ , μέσω των πρωτεϊνικών υποδοχέων τύπου NOD [Nucleotide binding oligomerization (NOD) like receptors proteins, NLRPs] που περιλαμβάνει (εικόνα 9). Ένας εκ των πλέων χαρακτηριστικών υποδοχέων είναι ο NLRP3. Η παρουσία παθογόνων (μικροβιακών και μη) που δεν μπορούν να αφομοιωθούν από το λυσοσωμικό μηχανισμό οδηγεί στην ενεργοποίηση ενός δευτερεύοντος αμυντικού μηχανισμού ο οποίος χαρακτηρίζεται από τη διαρροή καθεψίνης B (cathepsin B) στο κυτταρόπλασμα καθώς και την εκροή K^+ από το κύτταρο, που οδηγούν σε αλλαγές στη διαμόρφωση των υποδοχέων. Αυτές οι αλλαγές οδηγούν στον ολιγομερισμό και την επιστράτευση ενός μακρομοριακού συμπλόκου, με μία κεντρική πρωτεΐνη ικρίωμα, γνωστή ως speck-like πρωτεΐνη σχετιζόμενης με την απόπτωση, η οποία περιέχει μία περιοχή επιστράτευσης κασπασών (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain, ASC). Η πρωτεΐνη παίρνει το όνομα της εξαιτίας της δημιουργίας μιας χαρακτηριστικής, μεγάλης περιτυρηνικής κηλίδας κατά τον σχηματισμό του στα λευκοκύτταρα.

Η παρουσία του NLRP3 και των άλλων σημαντικών παραγόντων του φλεγμονοσώματος στο κυτταρόπλασμα δεν είναι συνεχής. Η μεταγραφή τους ρυθμίζεται από τον NF-κΒ. Η ενεργοποίηση του NLRP3 στην καρδιά περιλαμβάνει δύο ανεξάρτητα στάδια, το αρχικό ερέθισμά (priming) και την ενεργοποίηση του (activation) [322]. Προφλεγμονώδη ερεθίσματα όπως κυτταρικά υπολείμματα ή μικροβιακά προϊόντα (DAMPs και PAMPs) τα οποία συνδέονται σε Toll-like υποδοχείς ή κυτταροκίνες, μπορεί να επάγουν την έκφραση του NLRP3 καθώς και άλλων συστατικών του φλεγμονοσώματος στα μυοκαρδιακά κύτταρα, τα λευκοκύτταρα καθώς και σε κύτταρα του ενδομύϊου όπως είναι οι ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα [323, 324]. Όταν η επαγωγή έχει ολοκληρωθεί και έχουν εκφραστεί τα επιμέρους συστατικά του φλεγμονοσώματος, απαιτείται ένα έναυσμα για την ενεργοποίηση του NLRP3, το οποίο σε μεγάλο μέρος, αν και όχι αποκλειστικά, εξαρτάται από την ενδοκυτταρική συγκέντρωση K^+ . Η αποσταθεροποίηση των λυσοσωμικών μεμβρανών ενεργοποιεί μια οδό σηματοδότησης η οποία έμμεσα αυξάνει τη διαπερατότητα της μεμβράνης σε K^+ και ως εκ τούτου την εκροή K^+ από το κύτταρο. Το εξωκυτταρικό ATP (που αποτελεί υποπροϊόν του κυτταρικού θανάτου) ενεργοποιεί την εκροή K^+ μέσω της πρόσδεσής του στον πουρινεργικό υποδοχέα P2X7. Η αλλαγή στη συγκέντρωση K^+ οδηγεί σε αλλαγή

της διαμόρφωσης του NLRP3, η οποία επιτρέπει την επιστράτευση της ASC [318](εικόνα 11). Επιπλέον, η διαρροή της καθεψίνης Β από τα λυσοσωμικά και αυτοφαγικά κυστίδια συμβάλλει στην ενεργοποίηση του NLRP3 και στην βλάβη του μυοκαρδίου μετά από οξύ έμφραγμα [325].

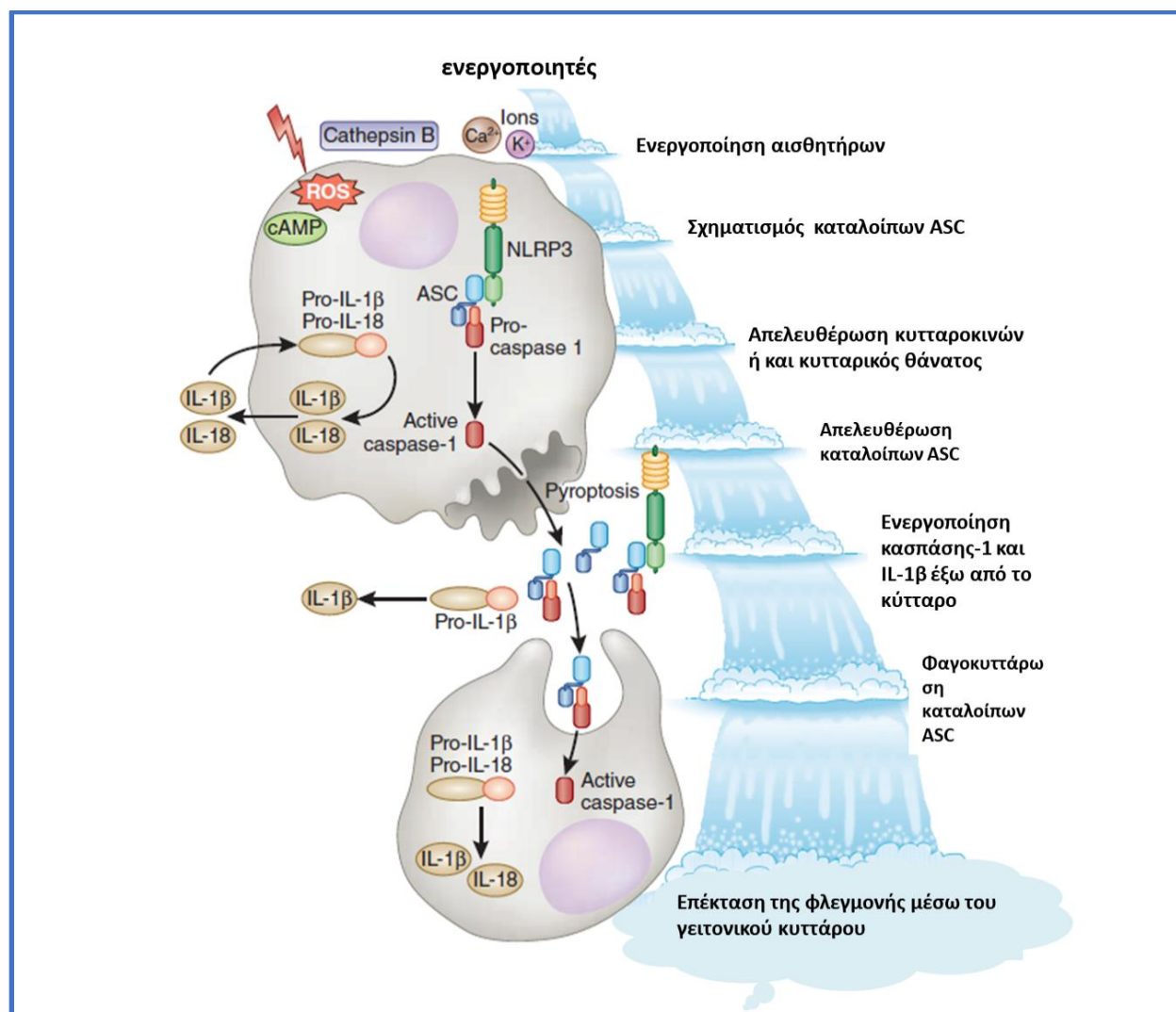
Σε ασθενείς, η τεκμηρίωση της ενεργοποίησης του NLRP3 κατά το OEM περιορίζεται σε περιπτώσεις νεκροτομής και στη μέτρηση των επιπέδων του NLRP3 και της κασπάσης-1 στο πλάσμα [323, 326]. Ωστόσο, η ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3 στην καρδιά έχει μελετηθεί σε ζωικά μοντέλα και φαίνεται να είναι «χρόνο-εξαρτώμενη». Σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε ισχαιμία και επαναιμάτωση το NLRP3 φλεγμονόσωμα σχηματίστηκε στο μυοκάρδιο μεταξύ 3 και 24 ωρών μετά το οξύ συμβάν [327] και συνετέλεσε τόσο στην φλεγμονώδη αντίδραση όσο και στην επιδείνωση της βλάβης κατά την



Εικόνα 9. Μοριακή δομή φλεγμονοσωμάτων. (Το NLRP3 είναι το πλέον χαρακτηριστικό φλεγμονόσωμα). Ο NLRP3 αποτελείται από τρεις περιοχές: ένα καρβοξυτελικό άκρο συγκροτούμενο από πλούσιες σε λευκίνη επαναλήψεις (leucine-rich repeats, LRRs), μια κεντρική περιοχή δέσμησης νουκλεοτιδίων γνωστή ως NACHT περιοχή, και ένα αμινοτελικό άκρο που περιέχει την περιοχή ενεργοποίησης (περιοχή πυρίνης [PYD]). Η ASC περιέχει ένα αμινοτελικό άκρο PYD και μία καρβοξυτελική περιοχή επιστράτευσης κασπασών (caspase recruitment domain, CARD). Η προ-κασπάση αποτελείται από μια CARD περιοχή που ακολουθείται από μία περιοχή κασπάσης. Οι LRRs του NLRP3 θεωρείται ότι έχουν την ικανότητα να εντοπίζουν πιθανούς προσδέτες, οδηγώντας στο σχηματισμό του φλεγμονοσώματος. Όταν αναγνωρίζονται σήματα κινδύνου από τις LRRs του NLRP3, η PYD περιοχή του NLRP3 αλληλεπιδρά

ομοτυπικά με την PYD περιοχή της ASC, της οποίας η CARD περιοχή επιστρατεύει και προσδένει την προ-κασπάση 1. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις τελικά σχηματίζουν το ενεργό NLRP3 φλεγμονόσωμα, που είναι απαραίτητο για την ωρίμανση και την έκκριση των IL-1 και IL-18. Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [328] (με την άδεια των συγγραφέων).

επαναιμάτωση [318, 324, 327]. Σε όσα εκ των πειραματόζων υποβλήθηκαν σε επαναιμάτωση η δράση του κορυφώθηκε μετά από 1 ημέρα ενώ σε αυτά που δεν είχαν υποβληθεί σε επαναιμάτωση μετά από 3 ημέρες. Κατά τις πρώτες φάσεις του σχηματισμού του φλεγμονοσώματος, οι κηλίδες παρατηρούνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μυοκαρδιακά κύτταρα και τους ινοβλάστες. Καθώς λευκοκύτταρα μεταναστεύουν στην περιοχή, η πλειονότητα των κηλίδων παρατηρείται εντός των κοκκιοκυττάρων και των μακροφάγων. Στη φάση επούλωσης, με την απομάκρυνση των λευκοκυττάρων, οι σχηματισμοί αυτοί παρατηρούνται πιο συχνά σε απομονωμένα μυοκαρδιακά κύτταρα ή ινοβλάστες [318, 324].



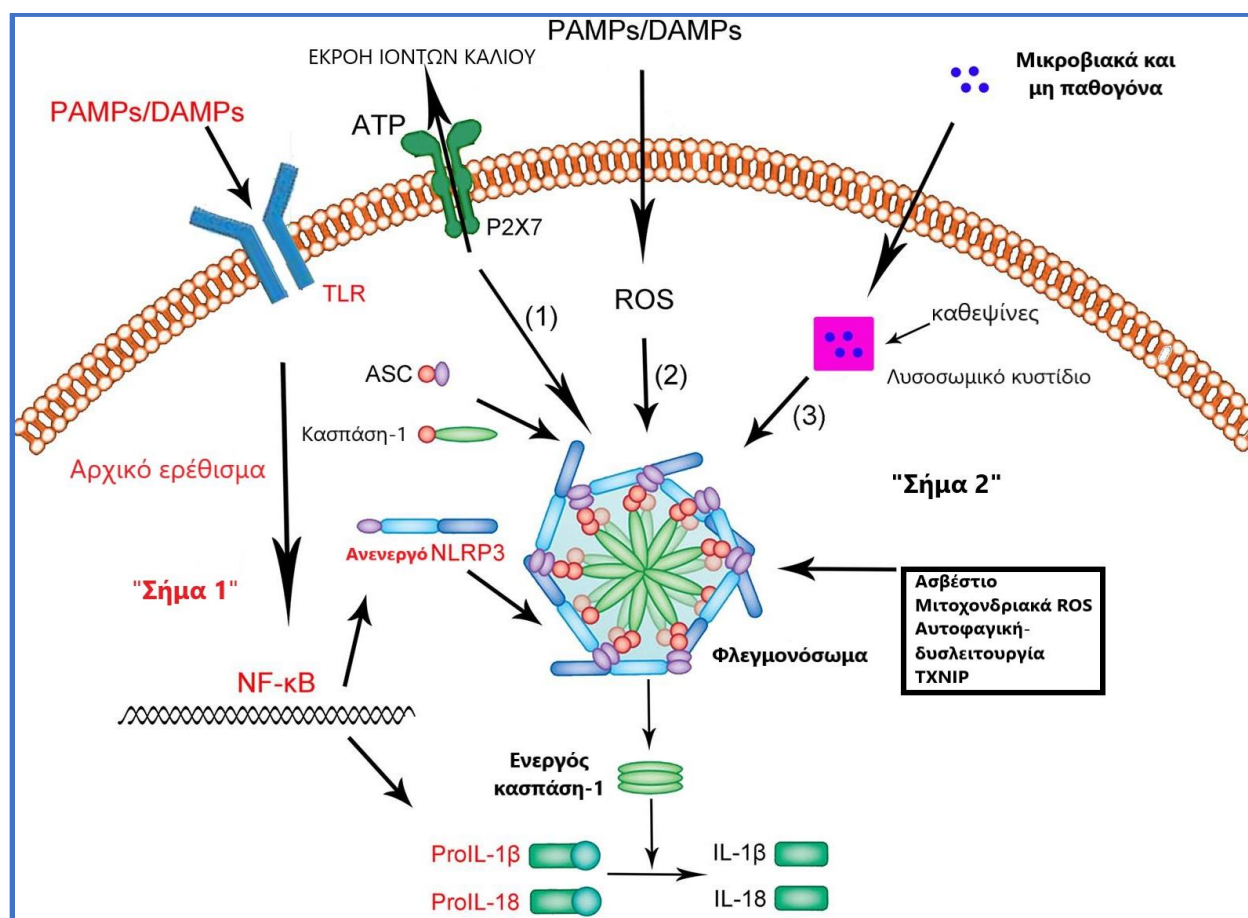
Εικόνα 10. Με την ανίχνευση οποιουδήποτε από ένα πλήθος σημάτων κινδύνου, ο αισθητήρας NLRP3 πολυμερίζεται με την ASC και την προ-κασπάση-1 για τον σχηματισμό του φλεγμονώματος NLRP3, ο οποίος οδηγεί στη διάσπαση και την απελευθέρωση της IL-1β και της IL-18. Στα κύτταρα που υποβάλλονται σε πυρόπτωση, τα φλεγμονώματα απελευθερώνονται ως κατάλοιπα ASC. Αυτή η απελευθέρωση «ωθεί» το φλεγμονόσωμα πέρα από το ενεργοποιημένο κύτταρο στο εξωκυτταρικό χώρο, όπου μπορεί να ενεργοποιήσει την ελεύθερη pro-IL-1β ή να καταναλωθεί από γειτονικά κύτταρα μέσω της φαγοκυττάρωσης, γεγονός που οδηγεί σε περαιτέρω ενεργοποίηση της κασπάσης-1, απελευθέρωση κυτταροκινών και φλεγμονή. Active caspase-1, ενεργός κασπάση-1; cathepsin B, καθεψίνη B; IL, ιντερλευκίνη; Ions, ιόντα; pro-caspase-1, προ-κασπάση-1; Pro-IL, προ-ιντερλευκίνη; ROS, δραστικά είδη οξυγόνου; Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [329] (με την άδεια των συγγραφέων).

Το αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του NLRP3 στην καρδιά εξαρτάται από τον κυτταρικό τύπο. Η επαγωγή του σχηματισμού του φλεγμονοσώματος στους ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα ή τα λευκοκύτταρα οδηγεί στην έκκριση IL-1β. Ωστόσο, τα μυοκαρδιακά κύτταρα δεν εκκρίνουν σταθερά υψηλά επίπεδα IL-1β. Παρόλα αυτά, ο σχηματισμός του NLRP3 φλεγμονοσώματος σε αυτά τα κύτταρα ενεργοποιεί την κασπάση-1 και επάγει την πυρόπτωση (εικόνα 10) [330, 331].

Ο NLRP3 δεν είναι ο μόνος υποδοχέας που μπορεί να ενεργοποιήσει την κασπάση-1 και ως εκ τούτου να επάγει την έκφραση της IL-1β και της IL-18. Άλλοι καλά χαρακτηρισμένοι υποδοχείς περιλαμβάνουν τους NLRP1, NLRC4, και την επαγόμενη από ιντερφερόνες πρωτεΐνη AIM2 (εικόνα 9). Ο ρόλος αυτών των υποδοχέων στα καρδιαγγειακά νοσήματα δεν είναι εξίσου αποσαφηνισμένος [318]. Ένα άλλο σημαντικό μέλος της ίδιας οικογένειας υποδοχέων έμφυτης ανοσίας, ο NOD2, φαίνεται να επιδεινώνει τη βλάβη του μυοκαρδίου σε ποντίκια που δεν έχουν υποβληθεί σε επαναιμάτωση [332]. Η έκφραση του NOD2 αυξήθηκε σε ποντίκια άγριου τύπου, ενώ η διαγραφή του μείωσε τη βλάβη του μυοκαρδίου και την έκφραση προ-φλεγμονωδών δεικτών, συμπεριλαμβανομένης της IL-1β [332]. Ο NOD2 φαίνεται να επάγει την ενεργοποίηση του NF-κΒ και έτσι να συμβάλλει στην έναρξη σχηματισμού του φλεγμονοσώματος.

Με τα μέχρι τώρα δεδομένα, δεν είναι σαφές, αν ο σχηματισμός του φλεγμονοσώματος λειτουργεί ως ωφέλιμος, προστατευτικός μηχανισμός ή επιδεινώνει την ήδη υπάρχουσα βλάβη. Ο σχηματισμός του φλεγμονοσώματος είναι μία ενεργοβόρος διαδικασία που εκτυλίσσεται σε τραυματισμένα κύτταρα και προκαλεί μια ταχεία φλεγμονώδη αντίδραση. Αυτός ο καταρράκτης φλεγμονωδών αντιδράσεων, προσομοιάζει στην διαδικασία άμυνας, που από εξελικτική σκοπιά προκαλείται κατά τη μικροβιακή εισβολή και έχει ως κόστος τη θυσία αυτών των πρώτων κυττάρων 'φρουρών'. Στο πλαίσιο της άσηπτης φλεγμονής όμως, αυτή η φλεγμονώδης απόκριση μπορεί να οδηγήσει σε επιπρόσθετη βλάβη με ελάχιστο όφελος [318]. Ποντίκια χωρίς το Nlrp3 γονίδιο ή στα οποία έχει γίνει αποσιώπηση του Nlrp3 με siRNA παρουσιάζουν μειωμένο μέγεθος εμφράγματος και καλύτερη καρδιακή λειτουργία από ποντίκια άγριου τύπου [323]. Οι Kawaguchi et al. ανέφεραν πως σε ποντίκια με ανεπάρκεια της ASC και της κασπάσης-1 οι φλεγμονώδεις αποκρίσεις και οι μετέπειτα βλάβες, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης εμφράγματος, της ίνωσης του μυοκαρδίου και της δυσλειτουργίας της αριστεράς κοιλίας, ήταν σημαντικά μειωμένες. Επιπλέον, πειράματα με μεταμόσχευση μυελού των οστών έδειξαν πως η ενεργοποίηση του

φλεγμονοσώματος στα κύτταρα του μυελού των οστών και σε σταθερά μυοκαρδιακά κύτταρα, όπως τα μυοκύτταρα ή οι ινοβλάστες, παίζει σημαντικό ρόλο στη βλάβη του μυοκαρδίου από ισχαιμία και την επαναιμάτωση [323]. Οι Mezzaroma et al σε ένα πειραματικό μοντέλο OEM σε ποντίκια, έδειξαν ότι η αναστολή του P2X7, ενός πουρινεργικού υποδοχέα που ενεργοποιείται από το εξωκυτταρικό ATP, και της κρυοπυρίνης, ενός ενδοκυτταρικού NLRP που λειτουργεί ως υποδοχέας σημάτων κινδύνου, απέτρεψε το σχηματισμό του φλεγμονοσώματος και μείωσε το μέγεθος του εμφράγματος [324].



Εικόνα 11. Μετά από έκθεση σε μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με παθογόνα (PAMPs) ή σε μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με κίνδυνο (DAMPs), οι υποδοχείς τύπου Toll (TLRs) φωσφορυλιώνονται και ακολούθως ενεργοποιούν τον πυρηνικό παράγοντα (NF)-κΒ. Στον πυρήνα, ο NF-κΒ προάγει τη μεταγραφή των NLRP3, προ-IL-1β και προ-IL-18, τα οποία μετά τη μετάφραση παραμένουν στο κυτταρόπλασμα σε ανενεργές μορφές. Το σήμα που απεικονίζεται με κόκκινο χρώμα ως "Σήμα 1" είναι το αρχικό ερέθισμα. Ένα επακόλουθο ερέθισμα (που εμφανίζεται ως "σήμα 2" σε μαύρο χρώμα) ενεργοποιεί το φλεγμονόσωμα NLRP3 διευκολύνοντας τον ολιγομερισμό της ανενεργού NLRP3, της σχετιζόμενης με απόπτωση πρωτεΐνης ASC και της προ-κασπάσης-1. Αυτό το σύμπλοκο, με τη σειρά του, καταλύει τη μετατροπή της προ-κασπάσης-1 σε κασπάση-1, η οποία συμβάλλει στην παραγωγή και στην έκκριση της ώριμης IL-1β και IL-18. Έχουν προταθεί τρία μοντέλα για να περιγράψουν το δεύτερο στάδιο της ενεργοποίησης του φλεγμονοσώματος: (1) Το εξωκυτταρικό ATP μπορεί να επάγει την εκροή K⁺ μέσω

ενός πόρου που εξαρτάται από τον πουρινεργικό υποδοχέα P2X7 και το ασβέστιο, γεγονός που οδηγεί στη συναρμολόγηση και την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3.(2) Τα PAMPs και τα DAMPs ενεργοποιούν τη δημιουργία ROS και προάγουν τη συναρμολόγηση και ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3. (3) Παθογόνα (μικροβιακά και μη) που δεν μπορούν να αφομοιωθούν από τα λυσοσώματα οδηγούν σε ρήξη των λυσοσωμικών μεμβρανών (χρώμα ματζέντα) και απελευθέρωση του περιεχομένου τους όπως είναι η καθεψίνη B, που με τη σειρά τους επάγουν τη συναρμολόγηση και την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3. Τέλος στη δημιουργία και ενεργοποίηση του φλεγμονώματος NLRP3, εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες και μηχανισμοί, συμπεριλαμβανομένης της μιτοχονδριακής βλάβης, της αυτοφαγικής δυσλειτουργίας και μιας πρωτεΐνης που αλληλεπιδρά με τη θειορεδοξίνη (TXNIP). IL1β, ιντερλευκίνη-1β; IL18, ιντερλευκίνη-18; ProIL1β, προ-ιντερλευκίνη-1β; ProIL18, προ-ιντερλευκίνη-18 Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [333] (με την άδεια των συγγραφέων).

Ενεργοποίηση των κυτταροκινών

Η IL-1 είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του φλεγμονώδους καταρράκτη. Η γενετική αλλοίωση του υποδοχέα τύπου 1 της IL-1 (IL-1R1), του μοναδικού υποδοχέα σηματοδότησης για την IL-1, σχετίζεται με σημαντική εξασθένηση της λευκοκυτταρικής διείσδυσης στο ισχαιμικό μυοκάρδιο [334]. Επιπλέον των προφλεγμονωδών δράσεών της, η IL-1 επάγει επίσης την εμφάνιση ενός ειδικού φαινότυπου καρδιακών ινοβλαστών, αποτρέποντας έτσι τη διαφοροποίησή τους σε μυοϊνοβλάστες και περιορίζοντας των πολλαπλασιασμό τους [335]. Επομένως, η IL-1 δύναται να καθυστερήσει την ενεργοποίηση ενός πρώιμου προγράμματος δράσης των καρδιακών ινοβλαστών, έως ότου ολοκληρωθεί η κάθαρση από νεκρά κύτταρα και υπολείμματα της μυοκαρδιακής εξωκυτταρικής μήτρας [336].

Η προφλεγμονώδης κυτταροκίνη TNF-α απελευθερώνεται επίσης στο ισχαιμικό μυοκάρδιο και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της σύνθεσης κυτταροκινών, μέσω μονοκυττάρων που διηθούν την περιοχή του εμφράγματος [337]. Πειραματικές μελέτες σε ποντίκια έδειξαν πως, πέραν των προφλεγμονωδών δράσεών της, ο TNF-α μπορεί επιπλέον να ασκεί κυτταροπροστατευτική δράση μέσω ποικίλων επιδράσεων, που περιλαμβάνουν τους υποδοχείς TNFR1 και TNFR2 [338, 339]. Τα ποικίλα αποτελέσματα του TNF-α μπορεί να εξηγούν τις πολυλειτουργικές in vivo δράσεις του και ως ένα βαθμό, μπορεί να εξηγούν και τις αποτυχίες σχετικά με τη χρήση αντι-TNF στρατηγικών σε ασθενείς σε έμφραγμα του μυοκαρδίου ή καρδιακή ανεπάρκεια.

Η αυξορύθμιση (upregulation) αρκετών κυτοκινών της οικογένειας των κυτταροκινών της IL-6 (όπως η IL-6, η καρδιοτροφίνη-1, η ογκοστατίνη-M και ο ανασταλτικός παράγων λευχαιμίας/LIF) παρατηρείται στην συντριπτική πλειοψηφία των πειραματικών μοντέλων εμφράγματος [340]. Οι εν λόγω κυτταροκίνες δρουν μέσω υποδοχέων που έχουν ως κοινό τη διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη (gp) 130 [341]. Ο ρόλος τους στη ρύθμιση της φλεγμονώδους αντίδρασης μετά από έμφραγμα παραμένει ανεπαρκώς κατανοητός, καθώς οι πειραματικές μελέτες έχουν αποδώσει αντικρουόμενα αποτελέσματα. Σε ένα μοντέλο ισχαιμίας και επαναιμάτωσης το γενετικό έλλειμμα της IL-6 δεν επηρέασε το μέγεθος του εμφράγματος, την λειτουργία και την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας [342], καταδεικνύοντας πως ελλείψει των IL-6, άλλες gp130 κυτταροκίνες μπορούν να δράσουν κατά αντισταθμιστικό τρόπο,

ενεργοποιώντας το μηχανισμό σηματοδότησης JAK/STAT και συντηρώντας τη διαδικασία φωσφορυλίωσης του παράγοντα μεταγραφής STAT3. Από την άλλη πλευρά, η αναστολή της IL-6 μέσω της χορήγησης ενός αντισώματος έναντι του υποδοχέα της μείωσε την ανάστροφη αναδιαμόρφωση [343]. Τέλος η γονιδιακή θεραπεία με LIF είχε ευεργετικά αποτελέσματα που οι ερευνητές απέδωσαν στην προστασία των ισχαιμικών μυοκαρδιακών κυττάρων και στην ενεργοποίηση αναπλαστικών οδών [344].

Οι χημειοκίνες

Η επαγωγή των χημειοκινών είναι το σήμα κατατεθέν της φλεγμονώδους φάσης που έπεται του εμφράγματος. Αρκετά μέλη της οικογένειας των χημειοκινών εμπλέκονται στη στρατολόγηση υποπληθυσμών λευκοκυττάρων στην πληγείσα περιοχή [345]. Οι CC χημειοκίνες, όπως η MCP-1/CCl-2 (monocyte chemoattractant protein), έλκουν προφλεγμονώδη μονοκύτταρα στην περιοχή του εμφράγματος [346]. Οι CXC χημειοκίνες που περιέχουν την “ELR” (Glu-Leu-Arg) τριπεπτιδική αλληλουχία (όπως η IL-8/CXCL8) λειτουργούν ως ισχυρές χημειοελκτικές ουσίες για τα ουδετερόφιλα [347], ενώ οι ELR-αρνητικές CXC χημειοκίνες [όπως η επαγόμενη πρωτεΐνη από την ιντερφερόνη-γ- (IP)-10/CXCL10] δεν επηρεάζουν τη χημειοταξία των ουδετερόφιλων αλλά μπορεί να στρατολογήσουν υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων και να ασκήσουν αντι-ινώδη και αγγειοστατική δράση [348]. Οι χημειοτακτικές δράσεις των χημειοκινών εξαρτώνται από την πρόσδεσή και ακινητοποίησή τους από τις γλυκοζαμινογλυκάνες της ενδοθηλιακής επιφάνειας των μικρών αγγείων της περιοχής του εμφράγματος ή από αυτές της εξωκυτταρικής μήτρας. Υποομάδες λευκοκυττάρων που εκφράζουν συγκεκριμένους υποδοχείς χημειοκινών αιχμαλωτίζονται από ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα και μετακινούνται στην ενδοθηλιακή επιφάνεια (μέσω μηχανισμών μεσολαβούμενων από τη σελεκτίνη), όπως θα περιγράψουμε σε επόμενη ενότητα.

Τα κύτταρα που συμμετέχουν στην φλεγμονώδη αντίδραση

Τα μυοκαρδιακά κύτταρα

Ο θάνατος των μυοκαρδιακών κυττάρων αποτελεί το κύριο ερέθισμα της φλεγμονώδους αντίδρασης. Τα νεκρά μυοκαρδιακά κύτταρα απελευθερώνουν ένα ευρύ φάσμα σημάτων κινδύνου, ενεργοποιώντας φλεγμονώδεις καταρράκτες στους ινοβλάστες, στα κύτταρα του ανοσοποιητικού και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Και τα κύτταρα που επιβιώνουν όμως, ως απόκριση στα σήματα κινδύνου, συνθέτουν και εκκρίνουν ένα μεγάλο αριθμό κυτταροκινών [349]. Σε πειραματικά μοντέλα, τα μυοκαρδιακά κύτταρα που βρίσκονται στα σύνορα της ισχαιμικής περιοχής αποτελούν μια σημαντική πηγή φλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) [340], ενώ παρουσιάζουν και ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος και ως εκ τούτου παραγωγή και έκκριση IL-1β και IL-18.

Οι ινοβλάστες

Τις πρώτες ώρες μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου, οι καρδιακοί ινοβλάστες συμμετέχουν στη φλεγμονώδη αντίδραση ενεργοποιώντας το φλεγμονόσωμα, που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή και την έκκριση ενεργού IL-1β [323]. Οι ενεργοποιημένοι καρδιακοί ινοβλάστες είναι επιπλέον ικανοί να συνθέτουν μεγάλα ποσά προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών [350]. Μολαταύτα, εξαιτίας των περιορισμένων *in vivo* στρατηγικών για την εξειδικευμένη γονιδιακή τους στόχευση, η σχετική

συνεισφορά των ινοβλαστών στην έναρξη και εξέλιξη της μετεμφραγματικής φλεγμονώδους αντίδρασης παραμένει άγνωστη.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα

Τα DAMPs και τα υπόλοιπα μόρια που απελευθερώνονται από τα νεκρά μυοκαρδιακά κύτταρα καθώς και τα παραγόμενα κατά την επαναιμάτωση ROS ενεργοποιούν τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, επάγοντας την έκφραση μορίων προσκόλλησης στην επιφάνεια τους και επιτρέποντας την αλληλεπίδραση τους με τα λευκοκύτταρα που βρίσκονται στην κυκλοφορία (όπως θα αναλύσουμε λίγο παρακάτω). Μελέτες σε ζωικά μοντέλα εμφράγματος, καταδεικνύουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα ως μία βασική πηγή προφλεγμονωδών χημειοκινών (όπως οι CCL2 και CXCL10) [348]. Ωστόσο, ο μικρός αριθμός *in vivo* πειραμάτων που στοχεύουν εξειδικευμένα την ενδοθηλιακή φλεγμονώδη σηματοδότηση δεν επιτρέπει τη σαφή εκτίμηση του μεγέθους της συνεισφορά τους στη μετεμφραγματική φλεγμονώδη αντίδραση.

Τα αιμοπετάλια

Εκτός του ρόλου τους στην αιμόσταση και τη θρόμβωση, τα αιμοπετάλια φαίνεται επίσης να παίζουν ρόλο στην ιστική βλάβη και επιδιόρθωση. Συρρέουν στην πληγείσα περιοχή και συμβάλλουν στη διαμόρφωση ενός προσωρινού ινώδους υποστρώματος το οποίο είναι κρίσιμο για την επιστράτευση κυττάρων από το αίμα και την μετανάστευση των μεσεγχυματικών κυττάρων στο στάδιο της αποκατάστασης [351]. Κατά τη διαδικασία προσκόλλησης, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια απελευθερώνουν ισχυρές φλεγμονώδεις και μιτογενετικές ουσίες στο τοπικό μικροπεριβάλλον μεταβάλλοντας τις χημειοτακτικές, συγκολλητικές και πρωτεολυτικές ιδιότητες των ενδοθηλιακών κυττάρων και υποστηρίζοντας τη χημειοταξία, την προσκόλληση και τη μετανάστευση των μονοκυττάρων στο σημείο της φλεγμονής [352]. Επίσης εκκρίνουν ή εκφράζουν πρωτεΐνες προσκόλλησης (όπως είναι το ινωδογόνο, η φιβρονεκτίνη, ο παράγοντας von Willebrand, η θρομβοσπονδίνη, η P- σελεκτίνη, η γλυκοπρωτεΐνη IIb/IIIa), αυξητικούς παράγοντες (όπως είναι ο προερχόμενος από τα αιμοπετάλια (PDGF), ο μετασχηματισμού (TGF)-β, ο ενδοθηλιακός, ο ινοβλαστών (FGF)], χημοκίνες (όπως οι ρυθμιζόμενες κατά την ενεργοποίηση, οι εκφραζόμενες και εκκρινόμενες από τα T-κύτταρα (RANTES, CCL5), ο αιμοπεταλιακός παράγοντας 4 (PF4), η επιθηλιακή πρωτεΐνη ενεργοποίησης ουδετεροφίλων 78], παράγοντες που ομοιάζουν με κυτοκίνες (όπως η ιντερλευκίνη 1β, ο υποδοχέας κλάσματος διαφοροποίησης (CD) 40, η β- θρομβοσφαιρίνη] και παράγοντες πήξης (όπως οι παράγοντες V, XI, ο αναστολέας ενεργοποίησης πλασμινογόνου-1, το πλασμινογόνο, και η πρωτεΐνη S) [352]. Το κατά πόσον οι παράγοντες που προέρχονται από τα αιμοπετάλια συμβάλλουν στο τελικό μέγεθος του εμφράγματος δεν έχει αποσαφηνιστεί. Τέλος, τα αιμοπετάλια πυροδοτούν την ενεργοποίηση του συμπληρώματος και παίζουν ρόλο στον περιορισμό της φλεγμονώδους απάντησης στο χώρο του πληγέντος μυοκαρδίου [353].

Τα ουδετερόφιλα

Τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα κύτταρα που επιστρατεύονται στο ισχαιμικό μυοκάρδιο. Η κινητοποίηση τους επάγεται δια μέσου της αλληλεπίδρασης τους με τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων. Καθοριστικό ρόλο στην αλληλεπίδραση αυτή παίζουν τρεις κατηγορίες μορίων προσκόλλησης: οι σελεκτίνες, οι ιντεγκρίνες και κάποια μόρια που ανήκουν στην υπερικογένεια των

ανοσοσφαιρινών, όπως το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης (intercellular adhesion molecule, ICAM)-1, το μόριο προσκόλλησης αγγειακού κυττάρου (vascular cell adhesion molecule, VCAM)-1 και το μόριο προσκόλλησης αιμοπεταλίου- ενδοθηλιακού κυττάρου (platelet–endothelial cell adhesion molecule, PECAM)-1 [354].

Οι σελεκτίνες είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που προάγουν την πρόσδεση και την κύλιση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο των μετατριχοειδικών αγγείων. Η ασθενής αλληλεπίδραση των λευκοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα οφείλεται στην αλληλεπίδραση των πρωτεϊνικών υποδοχέων των σελεκτινών με γλυκοπρωτεΐνες που φέρουν εξειδικευμένες ομάδες σακχάρου, οι οποίες έχουν χαρακτηριστικά παρόμοια με της βλεννίνης. Τρεις κυρίως σελεκτίνες εμπλέκονται στη μυοκαρδιακή βλάβη: η L-σελεκτίνη που εκφράζεται από τα λευκοκύτταρα, η E-σελεκτίνη που εκφράζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και η P-σελεκτίνη που εκφράζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια. Ο ακριβής τους ρόλος δεν είναι καλά κατανοητός. Σημαντική φαίνεται να είναι και η λειτουργία του γλυκοπρωτεϊνικού υποδοχέα PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1) της P-σελεκτίνης. Η δέσμευση της P-σελεκτίνης από τον προσδέτη της είναι συχνά το πρώτο στάδιο που ρυθμίζει τις αλληλεπιδράσεις προσκόλλησης λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων [355]. Μετά την ενεργοποίηση των ουδετεροφίλων η απόσχιση (shedding) της L-σελεκτίνης από την επιφάνεια τους επηρεάζει την ταχύτητα κύλισης και επιστράτευσης τους [356]. Μελέτες σε ζωικά μοντέλα ισχαιμίας και επανααιμάτωσης έχουν δείξει πως ο αποκλεισμός της P- και της L-σελεκτίνης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της μυοκαρδιακής νέκρωσης, του μεγέθους του εμφράκτου και της συγκέντρωσης των ουδετερόφιλων στο μυοκάρδιο [357, 358]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η E-σελεκτίνη είναι η κυρίαρχη σελεκτίνη στον άνθρωπο, ενώ η P-σελεκτίνη είναι η κυρίαρχη σελεκτίνη στα ποντίκια. Με αυτό ως δεδομένο ο «κεντρικός ρόλος» της P-σελεκτίνης που περιγράφεται από μελέτες σε ποντίκια μπορεί κάλλιστα να μην ισχύει στον άνθρωπο όπου πιθανότατα η E-σελεκτίνη κατέχει αυτή τη θέση [355].

Οι ιντεγκρίνες είναι μια οικογένεια διαμεμβρανικών γλυκοπρωτεϊνικών υποδοχέων που αλληλεπιδρούν με μόρια που βρίσκονται στον εξωκυττάριο χώρο, όπως είναι η φιβρονεκτίνη και το κολλαγόνο, προάγοντας τη σύνδεση μεταξύ κυττάρων ή μεταξύ κυττάρων και εξωκυττάριου χώρου. Παράλληλα χρησιμεύουν και ως αμφίδρομοι «κόμβοι» που μεταδίδουν σήματα μεταξύ των κυττάρων και του περιβάλλοντος τους [359]. Δομικά αποτελούνται από συνδυασμούς διαφόρων τύπων αλυσίδων α και β και αναγνωρίζονται ανοσοφαινοτυπικά, επειδή πολλές από αυτές έχουν χαρακτηριστικά CD (cluster of differentiation) αντιγονικά μόρια. Ο ετεροδιμερισμός των 18 α- και των 8 β-υπομονάδων μέσα στον ενδοπλασματικό δίκτυο οδηγεί στο σχηματισμό 24 διαφορετικών υποδοχέων [360]. Εξ αυτών οι β2-ιντεγκρινές (CD18) και πιο συγκεκριμένα η LFA-1 (γνωστή και ως CD11a/CD18) και η Mac-1 (γνωστή και ως CD11b/CD18) είναι τα μόρια που αλληλεπιδρούν με το μόριο ICAM-1 που εκφράζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και επιτρέπουν τη στενή προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο και τη διαπίδυσή τους στο ισχαιμικό μυοκάρδιο [354]. Ο αποκλεισμός της LFA-1 εμποδίζει τη διαπίδυση και μειώνει την εξαγγείωση των ουδετεροφίλων [361]. Μελέτες με αντισώματα έναντι των ιντεγκρινών και μελέτες με γενετικά τροποποιημένα πειραματόζωα, φανερώνουν το πρωτεύοντα ρόλο τους στην επιστράτευση των ουδετεροφίλων στο ισχαιμικό μυοκάρδιο [362].

Την ίδια στιγμή, τα ουδετερόφιλα που προσκολλώνται στην ενδοθηλιακή επιφάνεια του αυλού, αλλάζουν το σχήμα τους και υιοθετούν τη χαρακτηριστική διπολική διαμόρφωση που θα τους επιτρέψει

να διαπηδήσουν στην περιοχή που φλεγμαίνει [363, 364]. Ο πιο απλός τρόπος προσπέλασης του ενδοθηλιακού φραγμού είναι το χάσμα μεταξύ δύο γειτονικών κυττάρων. Η μετανάστευση των ουδετεροφίλων δια της παρακυττάριας οδού, καλείται διαινοδοθηλιακή, και υποστηρίζεται από την ενεργό συμμετοχή πληθώρας συνδετικών μορίων, όπως το PECAM-1, το CD99, το ICAM-2 και μέλη της οικογένειας JAM (junctional adhesion molecule,) [365]. Κατά τη διεργασία αυτή τα ενδοθηλιακά κύτταρα μειορρυθμίζουν πολλούς από αυτούς τους παράγοντες και συσπώνται διευκολύνοντας τη μετανάστευση των ουδετεροφίλων [366].

Η διήθηση των ουδετεροφίλων στο ισχαιμικό μυοκάρδιο συνοδεύεται από την παραγωγή ROS και πρωτεολυτικών ενζύμων που σκοπό έχουν να καθαρίσουν την πληγείσα περιοχή από νεκρά κύτταρα και αλλοιωμένες δομές του εξωκυττάρια χώρου [354]. Πειραματικά δεδομένα που προήλθαν κυρίως από μελέτες σε μοντέλα ισχαιμίας και επαναιμάτωσης σε μεγάλα πειραματόζωα πρότειναν ότι τα ουδετερόφιλα μπορεί να συντελέσουν στην επέκταση της ισχαιμικής βλάβης μέσω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ενεργοποιημένων ιντεγκρινών στην επιφάνεια τους και μορίων όπως το ICAM-1 στην επιφάνεια βιώσιμων μυοκυττάρων [367, 368]. Παρεμβάσεις που πραγματοποιήθηκαν κατά βάση στη φάση της ισχαιμίας και στόχευαν στην μείωση του αριθμού ή/και της δράσης αυτών των κυττάρων είχαν σε πολλές περιπτώσεις ως αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους του εμφράγματος [369, 370]. Ωστόσο μεταγενέστερες μελέτες αμφισβήτησαν τη σημασία της κυτταροτοξικής δράσης των ουδετεροφίλων στο μέγεθος του εμφράγματος ενώ η βλάβη επαναιμάτωσης παρατηρείται και σε πειραματικά μοντέλα που στερούνται ουδετεροφίλων [334, 370-372]. Τα κλινικά στοιχεία που επιβεβαιώνουν αυτή τη συμμετοχή στους ανθρώπους είναι στην καλύτερη των περιπτώσεων ελλιπή. Στην πολυκεντρική, διπλά τυφλή μελέτη LIMIT-AMI, ασθενείς με STEMI που υποβλήθηκαν σε αγγειοπλαστική εντός 12 ωρών από την έναρξη των συμπτωμάτων έλαβαν ανασυνδυασμένο εξανθρωπισμένο μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της CD18 ή εικονικό φάρμακο χωρίς να παρατηρηθεί κάποια διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στο μέγεθος του εμφράγματος ή στην ροή του ένοχου επικαρδιακού αγγείου [373]. Αρνητικά αποτελέσματα είχε και η χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θρομβόλυση αν και σε αυτή την περίπτωση παρατηρήθηκε μια στατιστικά μη σημαντική τάση για μείωση της θνητότητας [374].

Τέλος, τα ουδετερόφιλα μπορεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στην επούλωση του εμφράκτου εκκρίνοντας κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Σε ένα μοντέλο ισχαιμίας χωρίς επαναιμάτωση, η μείωση των ουδετεροφίλων είχε ως αποτέλεσμα την επιδείνωση της καρδιακής λειτουργίας, την αυξημένη ίνωση και την προοδευτική αύξηση των βιοδεικτών που σχετίζονται με την καρδιακή ανεπάρκεια [375]. Αυτό συνοδεύτηκε και από μειωμένη έκφραση του φαγοκυτταρικού υποδοχέα MerTK (myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase) ο οποίος επιτρέπει την κάθαρση των μυοκαρδιακών κυττάρων που υποβάλλονται σε απόπτωση [376]. Όπως όλα τα αποπτωτικά κύτταρα, έτσι και τα ουδετερόφιλα, εκφράζουν σήματα εντοπισμού (find me signals), όπως λιπιδικούς μεσολαβητές και νουκλεοτίδια, και σήματα κατανάλωσης (eat me signals), όπως λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, ώστε να ευοδωθεί η κάθαρση των συγκριμάτων τους. Η «υποχώρηση» της φλεγμονής πραγματοποιείται μέσω δύο μηχανισμών. Ο πρώτος περιλαμβάνει μεσολαβητές, όπως η λακτοφερίνη και η ανεξίνη A1, που απελευθερώνονται από αποπίπτοντα ουδετερόφιλα αναστέλλοντας την επιστράτευσής τους [377], ενώ ταυτόχρονα έλκουν και τα φαγοκύτταρα. Ο δεύτερος μηχανισμός περιλαμβάνει την ενεργοποίηση ενός αντιφλεγμονώδους

μηχανισμού στα μακροφάγα τα οποία μετά τη φαγοκυττάρωση των ουδετεροφίλων απελευθερώνουν IL-10, TGF- β , λιποξίνες και λυσίνες [378].

Τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα

Εξαιτίας της αφθονίας τους, της ανομοιογένειας και της φαινοτυπικής τους πλαστικότητας, οι υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων και των μακροφάγων διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της μετεμφραγματικής φλεγμονώδους και επανορθωτικής αντίδρασης [379]. Η καρδιά διαθέτει ένα ετερογενές σύνολο αυτόχθονων μακροφάγων. Η εξέλιξη των κυττάρων αυτών μετά από έμφραγμα συνήθως εξαρτάται από τη διάρκεια της ισχαιμικής αντίδρασης. Στο μη επαναιματωθέν έμφραγμα, τα αυτόχθονα καρδιακά μακροφάγα αντικαθίστανται από κύτταρα που προέρχονται από τα μονοκύτταρα του αίματος [380], που με τη σειρά τους προέρχονται από κύτταρα του μυελού των οστών ή από εναλλακτικές, εξωμυελικές πηγές, όπως ο σπλήνας [381]. Κατά τη διάρκεια των πρώτων ωρών μετά την επαναιμάτωση, η ενεργοποίηση του συμπληρώματος, η παραγωγή της χημειοκίνης CCL2 και η ενεργοποίηση του TGF- β παίζουν σημαντικό ρόλο στη στρατολόγηση προφλεγμονωδών μονοκυττάρων στο μυοκάρδιο [382]. Οι υποπληθυσμοί των μονοκυττάρων που εκφράζουν τον υποδοχέα της CCL2 εμφανίζουν ισχυρές προφλεγμονώδεις και φαγοκυτταρικές ιδιότητες. Αν και οι μοριακοί μηχανισμοί κατά το στάδιο της επούλωσης δεν είναι καλά κατανοητοί, η στρατολόγηση συγκεκριμένων υποπληθυσμών μονοκυττάρων, με επανορθωτικές ιδιότητες, μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση των ινοβλαστών και των ενδοθηλιακών κυττάρων, προάγοντας το σχηματισμό ουλής.

Τα μονοκύτταρα που διηθούν την περιοχή υφίστανται φαινοτυπικές αλλαγές. Η ωρίμανση των μονοκυττάρων σε ώριμα μακροφάγα περιλαμβάνει την τοπική αύξηση αυξητικών παραγόντων όπως ο M-CSF (Macrophage-colony Stimulating Factor) [383]. Πειραματικά δεδομένα από ένα μοντέλο εμφράγματος του μυοκαρδίου σε ποντίκια έδειξαν ότι τα Ly6C (high) μονοκύτταρα που στρατολογήθηκαν στο έμφραγμα προκαλούν αύξηση στα Ly-6C(low)/F4/80(high) μακροφάγα. Αυτά τα κύτταρα παρουσιάζουν σημαντική πολλαπλασιαστική δραστηριότητα. Τα μακροφάγα είναι κύτταρα με υψηλή πλαστικότητα, γεγονός που τους επιτρέπει τη διαφοροποίηση σε υποσύνολα με αγγειογενετικές, ινωδογόνες, αντιφλεγμονώδεις ακόμα και αναγεννητικές ιδιότητες. Επομένως, οι υποπληθυσμοί των μακροφάγων μπορούν να διαδραματίσουν πολλαπλούς ρόλους στο μυοκάρδιο. Πρώτον, φαγοκυτταρώνουν τα νεκρά κύτταρα και τα υπολείμματα του εξωσκελετού, καθαρίζοντας το έμφραγμα από αποπτωτικά ουδετερόφιλα και μυοκαρδιακά κύτταρα. Δεύτερον, μπορούν να χρησιμεύσουν ως πηγή κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων, ρυθμίζοντας τη φλεγμονώδη δραστηριότητα, την ανάπτυξη και ενεργοποίηση των ινοβλαστών καθώς και το σχηματισμό και ωρίμανση των νέων αγγείων. Τρίτον, δύνανται να συμβάλλουν στην αναδόμηση της εξωκυττάριας μήτρας, παράγοντας μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) και τους αναστολείς αυτών.

Τα Μαστοκύτταρα

Η αποκοκκίωση των καρδιακών μαστοκυττάρων στην ισχαιμική περιοχή έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση προσχηματισμένων αλλά και νεοσχηματισθέντων προφλεγμονωδών μεσολαβητών, συμπεριλαμβανομένης της ισταμίνης και του TNF- α [337]. Με δεδομένο ότι άλλοι, πολυπληθέστεροι κυτταρικοί τύποι έχουν την ικανότητα να συνθέτουν και να απελευθερώνουν μεγάλα ποσά

προφλεγμονωδών κυτταροκινών, η αναλογική συνεισφορά των μαστοκυττάρων στη μετεμφραγματική φλεγμονώδη απάντηση παραμένει άγνωστη.

Τα λεμφοκύτταρα

Οι υποπληθυσμοί των λεμφοκυττάρων διηθούν ταχέως την πληγείσα περιοχή και παίζουν σημαντικό ρόλο αναφορικά με τη διάδοση της μετεμφραγματικής φλεγμονώδους απάντησης [384]. Πρόσφατα πειραματικά δεδομένα ανέδειξαν το σημαντικό ρόλο των Β λεμφοκυττάρων στην κινητοποίηση και ενεργοποίηση προφλεγμονωδών μονοκυττάρων μετά το έμφραγμα [385, 386].

Η εξωκυτταρική μήτρα κατά τη φλεγμονώδη φάση

Η καρδιά υποστηρίζεται από ένα σύνθετο δίκτυο εξωκυτταρικής ουσίας που είναι γνωστή ως μήτρα. Οι πρωτεΐνες της μήτρας δεν παρέχουν απλώς μηχανική υποστήριξη, αλλά παίζουν και σημαντικό ρόλο στην επιβίωση και τη λειτουργία των μυοκαρδιακών κυττάρων. Μετά το έμφραγμα η εξωκυττάρια μήτρα δεν ακολουθεί απλά τις μεταβολές στο κυτταρικό περιβάλλον, αλλά ρυθμίζει τον κυτταρικό φαινότυπο και την κυτταρική λειτουργία.

Ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών

Στο έμφραγμα του μυοκαρδίου η πρώιμη ενεργοποίηση λανθανουσών κολλαγονασών ευθύνεται για την ταχεία αποδόμηση της εξωκυτταρικής μήτρας [386]. Η ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs) στο διάμεσο χώρο έχει παρατηρηθεί ότι λαμβάνει χώρα εντός δέκα λεπτών από τη στεφανιαία απόφραξη [387], πολύ πριν γίνει αντιληπτή κάποια μη αναστρέψιμη αλλαγή στα μυοκαρδιακά κύτταρα. Σε ένα μοντέλο εμφράγματος σε χοίρους, θραύσματα κολλαγόνου ανιχνεύθηκαν στον ορό σε 15 με 30 λεπτά από τη στεφανιαία απόφραξη, αντικατοπτρίζοντας την πρώιμη ενεργοποίηση των οδών αποσύνθεσης της εξωκυττάριας μήτρας [388]. Μετά την εξάντληση των λανθανουσών κολλαγονασών, εκ νέου σύνθεση της MMP-1 δύναται να παρατείνει και να επιτείνει την κολλαγονόλυση [389]. Ο θρυμματισμός των συνιστωσών της εξωκυτταρικής μήτρας δεν περιλαμβάνει μόνο το ινώδες κολλαγόνο. Το υαλουρονικό επίσης εμφανίζεται να υφίσταται αποδόμηση, που οδηγεί σε απελευθέρωση θραυσμάτων χαμηλού μοριακού βάρους τα οποία μπορούν να μεταφέρουν προφλεγμονώδη σήματα [390].

Οι επιδράσεις των MMPs δεν περιορίζονται στο μεταβολισμό της εξωκυτταρικής μήτρας. Οι MMPs μπορούν να διασπάσουν τα ενδοκυτταρικά υποστρώματα και να αποδομήσουν πρωτεΐνες στο κυτόπλασμα, στα μιτοχόνδρια και στον πυρήνα [391]. Αρκετά μέλη της οικογένειας των MMPs είναι ικανά να επεξεργάζονται κυτοκίνες, χημειοκίνες και αυξητικούς παράγοντες, τροποποιώντας έτσι τον φλεγμονώδη καταρράκτη. Η επίδραση των MMPs στην απελευθέρωση του TNF-α από την κυτταρική επιφάνεια, καθώς και στη δραστηριότητα των IL-1 και TGF-β έχει μελετηθεί εκτενώς. Η επεξεργασία των χημειοκινών από τις MMPs μπορεί να οδηγήσει σε μία ποικιλία πιθανών αποτελεσμάτων, που περιλαμβάνουν : την απενεργοποίηση της χημειοκίνης, τη δημιουργία ανταγωνιστικών παραγώγων με ικανότητα πρόσδεσης σε κάποιον υποδοχέα χημειοκίνης -χωρίς όμως να επάγεται η χημειοτακτική απάντηση-, τον σχηματισμό μίας περικομμένης, υπερενεργούς χημειοκίνης ή ακόμα και την παρεμβολή στην πρόσδεση της χημειοκίνης στις γλυκοζαμινογλυκάνες- βήμα κρίσιμο για τη χημειοταξία [392]. Η in vivo σημασία των τροποποιητικών δράσεων των MMPs στους μεσολαβητές της φλεγμονής κατά τη ρύθμιση της μετεμφραγματικής φλεγμονώδους απάντησης παραμένει άγνωστη.

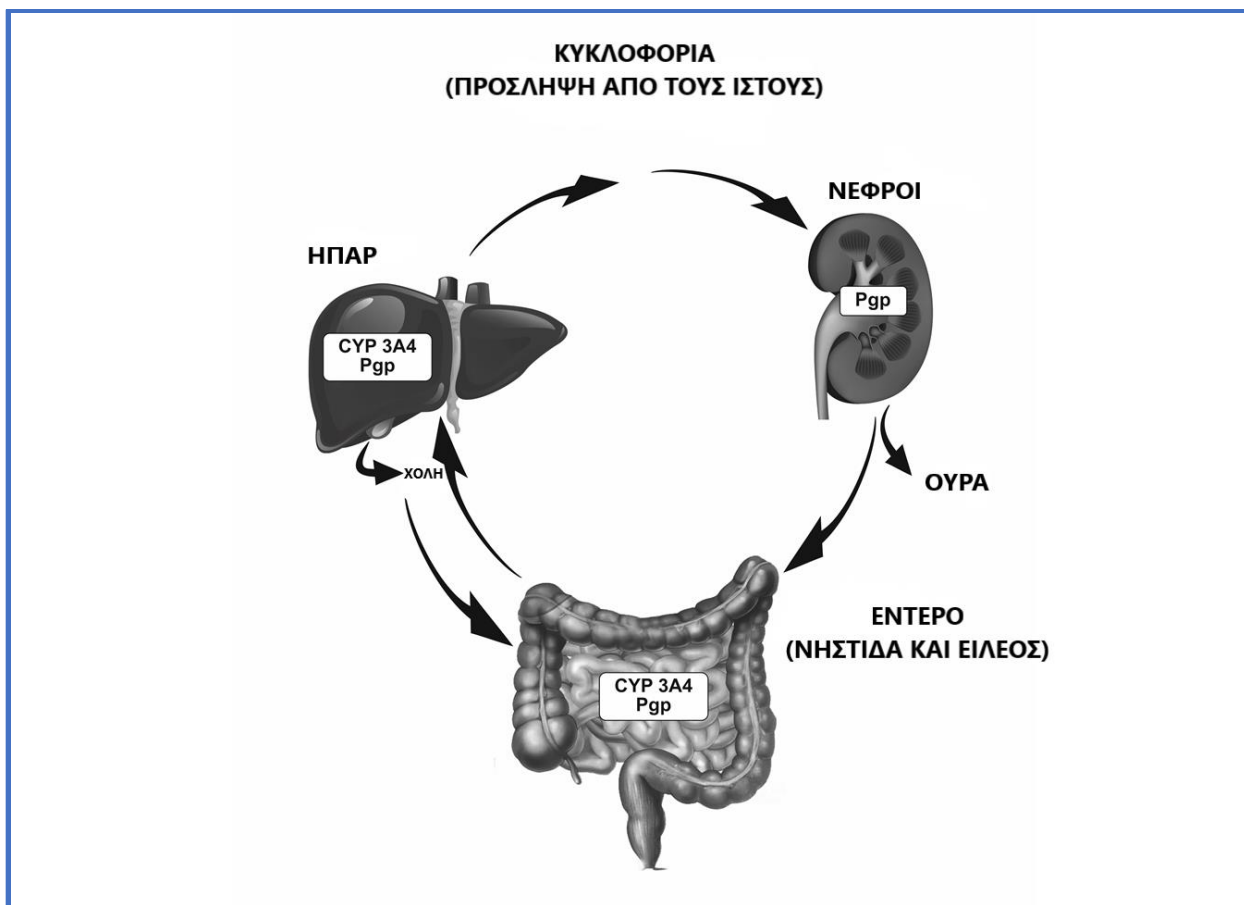
Τα θραύσματα κολλαγόνου και ελαστίνης μπορούν να διεγείρουν τη χημειοταξία ουδετερόφιλων, μονοκύτταρων και ινοβλαστών [393]. Οι δράσεις τους πιθανώς επάγονται μέσω ειδικών υποδοχέων. Επίσης τα θραύσματα υαλουρονικού που δημιουργούνται μετά από τραυματισμό μπορεί να εμπλέκονται στην ενεργοποίηση του καταρράκτη της φλεγμονής, επάγοντας την έκφραση κυτοκινών και χημειοκινών στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα [394].

ΚΟΛΧΙΚΙΝΗ

Φαρμακοκινητική, ανεπιθύμητες ενέργειες και τοξικότητα

Η κολχικίνη είναι ένα τρικυκλικό, λιποδιαλυτό αλκαλοειδές [395]. Μετά από του στόματος λήψη (per os.), απορροφάται από το βλεννογόνο της νήστιδος και του ειλεού. Σε υγιείς εθελοντές, η βιοδιαθεσιμότητα κυμαίνεται μεταξύ 24-88% (μ.ο. 45%) κυρίως λόγω του φαινομένου της αρχικής διάβασης [396-398]. Στο αίμα, το 32% της κολχικίνης προσδένεται στην αλβουμίνη [399]. Η μέγιστη συγκέντρωση της στο πλάσμα επιτυγχάνεται μετά από 1-2 ώρες από μία μόνο per os δόση. Η μέγιστη αντιφλεγμονώδης δράση της αναπτύσσεται σε διάστημα 24 έως 48 ωρών. Το διάστημα αυτό είναι αναγκαίο για να συσσωρευτεί το φάρμακο στα κοκκιοκύτταρα και τα μονοκύτταρα, όπου φτάνει σε συγκεντρώσεις αρκετές φορές υψηλότερες από τη μέγιστη συγκέντρωση του στο πλάσμα [400]. Εκεί, μπορεί να ανιχνευθεί για μέρες μετά από την τελευταία χορήγηση [401]. Ασκει τη δράση της μέσω της πρόσδεσής της σε μη πολυμερισμένα ετεροδιμερή τουμπουλίνης. Η δημιουργία αυτού του σταθερού συμπλόκου αναστέλλει ουσιαστικά κάθε διεργασία, που απαιτεί κυτταροσκελετικές αλλαγές και στην οποία συμμετέχουν οι μικροσωληνίσκοι [402]. Ο εκτεταμένος χρόνος ημίσειας ζωής της καθορίζεται κυρίως από το χρόνο ημίσειας ζωής του διαχωρισμού της από την τουμπουλίνη (περίπου 20-40 ώρες) καθώς και από τη συσσώρευση της στα λευκά αιμοσφαίρια [403].

Η κολχικίνη μεταβολίζεται κυρίως στο γαστρεντερικό σωλήνα με περίπου 10-25% της απέκκρισης του φαρμάκου να γίνεται με τα ούρα (εικόνα 12) [401]. Δύο πρωτεΐνες, η P-γλυκοπρωτεΐνη (Pgp) και το ένζυμο CYP3A4 φαίνεται να παίζουν καθοριστικό ρόλο στην φαρμακοκινητική της (εικόνα 12). Το CYP3A4, μέλος της υπεροικογένειας του κυτοχρώματος P450, εντοπίζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ηπατοκυττάρων και εντεροκυττάρων [404]. Αυτό προκαλεί την αδρανοποίηση της κολχικίνης μέσω της οξειδωτικής απομεθυλίωσης της η οποία παράγει, κυρίως, 2- και 3-O-απομεθυλ-κολχικίνη. Ο εντεροηπατικός κύκλος μπορεί να οδηγήσει σε ένα δεύτερο μέγιστο συγκέντρωσης στο πλάσμα μέσα σε 6 ώρες από τη λήψη της [397]. Το γεγονός ότι τα μισά περίπου φάρμακα σε χρήση σήμερα, συμπεριλαμβανομένης της ακεταμινοφαίνης, της κωδεΐνης, της κυκλοσπορίνης A, της διαζεπάμης και



Εικόνα 12. Ο ρόλος του κυτοχρώματος P3A4 (CYP3A4) και της P-γλυκοπρωτεΐνης (Pgp) στο μεταβολισμό και τη μεταφορά της κολχικίνης. Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [405] (με την άδεια των συγγραφέων).

της κλαρυθρομυκίνης μεταβολίζονται από το CYP3A4 έχει σημαντικές κλινικές επιπτώσεις που σχετίζονται με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φαρμάκων καθώς αρκετές από τις ουσίες που αναστέλλουν το CYP3A4 μπορούν επίσης να ενισχύσουν και την τοξικότητα της κολχικίνης [406]. Η Pgp που είναι μέλος της υπερικογενείας των κασέτων δέσμησης τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP-binding cassette-ABC), είναι πιθανόν να λειτουργεί ως αντλία ενεργητικής μεταφοράς φαρμάκου που τροφοδοτείται από τη διάσπαση του ATP [407] (εικόνα 13). Η πρωτεΐνη αυτή βρίσκεται στους περισσότερους ιστούς. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις απαντάται στην κορυφαία επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων έχοντας απεκκριτικό ρόλο (ηπατοχολικά, εντερικά, νεφρικά κ.λ.π.). Στο εντερικό επιθήλιο δρα εξωθώντας πολλά φάρμακα από το αίμα στον εντερικό αυλό και εμποδίζοντας άλλα που βρίσκονται στον εντερικό αυλό να εισαχθούν στην κυκλοφορία. Η δράση της επομένως μπορεί να μειώσει την (από του στόματος) απορρόφηση και βιοδιαθεσιμότητα των φαρμάκων που αποτελούν υποστρώματα μεταφοράς. Όπως και στην περίπτωση της αναστολής του CYP3A4, η αναστολή της Pgp μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένα επίπεδα κολχικίνης στο πλάσμα με επακόλουθες ανεπιθύμητες ενέργειες [408]. Επιπλέον, η ενδοκυτταρική συκέντρωση της κολχικίνης εξαρτάται από την παρουσία

και τη λειτουργία της Pgp στον εκάστοτε κυτταρικό τύπο [409]. Επομένως, οι όποιες εκτιμήσεις σχετικά με τη συγκέντρωσή της στους εκάστοτε κυτταρικούς πληθυσμούς (π.χ. στα λευκοκύτταρα), με βάση τα επίπεδα του φαρμάκου στο πλάσμα είναι εξαιρετικά δύσκολες [410]. Επίσης οι πολυμορφισμοί που επηρεάζουν τα γονίδια που κωδικοποιούν το CYP3A4 και την Pgp είναι σχετικά συχνοί και πιθανόν να ευθύνονται, τουλάχιστον μερικώς, για την ανεπαρκή ανταπόκριση στη θεραπεία με κολχικίνη που παρατηρείται σε μερικούς ασθενείς με οικογενή μεσογειακό πυρετό και άλλες φλεγμονώδεις παθήσεις [403, 411, 412]. Η χορήγηση κολχικίνης αντενδείκνυται σε ασθενείς με νεφρική ή ηπατική βλάβη που λαμβάνουν ταυτόχρονα αναστολείς Pgp και ισχυρούς αναστολείς CYP3A4, ενώ σε ασθενείς με σοβαρή νεφρική ή ηπατική βλάβη συνιστάται τροποποίηση της δόσης και στενή παρακολούθηση [413].

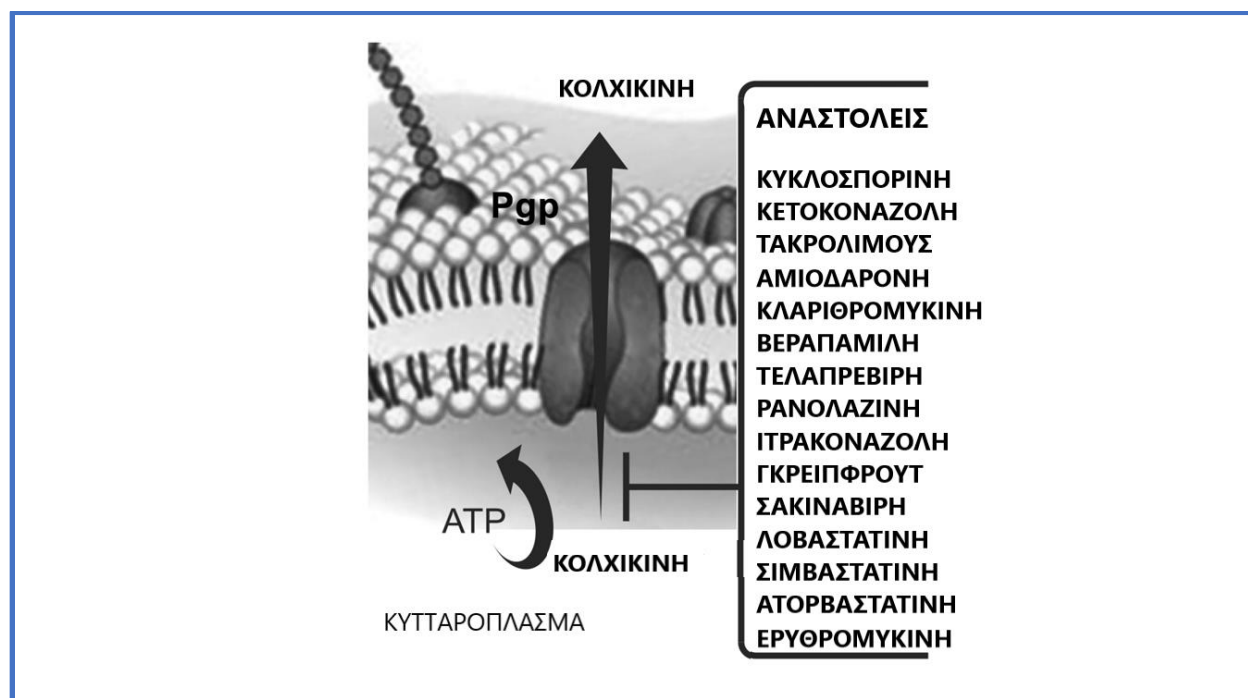
Οι πιο συχνές παρενέργειες του φαρμάκου προέρχονται από το γαστρεντερικό. Μεταξύ αυτών, η διάρροια είναι η πιο συνηθισμένη [414]. Η διάρροια που σχετίζεται με την κολχικίνη είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενη, παύει με τη διακοπή της θεραπείας και επηρεάζει κυρίως ασθενείς που λαμβάνουν δόση εφόδου. Η ναυτία και ο έμετος είναι λιγότερο συχνά και στην πλειοψηφία των περιπτώσεων υποχωρούν μετά από σύντομο χρονικό διάστημα χωρίς να χρειάζεται διακοπή της θεραπείας. Σε περίπτωση περίσσειας συγκέντρωσης (νεφρική ανεπάρκεια, ηπατική ανεπάρκεια ή/και ταυτόχρονης χορήγησης αναστολέων Pgp και CYP3A4) ή υπερδοσολογίας, έχουν αναφερθεί: μυελοκαταστολή, διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη και οξεία νεφρική, ηπατική, ενδοθλιακή και νευρομυϊκή βλάβη [395, 410]. Δόσεις κολχικίνης μεταξύ 0,5 mg/kg και 0,8 mg/kg είναι εξαιρετικά τοξικές ενώ δόσεις μεγαλύτερες των 0,8 mg/kg μπορούν να αποβούν θανατηφόρες. Ο FDA απέσυρε πρόσφατα την έγκριση εμπορίας για όλα τα κυκλοφορούντα ενδοφλέβια διαλύματα κολχικίνης. Αυτό ήταν το αποτέλεσμα 23 αναφερόμενων θανάτων μεταξύ ασθενών που έλαβαν ενδοφλέβια θεραπεία [415]. Παρόλα αυτά, η ασφάλεια της μακροχρόνιας θεραπείας με κολχικίνη είναι καλά τεκμηριωμένη, ειδικά μεταξύ ασθενών με οικογενή μεσογειακό πυρετό [410].

Μηχανισμός δράσης

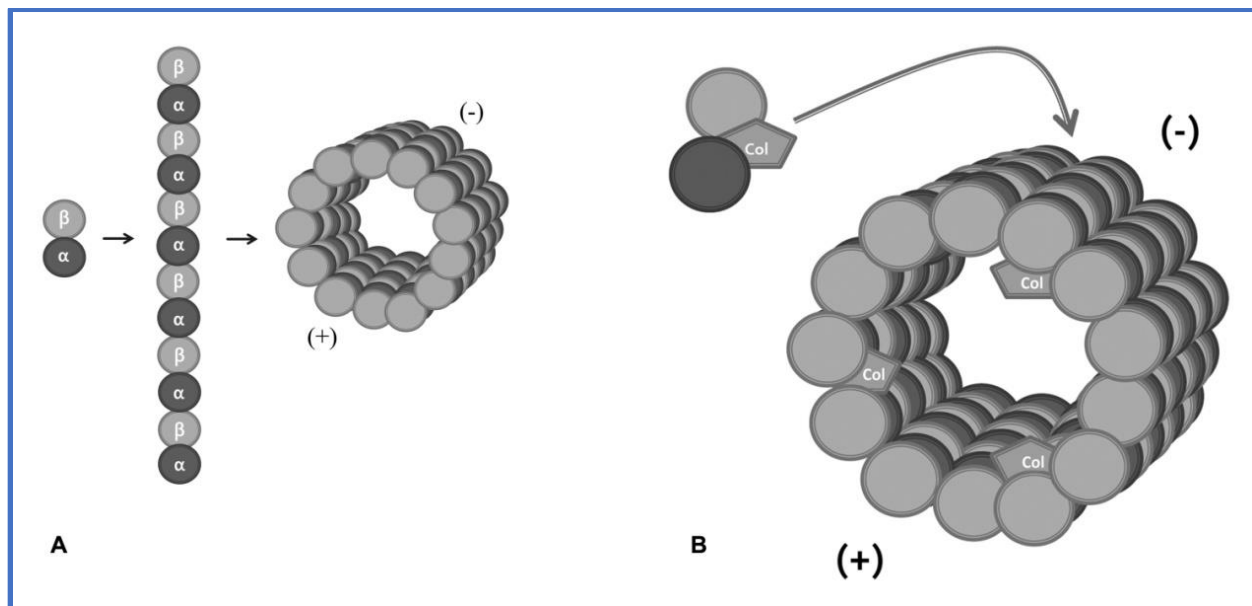
Η κολχικίνη επιδρά στη μοριακή παθολογία που υποβόσκει στην οξεία φλεγμονή με ένα πολυπαραγοντικό τρόπο. Η μοναδική της δράση βασίζεται στην ικανότητά της να παρεμβαίνει στον πολυμερισμό των μικροσωληνίσκων. Σε δομικό επίπεδο, κάθε μικροσωληνίσκος έχει τη μορφή κυλίνδρου και αποτελείται από 13 παράλληλα πρωτοϊνίδια, που με τη σειρά τους αποτελούνται από εναλλασσόμενα, ισχυρά συνδεδεμένα ζεύγη υπομονάδων α- και β-τουμπουλίνης κατά μήκος ενός επιμήκους άξονα (εικόνα 14A). Αυτά τα ετεροδιμερή τουμπουλίνης σταθεροποιούνται διαμέσου αμφότερων διαμηκών και πλευρικών αλληλεπιδράσεων [416]. Ο S7-H9 βρόγχος ή M-βρόγχος (βρόγχος μικροσωληνίσκων) των υπομονάδων τουμπουλίνης που προβάλλει από τη μια πλευρά των πρωτοϊνιδίων, είναι το επίκεντρο αυτών των πλευρικών αλληλεπιδράσεων. Η κολχικίνη προσδένεται στη περιοχή αλληλεπίδρασης των υπομονάδων α και β, στο κέντρο του ετεροδιμερούς τουμπουλίνης, δίπλα ακριβώς από την περιοχή πρόσδεσης του GTP της υπομονάδας της α-τουμπουλίνης [417-420]. Μετά τη πρόσδεση παίρνει θέση στο εσωτερικό του μικροσωληνίσκου, αντί για την επιφάνεια αλληλεπίδρασης (εικόνα 14B). Η πρόσδεση είναι μία διαδικασία δύο βημάτων που ξεκινάει με το σχηματισμό ενός συμπλόκου πριν επιτευχθεί ισορροπία (pre-equilibrium complex). Ακολουθεί αλλαγή της τριτοταγούς δομής με κάμψη μεταξύ των διμερών, που καταλήγει σε ένα σχεδόν μη-αντιστρεπτό, σύμπλοκο τελικού σταδίου τουμπουλίνης-κολχικίνης (TC) με υψηλή ενέργεια ενεργοποίησης. Η ενσωμάτωση μικρού

αριθμού TC συμπλόκων μαζί με μεγάλο αριθμό διαλυτών ετεροδιμερών στο νεοσχηματισμένο άκρο του πρωτοϊνιδίου αποτρέπει την εγκαθίδρυση πλευρικών επαφών. Αυτό οφείλεται στο ότι ο M-βρόγχος μετατοπίζεται, καθώς δεν υιοθετείται η ευθεία διαμόρφωση της τουμπουλίνης, για να αποφευχθεί η στερεοχημική «σύγκρουση» (steric clash) μεταξύ της κολχικίνης και της α-υπομονάδας. Όσο το ποσοστό των διαρρηγμένων πλευρικών επαφών παραμένει χαμηλό (μικρός αριθμός TC συμπλόκων) το σώμα του μικροσωληνίσκου διατηρείται, αλλά η δυναμική του πολυμερισμού του καταστέλλεται (μειωμένος ρυθμός προσθήκης τουμπουλίνης) [416, 421-424]. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις κολχικίνης, η μεγαλύτερη απώλεια πλευρικών επαφών οδηγεί στον αποπολυμερισμό του μικροσωληνίσκου.

Οι μικροσωληνίσκοι είναι ένας από τους τρεις βασικούς τύπους ινωδών πολυμερών (οι άλλοι δύο είναι η ακτίνη και τα ενδιάμεσα ινίδια) που συλλογικά απαρτίζουν τον κυτταροσκελετό [425, 426]. Η κατάσταση πολυμερισμού τους ρυθμίζει μία ποικιλία κυτταρικών διεργασιών συμπεριλαμβανόμενων της κυτταρικής διαίρεσης, της διατήρησης του σχήματος του κυττάρου, της μετάδοσης σήματος, της κυτταρικής μετανάστευσης και της ενδοκυτταρικής μεταφοράς [427-429]. Αυτές οι διεργασίες επηρεάζουν τη δραστηριότητα κυττάρων που εμπλέκονται σε φλεγμονώδη μονοπάτια που παίζουν ρόλο στη παθογένεση της ουρικής αρθρίτιδας, του οικογενούς μεσογειακού πυρετού (FMF) και άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων, στα οποία έχει μελετηθεί εκτενώς η δράση της κολχικίνης.



Εικόνα 13. Ενεργητική μεταφορά της κολχικίνης εκτός του κυττάρου με την P-γλυκοπρωτεΐνη (Pgp). Η εικόνα περιλαμβάνει επίσης φάρμακα που αναστέλλουν την δράση της Pgp παρεμβαίνοντας έτσι στη φαρμακοκινητική της κολχικίνης. Οι αναστολείς απαριθμούνται με σειρά δραστικότητας. Οι δραστικότεροι αναστολείς βρίσκονται στην κορυφή της λίστας.



Εικόνα 14. Α. Δομή μικροσωληνίσκων. Η τουμπουλίνη αποτελείται από δύο πρωτεϊνικές υπομονάδες, α και β , που σχηματίζουν ετεροδιμερή. Αυτά πολυμερίζονται για το σχηματισμό πρωτοϊνιδίων. Δεκατρία πρωτοϊνίδια συνδέονται πλευρικά και σχηματίζουν τον τρισδιάστατο κύλινδρο του μικροσωληνίσκου με τις β -υπομονάδες της τουμπουλίνης εκτεθειμένες στο θετικό (+) άκρο και τις α -υπομονάδες στο αρνητικό (-) άκρο. Β. Μηχανισμός δράσης της κολχικίνης (Col). Η κολχικίνη προσδένεται στη μη πολυμερισμένη τουμπουλίνη στην περιοχή αλληλεπίδρασης των α και β υπομονάδων τουμπουλίνης και ενσωματώνεται στους μικροσωληνίσκους. Η πρόσδεση της κολχικίνης στο (+) άκρο των μικροσωληνίσκων καταστέλλει τη δυναμική των μικροσωληνίσκων (περισσότερες λεπτομέρειες στο κείμενο). Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [430] (με την άδεια των συγγραφέων).

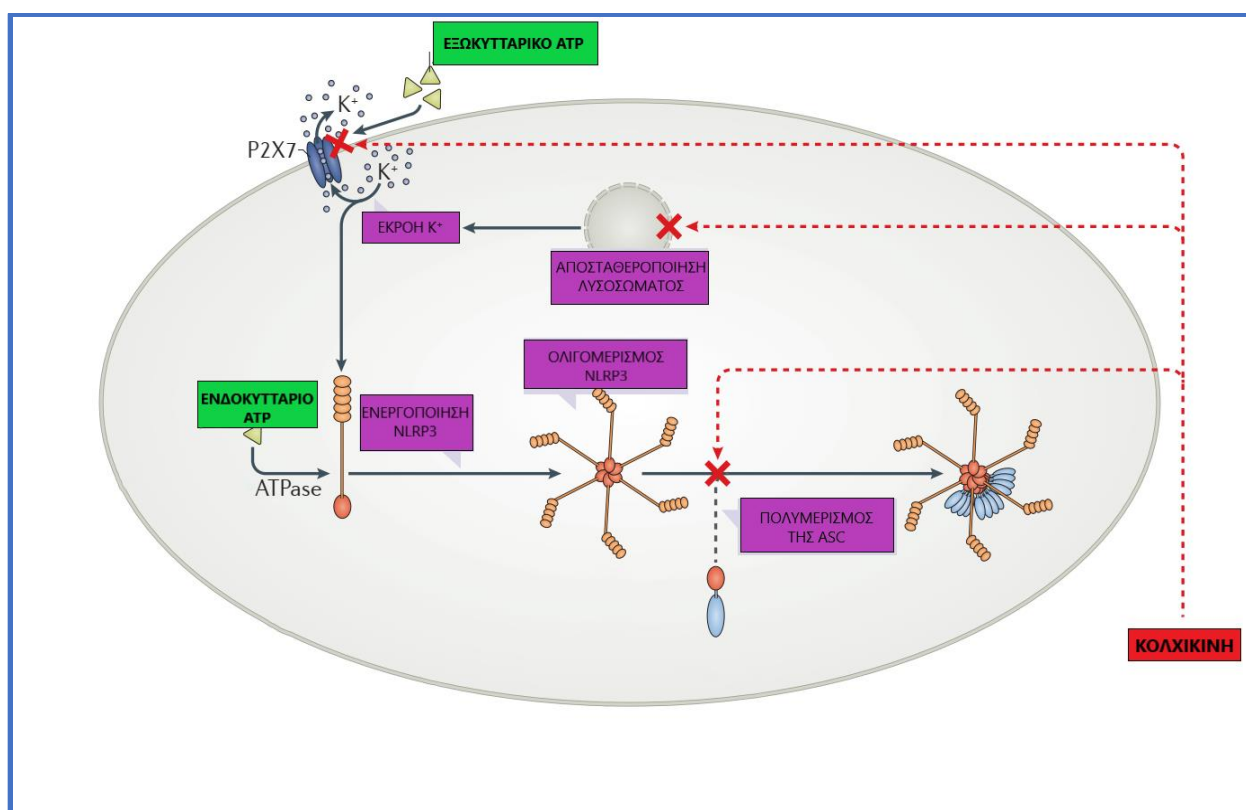
Έχειδειχθείότι η κολχικίνη μειώνει τη χημειοταξία των λευκοκυττάρων σε υγιείς εθελοντές [431]. Στην ουρική αρθρίτιδα, η άμεση αναστολή της μετανάστευσης των ουδετερόφιλων θεωρείται ένας από τους βασικούς μηχανισμούς δράσης του φαρμάκου [432]. Αυτό προάγεται, τουλάχιστον εν μέρει, από τη διαφορετική έκφραση των E και L-σελεκτινών στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ουδετερόφιλων αντίστοιχα. Σε νανομοριακές συγκεντρώσεις, ο παράγοντας ελαττώνει τη δυνατότητα προσκόλλησης των ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο αλλάζοντας την ποιότητα και την κατανομή, αλλά όχι την ποσότητα, της E-σελεκτίνης, ενώ σε μικρομοριακές συγκεντρώσεις οδηγεί σε μείωση της ποσότητας της L-σελεκτίνης και σε περαιτέρω μείωση της δυνατότητας προσκόλλησης [433]. Οι συγκεντρώσεις κολχικίνης που αναστέλλουν την προσκόλληση των ουδετερόφιλων σε διεγερμένα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι 100 με 1000 φορές χαμηλότερες από εκείνες που έχουν αναφερθεί να προκαλούν αλλαγή σε άλλες λειτουργίες των φλεγμονωδών κυττάρων (πχ. αποκοκκίωση, σύνθεση λευκοτριένιου B₄, αυξημένο

κυκλικό AMP) [434, 435]. Αυτό το δοσοεξαρτώμενο φαινόμενο παρέχει σε ένα βαθμό και την εξήγηση γιατί χαμηλές δόσεις κολχικίνης χρησιμεύουν στην πρόληψη των υποτροπών της ουρικής αρθρίτιδας ενώ απαιτούνται υψηλότερες δόσεις για την καταπολέμηση των εξάρσεων. Η στενή σχέση μεταξύ της μεταφοράς της Ε-σελεκτίνης μέσα στο κύτταρο και των μικροσωληνίσκων έχει δειχθεί και σε ένα άλλο πειραματικό μοντέλο [436]. Σε αυτή την περίπτωση όμως, παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των επιφανειακών υποδοχέων σε απόκριση στην αγωγή, το οποίο αποδόθηκε εκ των υστέρων σε μειωμένη εσωτερίκευση της Ε-σελεκτίνης. Επιπλέον, διαφορική έκφραση της Ε και L-σελεκτίνης έχει συνδεθεί με μείωση των συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων-μονοκυττάρων και αιμοπεταλίων-ουδετερόφιλων [437]. Κλινικά εφικτές συγκεντρώσεις κολχικίνης οδήγησαν σε μειωμένη έκφραση επιφανειακών δεικτών της δράσης των αιμοπεταλίων, και κατέστειλαν τα συσσωματώματα αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων αλλά όχι αιμοπεταλίων-αιμοπεταλίων. Πρέπει να σημειωθεί, παρόλα αυτά, ότι η ειδική ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών όπως αυτό της Rho/Rho-κινάσης μπορεί να παίζει αντισταθμιστικό ρόλο ανάλογα με το αρχικό ερέθισμα [438]. Ένας άλλος στόχος του φαρμάκου, η παραγωγή $O_2^{\cdot -}$, που είχε διερευνηθεί αρχικά *in vitro*, φαίνεται επίσης να εξαρτάται από το αρχικό ερέθισμα [439, 440]. Η *in vivo* επιβεβαίωση αυτών των παρατηρήσεων έδειξε ότι η κολχικίνη αναστέλλει την παραγωγή υπεροξειδίου από τα ουδετερόφιλα σε δόσεις 10 με 100 φορές μικρότερες από εκείνες που απαιτούνται για την αναστολή της μετανάστευσής τους, χωρίς καμία ένδειξη ηπατικής τοξικότητας [441]. Το φαινόμενο ήταν ειδικό για ουδετερόφιλα διεγερμένα με ουρικό μονονάτριο (monosodium urate, MSU) και προσφέρει μία άλλη πιθανή εξήγηση της δράσης χαμηλών δόσεων κολχικίνης στην πρόληψη εξάρσεων ουρικής αρθρίτιδας. Τα ουδετερόφιλα επίσης έχουν φανεί να γίνονται λιγότερο παραμορφώσιμα σε απόκριση στη κολχικίνη, ένα φαινόμενο που οφείλεται σε αλλαγές στις βισκοελαστικές ιδιότητες (viscoelastic properties) των υποκυτταρικών διαμερισμάτων τους [442]. Μείωση της κινητικότητάς τους σε περιορισμένο χώρο περιόρισε την ικανότητα τους για διαπίδυση στον εξωαγγειακό χώρο ως απάντηση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα.

Η μειорύθμιση (downregulation) των υποδοχέων του παράγοντα νέκρωσης όγκων α (tumor necrosis factor α , TNF- α) στην επιφάνεια των μακροφάγων και των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά όχι των ουδετερόφιλων, είναι ένα άλλο σημαντικό φαινόμενο που επάγεται της αποσταθεροποίησης του δικτύου των μικροσωληνίσκων [443]. Έχει δειχθεί επίσης ότι η κολχικίνη αναστέλλει την επαγόμενη από λιποπολυσακχαρίτη παραγωγή TNF- α [444] και την επαγόμενη του TNF- α ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα (NF)- κ B [445]. Μία λιγότερο καλά χαρακτηρισμένη δράση της κολχικίνης είναι η αναστολή της αποκοκκίωσης των μαστοκυττάρων. Η κολχικίνη δρα τόσο παρεμβαίνοντας στη μεταφορά των κοκκίων [446-448] όσο και στη ρύθμιση της εισροής Ca^{2+} (capacitative Ca^{2+} entry, CCE), ένα σημαντικό μηχανισμό στο μονοπάτι αποκοκκίωσης αυτών των κυττάρων [449].

Το 2006, οι Martinon *et al.* ανέφεραν ότι το NLRP3 φλεγμονόσωμα ενεργοποιείται ειδικά από κρυστάλλους MSU [450]. Ως κομμάτι του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος, εμπλέκεται στην ενεργοποίηση πολλών φλεγμονωδών διεργασιών [451]. Όπως αναπτύξαμε λειτουργεί επιστρατεύοντας και ενεργοποιώντας την κασπάση-1, που με τη σειρά της επάγει τη μετατροπή της προ-IL-1 β σε ώριμη IL-1 β , έναν σημαντικό πρώιμο μεσολαβητή της φλεγμονής. Η κολχικίνη είναι ένας μη ειδικός αναστολέας του NLRP3 φλεγμονοσώματος [452]. Ενώ αρχικά θεωρείτο ως αναστολέας μόνο του πολυμερισμού των μικροσωληνίσκων και της διαπίδυσης των λευκοκυττάρων, ένα μεγάλο μέρος της αντιφλεγμονώδους

δράσης της κολχικίνης οφείλεται στην αναστολή του NLRP3 φλεγμονοσώματος [453]. Η κολχικίνη εμποδίζει τη δράση του φλεγμονοσώματος σε δύο επίπεδα: αναστέλλει την ενεργοποίηση του P2X7 υποδοχέα και τον πολυμερισμό της ASC, εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση μεταξύ των περιοχών που ομοιάζουν με πυρίνη (pyrin domains) [454] (εικόνα 15). Επίσης έχει βρεθεί ότι καταστέλλει τη μεταφορά των μιτοχονδρίων και τον επακόλουθο συνεντοπισμό της ASC με το NLRP3, γεγονός που υποδεικνύει ότι μικροσωληνίσκοι δημιουργούν τις θέσεις για την αλληλεπίδραση των διαφορετικών μερών του φλεγμονοσώματος, και η οποία τελικά οδηγεί στην ενεργοποίηση του [455]. Η κολχικίνη περιορίζει την παραγωγή της IL-1 β ως απόκριση σε διάφορους επαγωγείς του NLRP3 φλεγμονοσώματος, συμπεριλαμβανόμενου του MSU, με δόσοεξαρτώμενο τρόπο. Πρόσφατα η χορήγηση κολχικίνης σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (acute coronary syndrome, ACS) κατέστειλε αποτελεσματικά την τοπική παραγωγή των κυτταροκινών ιντερλευκίνης (IL)-1b, IL-18 και IL-6, γεγονός που αποδόθηκε στην αναστολή της δράσης του φλεγμονοσώματος [456, 457].



Εικόνα 15. Η αναστολή του NLRP3 φλεγμονοσώματος από την κολχικίνη. Η κολχικίνη δρα αναστέλλοντας τον σχηματισμό πόρων που επάγεται από την ενεργοποίηση των ιοντοτροπικών πουρινεργικών P2X υποδοχέων. Επίσης αναστέλλει τον πολυμερισμό της πρωτεΐνης ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain) και την αποσταθεροποίηση των λυσοσωμικών μεμβρανών. Μεταφρασμένη και τροποποιημένη εικόνα από [452] (με την άδεια των συγγραφέων).

Η κολχικίνη έχει επίσης δειχθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα του αντι-φλεγμονώδους ρυθμιστή, αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού β1 (transforming growth factor β one, TGF-β1), ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις έχει αντιμυϊκή δράση και μπορεί να επηρεάσει και τη γονιδιακή μεταγραφή [458]. Επιπλέον, υπάρχουν μόνο λίγα και έμμεσα στοιχεία για τη δράση της κολχικίνης στα καρδιομυοκύτταρα. Έχουν αναφερθεί: διατήρηση της ενδοκυτταρικής κατανομής της junctophilin-2 και της ακεραιότητας των T-μικροσωληνίσκων, μαζί με μείωση των δυναμικών που οφείλονται στα Ca^{2+} (calcium sparks)[459], μειωμένη παραγωγή ενδοκυτταρικού οξειδίου του νατρίου [460] και αυξημένη κυτταρική συσταλτικότητα μετά από ισχαιμία και επαναιμάτωση [461]. Δυστυχώς, η σχετική σημασία κάθε ενός εξ'αυτών των φαινομένων στο πλαίσιο της στεφανιαίας νόσου δεν είναι σαφής.

Κολχικίνη και σταθερή στεφανιαία νόσος

Το σκεπτικό της χορήγησης κολχικίνης στη σταθερή στεφανιαία νόσο βασίζεται στην παρατήρηση ότι η φλεγμονή παίζει βασικό ρόλο στην εξέλιξη της αθηρογένεσης. Σε ένα πειραματικό μοντέλο, όπου χρησιμοποιήθηκαν κόνικλοι που τράφηκαν με δίαιτα υψηλή σε λιπίδια, αποδείχθηκε ότι η κολχικίνη μείωσε την αθηροσκλήρωση της αορτής [462]. Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι παρατηρήθηκαν διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων ενώ δεν δημοσιεύθηκαν και δεδομένα σχετικά με φλεγμονώδεις δείκτες.

Τρεις αναδρομικές μελέτες σχετικά με τις επιδράσεις της κολχικίνης στον επιπολασμό των ΟΣΣ είχαν θετικά αποτελέσματα. Οι Langevitz et al. έδειξαν ότι ο επιπολασμός της στεφανιαίας νόσου σε ασθενείς με οικογενή μεσογειακό πυρετό (familial Mediterranean fever, FMF) υπό θεραπεία με κολχικίνη ήταν συγκρίσιμος με τους συζύγους τους και με τον αντίστοιχο γενικό πληθυσμό στο Ισραήλ [463]. Η παρατήρηση αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς στους ασθενείς με οικογενή μεσογειακό πυρετό ο επιπολασμός της στεφανιαίας νόσου αναμένεται να είναι αυξημένος λόγω του χαμηλού επιπέδου χρόνιας φλεγμονής που σχετίζεται με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [464]. Οι Crittenden et al. ανέλυσαν δεδομένα από μητρώα ασθενών με ουρική αρθρίτιδα για ένα διάστημα 12 μηνών και έδειξαν ότι οι ασθενείς που ελάμβαναν κολχικίνη ως προφύλαξη είχαν μικρότερο κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου σε σύγκριση με ασθενείς που δεν έλαβαν κολχικίνη (έμφραγμα του μυοκαρδίου 1,2% στην ομάδα της κολχικίνης έναντι 2,6% στην ομάδα που δεν ελάμβανε κολχικίνη, $P=0,03$) [465]. Αξίζει να σημειωθεί ότι, σε μία ανάλυση υποομάδων, η χρήση στατίνης και ασπιρίνης ήταν πανομοιότυπη μεταξύ των δύο πληθυσμών, ενώ μετά από μια πιο αυστηρή επανεξέταση, αποκλείοντας τους ασθενείς που ελάμβαναν κολχικίνη μόνο κατά την οξεία φάση της νόσου, τα αποτελέσματα ήταν ακόμα πιο εμφατικά υπέρ της κολχικίνης. Επίσης σημαντικό είναι το ότι η εξαίρεση των χρηστών αλλοπουρινόλης από την ανάλυση δεν είχε επίπτωση στην ευεργετική δράση της κολχικίνης. Ωστόσο, παραμένει αδιευκρίνιστο εάν το περιστατικό προηγήθηκε της θεραπείας ενώ δεν ελήφθησαν υπόψιν και δεδομένα σχετικά με τις συνοσηρότητες (π.χ. ασθενείς με γνωστή στεφανιαία νόσο ή πολλαπλούς παράγοντες κινδύνου). Η τρίτη και πιο πρόσφατη μελέτη συμπεριέλαβε 501 ασθενείς που είχαν λάβει κολχικίνη για ουρική αρθρίτιδα και έναν ίσο αριθμό ασθενών που με παρόμοια χαρακτηριστικά που δεν έλαβε θεραπεία [466]. Σε αντίθεση με την προηγούμενη μελέτη οι ερευνητές συμπεριέλαβαν μια πληθώρα μεταβλητών όπως είναι: η ηλικία, το φύλο, η φυλή, το ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου, ο διαβήτης, η υπέρταση, η χρήση στατίνης, η χρήση ασπιρίνης, η αντιυπερτασική αγωγή, το κάπνισμα, ο δείκτης μάζας σώματος, η χρήση μη-στεροειδών ή στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, η λήψη αλλοπουρινόλης, και η χρόνια

νεφρική νόσος. Οι ρυθμοί επίπτωσης (incidence rates) για το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το εγκεφαλικό επεισόδιο ή το παροδικό ισχαιμικό εγκεφαλικό ανά 1000 άτομα-έτη ήταν 35,6 για τους χρήστες κολχικίνης και 81,8 για αυτούς που δεν ελάμβαναν το φάρμακο, γεγονός που αντιστοιχεί, μετά από προσαρμογή για τους διάφορους παράγοντες συγχύσεως (confounding factors), σε χαμηλότερο κίνδυνο κατά 49% (σχετικός στιγμιαίος κίνδυνος [HR], 0,51. 95% CI, 0,30-0,88). Μείωση παρατηρήθηκε και στη θνησιμότητα από όλες τις αιτίες (all-cause mortality) (προσαρμοσμένος HR, 0,27, 95% CI, 0.17-0.43). Βεβαίως όπως σε όλες τις αναδρομικές μελέτες, έτσι και εδώ, ο κίνδυνος υπολειπόμενων μεταβλητών παραμένει υψηλός οπότε η όποια ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή.

Αυτές οι ελπιδοφόρες παρατηρήσεις δοκιμάστηκαν σε μια μεγάλη προοπτική, τυχαιοποιημένη, τυφλή μελέτη από τους Nidorf et al. [467]. Η μελέτη “Low Dose Colchicine” (LoDoCo) εξέτασε την αποτελεσματικότητα χορήγησης 0,5 mg κολχικίνης ημερησίως επιπλέον της τυπικής θεραπείας της στεφανιαίας νόσου σε 532 ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο (282 ασθενείς έλαβαν κολχικίνη έναντι 250 σε θεραπεία με εικονικό φάρμακο) για ένα μέσο διάστημα παρακολούθησης 3 ετών. Η θεραπεία αποδείχθηκε αποτελεσματική στη μείωση του σύμπλοκου καταληκτικού σημείου του ΟΣΣ, της έξω-νοσοκομειακής καρδιακής ανακοπής ή του ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου μη καρδιολογικής αιτιολογίας (5,3% έναντι 16%, $P < 0,001$).

Η LoDoCo αποτελούσε τη συνέχεια μιας προγενέστερης μελέτης από την ίδια ομάδα που έδειξε ότι η χορήγηση κολχικίνης για 4 εβδομάδες (0,5 mg δύο φορές την ημέρα) μείωσε την υψηλής ευαισθησίας CRP (hsCRP) σε ασθενείς με κλινικά σταθερή στεφανιαία νόσο υπό ασπιρίνη και ατορβαστατίνη [468]. Αν και στη μελέτη LoDoCo δεν μετρήθηκε hsCRP, δεν είναι παράλογο να υποθέσουμε ότι η κολχικίνη επέδειξε τα ευεργετικά της αποτελέσματα μέσω του ίδιου μηχανισμού. Η υπόθεση που συνδέει την μειωμένη φλεγμονή, όπως αυτή αντανάκλαται από τα μειωμένα επίπεδα της hsCRP, με τη μειωμένη συχνότητα εμφάνισης ΟΣΣ ή εγκεφαλικού επεισοδίου, υποστηρίζεται και από άλλες παρατηρήσεις, συμπεριλαμβανομένων και των αποτελεσμάτων της μελέτης “Justification for the Use of Statins in Primary Prevention” (JUPITER) οι οποίες συσχέτισαν τη μείωση της hsCRP σε υγιή άτομα με μείωση του OEM, του εγκεφαλικού επεισοδίου, της αγγειοπλαστικής, της νοσηλείας για ασταθή στηθάγχη ή του θανάτου από καρδιαγγειακά αίτια [469].

Η LoDoCo ήταν μια καλά σχεδιασμένη μελέτη, με αξιόπιστη στατιστική ανάλυση, καθώς τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν σε σύνολο 16 υποομάδων ασθενών ενώ δεν υπήρχαν και ασθενείς που να έχουν χαθεί κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης (lost to follow-up). Εντυπωσιακός ήταν και ο αναγκαίος αριθμός ασθενών για θεραπεία (Number Needed to Treat) προκειμένου να αποφευχθεί μια ανεπιθύμητη έκβαση (11), φτάνοντας τα επίπεδα που προσφέρει η ασπιρίνη σε ότι αφορά τη δευτερογενή πρόληψη [470]. Επίσης δεν υπήρξαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, με το 16% των ασθενών που έπαιρνε κολχικίνη να αποχωρεί λόγω παρενεργειών κυρίως από το γαστρεντερικό (11%). Τέλος παρατηρήθηκε και μια τάση μειωμένης θνησιμότητας (10 ασθενείς στην ομάδα ελέγχου έναντι 4 σε θεραπεία με κολχικίνη), αλλά η μελέτη είχε πολύ μικρή ισχύ για αυτό το καταληκτικό σημείο.

Ελπιδοφόρα ήταν και τα αποτελέσματα μιας προοπτικής μελέτης παρατήρησης 80 ασθενών με πρόσφατο (<1 μήνα) ΟΣΣ οι οποίοι είχαν κατανεμηθεί σε αναλογία 1:1 σε βέλτιστη φαρμακευτική αγωγή ή σε βέλτιστη φαρμακευτική αγωγή συν χαμηλή δόση κολχικίνης (0,5 mg/ημέρα) για 12 μήνες. Οι ερευνητές πραγματοποίησαν αξονική στεφανιογραφία κατά την έναρξη και 12 μήνες αργότερα [471]. Η

βέλτιστη φαρμακευτική αγωγή αφορούσε στον έλεγχο των παραγόντων κινδύνου και την εντατικοποίηση της θεραπείας με στατίνες, με στόχο την επίτευξη ενός επιπέδου LDL <1,8 mmol/L. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή του όγκου των πλακών χαμηλής ακτινοπυκνότητας (με ευμεγέθη νεκρωτικό πυρήνα) (low attenuation plaque, LAP) ενώ τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία συμπεριελάμβαναν αλλαγές στο επίπεδο της hsCRP και αλλαγές σε άλλες παραμέτρους της αξονικής στεφανιογραφίας (όπως ο συνολικός όγκος των αθηρωματικών πλακών). Μεγάλες κλινικές μελέτες και μελέτες με τη χρήση IVUS έχουν δείξει ότι οι LAPs αντιπροσωπεύουν ένα ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για μελλοντικά ΟΣΣ και μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα. Κατά τη διάρκεια της περιόδου των δώδεκα μηνών, ο όγκος των LAPs έδειξε μια μέση μείωση της τάξης του 41% και 17% (στην ομάδα που έλαβε κολχικίνη και στην ομάδα ελέγχου αντίστοιχα) ($P = 0.008$). Ομοίως, υπήρξε και μια σημαντική μέση μείωση των επιπέδων της hsCRP (37% και 15% αντίστοιχα) ($P < 0,0001$). Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης βρήκε μια σημαντική γραμμική σχέση ($R^2 = 0.158$, $P < 0.001$) και μια ισχυρά θετική συσχέτιση ($r = 0.578$) μεταξύ της μεταβολής του όγκου των LAP και της αλλαγής της συγκέντρωσης της hsCRP. Τέλος, λόγω της εντατικής θεραπείας με στατίνες, και στις δύο ομάδες επιτεύχθηκε μια ουσιαστική μέση μείωση της LDL (-19% και -20% αντίστοιχα) χωρίς όμως να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Η πολυπαραγοντική ανάλυση του πρωτογενούς και των δευτερογενών καταληκτικών σημείων δεν μετέβαλε τη στατιστική σημασία της μείωσης του όγκου των LAP ($P = 0.04$) και των επιπέδων της hsCRP ($P = 0.004$) δείχνοντας ότι η θεραπεία με (χαμηλή δόση) κολχικίνης σταθεροποιεί τις αθηρωματικές πλάκες των στεφανιαίων αγγείων περαιτέρω και ανεξάρτητα από τη μείωση των επιπέδων της LDL. Αυτό πιθανότατα ήταν αποτέλεσμα των αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της κολχικίνης, που της επέτρεψαν να τροποποιήσει τη σχετιζόμενη με την αθηροσκλήρωση φλεγμονή των ευπαθών πλακών. Υπέρ αυτού συνδράμει και η αναλογικά μεγαλύτερη μείωση του επιπέδου της hsCRP στην ομάδα που έλαβε αγωγή, η έλλειψη επίδρασης της κολχικίνης στον όγκο του συνολικού αθηρώματος και η έντονα θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ της μεταβολής του όγκου των LAP και του επιπέδου της hsCRP.

Σε αντίθεση με τη προηγούμενη μελέτη η “Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial” (COLCOT) εστίασε σε κλινικά καταληκτικά σημεία [472]. Στους κόλπους της εντάχθηκαν 4745 ασθενείς οι οποίοι είχαν υποστεί OEM τις προηγούμενες 30 ημέρες για το οποίο είχαν (στην πλειοψηφία τους, 93%) υποβληθεί σε αγγειοπλαστική. Η μελέτη ήταν διπλά τυφλή και το πρωτόκολλο προέβλεπε χορήγηση κολχικίνης (0.5mg 2366 ασθενείς) ή εικονικό φάρμακο (2.379 ασθενείς). Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο σε περίοδο παρακολούθησης 22.6 μηνών, ήταν το σύμπλοκο θανάτου από καρδιαγγειακά αίτια, αναταχθείς καρδιακός θάνατος, έμφραγμα του μυοκαρδίου, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, η επείγουσα εισαγωγή για στηθάγχη για την οποία απαιτήθηκε επαναγγείωση των στεφανιαίων αρτηριών. Τα παραπάνω συμβάντα εξετάστηκαν και μεμονωμένα ενώ παράλληλα ελέγχθηκε και το προφίλ ασφαλείας του φαρμάκου. Τα προκαθορισμένα καταληκτικά σημεία περιλάμβαναν ακόμα τη μεταβολή από την αρχική τιμή σε 6 μήνες των επιπέδων της hsCRP (η συγκεκριμένη παράμετρος ήταν προαιρετική και μετρήθηκε σε 34 κέντρα) καθώς και τη μεταβολή του αριθμού των λευκοκυττάρων στους 12 μήνες. Σύμφωνα με τους ερευνητές το πρωτογενές τελικό σημείο καταγράφηκε στο 5.5% των ασθενών στην ομάδα της κολχικίνης και στο 7.1% των ασθενών της ομάδας του εικονικού φαρμάκου (hazard ratio, 0.77; 95% confidence interval [CI], 0.61 to 0.96; $P=0.02$). Η διαφορά αυτή προέκυψε κατά κύριο λόγο από τη μείωση των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων καθώς επίσης και από τη μείωση των νοσηλείων για στηθάγχη.

Οι λόγοι επικινδυνότητας (hazard ratios) ήταν: για τον καρδιαγγειακό θάνατο 0.84 (95% CI, 0.46 to 1.52), για τον αναταχθέντα καρδιακό θάνατο 0.83 (95% CI, 0.25 to 2.73), για το έμφραγμα του μυοκαρδίου 0.91 (95% CI, 0.68 to 1.21), για το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο 0.26 (95% CI, 0.10 to 0.70) και για την στηθάγχη για την οποία απαιτήθηκε επείγουσα επαναγγείωση 0.50 (95% CI, 0.31 to 0.81). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι εν λόγω διαφορές καταγράφηκαν σε ασθενείς που ελάμβαναν πλήρη αγωγή για στεφανιαία νόσο συμπεριλαμβανομένων δύο αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων και στατινών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το ότι δεν καταγράφηκαν σημαντικά στατιστικές διαφορές στη μείωση του επιπέδου της hsCRP και στον αριθμό των λευκοκυττάρων μεταξύ των δύο ομάδων. Το γεγονός αυτό ίσως να σχετίζεται με τον μη τυχαία επιλεγμένο και σχετικά μικρό αριθμό των ασθενών στους οποίους καταγράφηκε η hsCRP ή ενναλακτικά να αντικατοπτρίζει το μάλλον μεγάλο χρονικό διάστημα που μεσολάβησε μεταξύ των μετρήσεων. Επίσης σημαντικό (και ανησυχητικό) είναι το γεγονός ότι οι ασθενείς που έλαβαν κολχικίνη νόσησαν από πνευμονία σε ποσοστό 0.9% έναντι 0.4% αυτών της ομάδας ελέγχου ($P=0.03$). Αντιθέτως τα ποσοστά διάρροιας μεταξύ των δύο ομάδων δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά.

Κολχικίνη και οξέα στεφανιαία σύνδρομα/βλάβη επαναιμάτωσης

Η φλεγμονή παίζει καθοριστικό ρόλο στη παθοφυσιολογία των ΟΣΣ. Μετά την αποκατάσταση της ροής της στεφανιαίας κυκλοφορίας παρατηρούνται τα φαινόμενα της βλάβης επαναιμάτωσης και της μη επανορροής (no-reflow), που όπως αναπτύξαμε νωρίτερα περιλαμβάνουν την κινητοποίηση κυτταροτοξικών και φλεγμονωδών μεσολαβητών. Παρόλα αυτά υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα σχετικά με την χρήση της κολχικίνης στο πλαίσιο αυτό. Μόνο έξι μελέτες, μέχρι σήμερα, έχουν εξετάσει το ρόλο της στην θεραπεία του ΟΣΣ.

Η πρώτη εξ αυτών χρησιμοποίησε ένα ζωικό πειραματικό μοντέλο ανοιχτού θώρακα (open chest) σε σκύλους [473]. Σκύλοι στους οποίους είχε χορηγηθεί αναισθησία υποβλήθηκαν σε 120 λεπτά ισχαιμίας (η οποία επιτεύχθηκε με απολίνωση του προσθίου κατιόντα) και την οποία ακολούθησαν έξι ώρες επαναιμάτωσης. Οι σκύλοι στους οποίους είχε χορηγηθεί κολχικίνη εμφάνισαν μειωμένο αριθμό ουδετερόφιλων ($P < 0,01$), μειωμένη κυτταροτοξικότητα των ουδετερόφιλων ($P < 0,05$) και μειωμένη συσσώρευση ουδετεροφίλων στο μυοκάρδιο ($P=0,006$). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε μείωση του μεγέθους του εμφράγματος. Σε ένα άλλο επίσης ζωικό πειραματικό μοντέλο, αυτή τη φορά σε ποντίκια, που είχαν υποβληθεί σε ισχαιμία χωρίς επαναιμάτωση, χορηγήθηκε καθημερινά υψηλή δόση κολχικίνης (0.1 mg/kg) για επτά ημέρες και τα ζώα παρακολουθήθηκαν για ένα διάστημα 40 ημερών. Η ιστολογική και γονιδιακή ανάλυση έδειξε ότι η κολχικίνη ανέστειλε σημαντικά την διείσδυση ουδετερόφιλων και μακροφάγων στο μυοκάρδιο και εξασθένησε την έκφραση του mRNA των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών και των συστατικών του NLRP3 φλεγμονοσώματος 24 ώρες μετά το OEM. Επίσης μείωσε σημαντικά το μέγεθος της ισχαιμικής περιοχής και την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας, και αύξησε την επιβίωση [474].

Στο στίβο των κλινικών μελετών, η πρώτη μελέτη που διεξήχθη ήταν μια μικρή, πιλοτική μελέτη [475]. Οι Raju et al. μελέτησαν 80 ασθενείς με ΟΣΣ ή οξύ ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, με την πλειονότητα των ασθενών να εμφανίζουν ΟΣΣ (73 έναντι 7). Σαράντα ασθενείς έλαβαν per os κολχικίνη (1 mg ημερησίως) για 30 ημέρες, ενώ οι υπόλοιποι έλαβαν θεραπεία με εικονικό φάρμακο (ομάδα ελέγχου). Η μελέτη δεν έδειξε διαφορά στις τιμές της hsCRP και στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων

μεταξύ των ασθενών που έλαβαν κολχικίνη και την ομάδα ελέγχου ενώ κατά την περίοδο της παρακολούθησης δεν σημειώθηκαν θάνατοι. Αν και αυτά τα αποτελέσματα φαίνεται να έρχονται σε αντίθεση με το όφελος που παρατηρείται από την κολχικίνη σε ασθενείς με σταθερή ΣΝ, υπάρχουν μερικά μεθοδολογικά ζητήματα που εμποδίζουν τη γενίκευσή τους. Το πρώτο από αυτά έχει να κάνει με το παράθυρο της αξιολόγησης. Η hsCRP και η συσσώρευση των αιμοπεταλίων επιλέχθηκαν ως «υποκατάστατα» της κλινικής αποτελεσματικότητας. Δεν είναι όμως σαφές εάν οι 4 εβδομάδες μετά το οξύ επεισόδιο είναι ο βέλτιστος χρόνος για την αξιολόγηση τους. Το δεύτερο έχει να κάνει με τον πληθυσμό της μελέτης. Οι συγγραφείς στη δημοσίευσή τους αναφέρουν ότι συμπεριέλαβαν ασθενείς με ΟΣΣ χωρίς να διαχωρίζουν μεταξύ ασταθούς στηθάγχης, εμφράγματος STEMI και εμφράγματος NSTEMI. Επίσης, δεν είναι γνωστό πόσες ώρες μετά τη διάγνωση του ΟΣΣ χορηγήθηκε η κολχικίνη και εάν οι εν λόγω ασθενείς υποβλήθηκαν σε πρωτογενή αγγειοπλαστική ή θρομβόλυση.

Οι Martinez et al. αξιολόγησαν την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών σε ασθενείς με ΟΣΣ, σταθερή ΣΝ και σε μάρτυρες [456]. Επίσης μελέτησαν το αν και κατά πόσο η χορήγηση κολχικίνης κατά την οξεία φάση την αναστέλλει. Στην μελέτη συμπεριελήφθησαν σαράντα ασθενείς με ΟΣΣ, 33 με σταθερή ΣΝ και 10 υγιείς μάρτυρες. Οι ασθενείς με ΟΣΣ (NSTEMI, UA) και αυτοί με σταθερή ΣΝ τυχαιοποιήθηκαν σε per os θεραπεία με κολχικίνη (1 mg συν 0,5 mg μια ώρα αργότερα) ή χωρίς κολχικίνη, 6 έως 24 ώρες πριν από τον καρδιακό καθετηριασμό. Δείγματα αίματος από τον στεφανιαίο κόλπο, την αορτική ρίζα (αρτηριακό αίμα) και τον δεξιό κόλπο (φλεβικό αίμα) συλλέχθηκαν και προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των ιντερλευκινών-1β, 18 και 6 (IL-1β, IL-18 και IL-6) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ELISA. Σε ασθενείς με ΟΣΣ, τα επίπεδα των κυτοκινών IL-1β, IL-18 και IL-6 στο στεφανιαίο κόλπο ήταν σημαντικά υψηλότερα από ότι τα επίπεδα στο αρτηριακό και στο φλεβικό αίμα ($P = 0,017$, $<0,001$ και $<0,001$ αντίστοιχα). Η διαφορά μεταξύ των επιπέδων στο στεφανιαίο κόλπο και στο αρτηριακό αίμα ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με ΟΣΣ και μικρότερη στους μάρτυρες. Η χορήγηση κολχικίνης σε ασθενείς με ΟΣΣ μείωσε από 40% έως 88% τη διαφορά της συγκέντρωσης μεταξύ του στεφανιαίου κόλπου και του αρτηριακού αίματος και για τις τρεις κυτοκίνες ($P = 0,028$, $0,032$ και $0,032$, για IL-1β, IL-18 και IL-6 αντίστοιχα). Βάση αυτών των αποτελεσμάτων οι ερευνητές πρότειναν ότι η κολχικίνη επιπλέον της επίδρασής της στα λευκοκύτταρα μπορεί να ασκεί και επίδραση στο φλεγμονόσωμα (π.χ. αναστολή της συγκρότησής του).

Η ίδια ομάδα, περίπου ένα χρόνο αργότερα, διεξήγαγε μια παρόμοια μελέτη που αυτή τη φορά σκοπό είχε να αξιολογήσει την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος στα μονοκύτταρα και την επίδραση της κολχικίνης στην καταστολή της φλεγμονής που προέρχεται από την ενεργοποίησή του [457]. Οι 21 ασθενείς με ΟΣΣ της μελέτης τυχαιοποιήθηκαν σε θεραπεία με κολχικίνη (1 mg που ακολουθήθηκε από 0,5 mg 1 ώρα αργότερα) ή δεν έλαβαν θεραπεία και συγκρίθηκαν με υγιή άτομα ($n = 9$) που δεν υποβλήθηκαν σε θεραπεία. Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν από περιφερικές φλέβες προ- (ημέρα 1) και 24 ώρες μετά (ημέρα 2) την αγωγή. Τα μονοκύτταρα καλλιεργήθηκαν και στη συνέχεια διεγέρθηκαν με ATP ενώ η ανάλυση των βασικών δεικτών του φλεγμονοσώματος έγινε με τη μέθοδο ELISA. Η έκκριση της IL-1β αυξήθηκε κατά 580,4% ($P < 0,01$) σε ασθενείς με ΟΣΣ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, αλλά μόνο κατόπιν χορήγησης ATP. Επίσης σε ασθενείς με ΟΣΣ βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα IL-18 σε σύγκριση με υγιή άτομα ανεξαρτήτως χορήγησης ATP ($P < 0,05$). Η θεραπεία με κολχικίνη μείωσε σημαντικά τα ενδοκυττάρια και τα εκκρινόμενα επίπεδα της IL-1β σε σύγκριση με τα επίπεδα πριν από τη θεραπεία ($P < 0,05$ και για τα δύο), καθώς επίσης και τα επίπεδα mRNA της προ-κασπάσης-1 κατά 57,7% και της εκκρινόμενης κασπάσης-1 κατά 30,2% σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν είχαν λάβει

θεραπεία ($P < 0,05$ και για τους δύο). Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι και στις δύο μελέτες το σχετικά μικρό μέγεθος του πληθυσμού των ασθενών και η έλλειψη κλινικών παραμέτρων και αποτελεσμάτων καθιστούν τα στοιχεία υπέρ της θεραπείας με κολχικίνη, περιστασιακά.

Η πλέον πρόσφατη μελέτη που ερευνούσε την επίδραση της κολχικίνης σε ασθενείς με STEMI σκοπό είχε να μελετήσει την δράση του φαρμάκου στις φλεγμονώδεις διεργασίες όπως αντικατοπτρίζονται από τα επίπεδα της CRP [476]. Η προοπτική μελέτη συμπεριέλαβε 44 ασθενείς οι οποίοι, μετά την αγγειοπλαστική, τυχαιοποιήθηκαν 1:1 να λάβουν ή 1mg κολχικίνης άπαξ ημερησίως για 1 μήνα συν βέλτιστη φαρμακευτική αγωγή ή μόνο βέλτιστη φαρμακευτική αγωγή. Η CRP αξιολογήθηκε κατά την εισαγωγή και καθημερινά μέχρι και την έξοδο από το νοσοκομείο. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μέγιστη τιμή CRP κατά τη διάρκεια της νοσηλείας. Ως δευτερογενή καταληκτικά σημεία ορίστηκαν η μέγιστη τιμή της τροπονίνης, η ανοχή στη θεραπεία της κολχικίνης, η διάρκεια της νοσηλείας, τα μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα (θάνατος, καρδιοαναπνευστική αναζωογόνηση σε έδαφος καρδιακής ανακοπής, κοιλιακές αρρυθμίες, θρόμβωση του stent, έμφραγμα του μυοκαρδίου, επείγουσα επαναγγείωση της στεφανιαίας αρτηρίας και οξεία καρδιακή ανεπάρκεια) στον ένα μήνα παρακολούθησης και η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας όπως αυτή καταγράφηκε με υπερηχογραφικούς δείκτες και με δεδομένα μαγνητικής τομογραφίας. Στο κομμάτι των αποτελεσμάτων δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην μέση τιμή της CRP μεταξύ των ομάδων κολχικίνης και ελέγχου (29,03 mg / L έναντι 21,86 mg / L, αντίστοιχα, $P = 0,36$) ενώ το ίδιο ίσχυσε και για τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία. Εδώ θα πρέπει να αναφέρουμε ότι παρόλο που οι δυο ομάδες είχαν παρόμοια χαρακτηριστικά όσον αφορά την ηλικία, το φύλο, τους παράγοντες κινδύνου, τη ροή TIMI (Thrombolysis in myocardial infarction flow) και χρόνο από την έναρξη του πόνου μέχρι την επαναγγείωση, στην ομάδα της κολχικίνης η ένοχη βλάβη αφορούσε πιο συχνά στον πρόσθιο κατιόντα και ως εκ τούτου αντικατόπτριζε μια ομάδα ασθενών με μεγαλύτερη έκταση μυοκαρδίου σε κίνδυνο (area at risk) και σοβαρότερη νόσο. Τα αποτελέσματα όμως για τη CRP παρέμειναν αμετάβλητα και μετά από την ανάλογη προσαρμογή που λάμβανε υπόψη το ένοχο αγγείο. Τα δεδομένα από τη μαγνητική τομογραφία καρδιάς, τα οποία ήταν διαθέσιμα για 19 ασθενείς στην ομάδα της κολχικίνης και 17 ασθενείς στην ομάδα ελέγχου, έδειξαν ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων όσον αφορά το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας (56,5% στην ομάδα της κολχικίνης έναντι 50,6% στην ομάδα ελέγχου. $P = 0,15$), τους τελοσυστολικούς και τελοδιαστολικούς όγκους, και το φαινόμενο της μη επανααρροής. Διαφορά όμως υπήρχε στο ποσοστό του διατοιχωματικού εμφραγμάτος που ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο στην ομάδα της κολχικίνης [16 ασθενείς (69,6%) έναντι 9 ασθενών (42,9%), $P = 0,04$]. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν και τα αποτελέσματα από τις ανεπιθύμητες ενέργειες που καταγράφηκαν. Δέκα ασθενείς εμφάνισαν δυσανεξία στην κολχικίνη (43,4%) και παρουσίασαν διάρροια, ναυτία ή έμετο, αλλά η διακοπή της θεραπείας ήταν απαραίτητη μόνο για τρεις ασθενείς (13,0%). Τέλος δεν καταγράφηκαν περιπτώσεις ηπατοτοξικότητας ή μυελοτοξικότητας.

Η ομάδα του καθηγητή Δευτεραίου ακολούθησε μια άλλη προσέγγιση. Ο στόχος ήταν να εξεταστεί το κατά πόσον μία σύντομη περιεγχειρητική θεραπεία με κολχικίνη, σε ασθενείς που υποβάλλονται σε επέμβαση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης (CABG), θα είχε ως αποτέλεσμα τη μειωμένη μετεγχειρητική άνοδο των επιπέδων των βιοδεικτών μυοκαρδιακής βλάβης [477]. Αυτή η μικρή, κλινική, διπλά τυφλή μελέτη συμπεριέλαβε 59 ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε κολχικίνη ή εικονικό φάρμακο αρχίζοντας 48 ώρες πριν την προγραμματισμένη επέμβαση και για 8

ημέρες μετά (0,5 mg δύο φορές την ημέρα). Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν η μέγιστη τιμή της υψηλής ευαισθησίας τροπονίνης T (hsTnT) εντός 48 ωρών μετά από την επέμβαση. Τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία περιλάμβαναν τη μέγιστη τιμή του καρδιακού ισοενζύμου της κρεατινικής κινάσης (CK-MB) και το εμβαδόν της περιοχής κάτω από την καμπύλη (AUC) των συγκεντρώσεων hsTnT και CK-MB. Η μέγιστη τιμή της hsTnT ήταν 616 pg/ml στην ομάδα της κολχικίνης έναντι 1,613 pg/ml στην ομάδα ελέγχου ($P=0,002$). Η μέγιστη τιμή του CK-MB ήταν 44,6 ng/ml και 93,0 ng/ml αντίστοιχα ($P=0,002$). Η μέση τιμή της AUC για την hsTnT ήταν 40,755 pg h/ml στην ομάδα ελέγχου έναντι 20,363 pg h/ml στην ομάδα της κολχικίνης ($P=0,002$). Η μέση τιμή της AUC για το CK-MB ήταν 2.552 ng h/ml στην ομάδα ελέγχου και 1.586 ng h/ml στην ομάδα της κολχικίνης ($P=0,003$). Η απελευθέρωση hsTnT μετά από CABG αποτελεί έναν αποδεδειγμένο έμμεσο δείκτη βραχυχρονίων και μακροχρονίων αποτελεσμάτων [478-480] που όμως δεν μπορεί να υποκαταστήσει κλινικά καταληκτικά σημεία.

Κολχικίνη και αγγειοπλαστική

Δύο προοπτικές, τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο μελέτες εξέτασαν τα αποτελέσματα της κολχικίνης στη επαναστένωση μετά από αγγειοπλαστική. Η πρώτη περιελάμβανε 197 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αγγειοπλαστική για σταθερή ΣΝ, χωρίς την τοποθέτηση ενδοπρόσθεσης (stent, plain old balloon angioplasty, POBA) [481]. Κατά τη διάρκεια της εξάμηνης παρακολούθησης η κολχικίνη (0,6 mg δύο φορές ημερησίως) απέτυχε στο να μειώσει την συχνότητα επαναστένωσης των βλαβών στις οποίες είχε γίνει αρχικά η παρέμβαση. Η δεύτερη συμπεριέλαβε 196 διαβητικούς ασθενείς οι οποίοι έλαβαν μη επικαλυμμένες ενδοπρόσθεσεις (bare metal stent, BMS) λόγω αντενδείξεων στις επικαλυμμένες (drug eluting stent, DES) [482]. Από τη μελέτη εξαιρέθηκαν ασθενείς με STEMI. Οι συμμετέχοντες τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν κολχικίνη, 0,5 mg δύο φορές την ημέρα, ή εικονικό φάρμακο για 6 μήνες. Η επαναστένωση των stent (in stent restenosis, ISR) και ο σχηματισμός νέου έσω χιτώνα (neointima) μελετήθηκαν με αγγειογραφία και IVUS 6 μήνες μετά την αγγειοπλαστική. Η συχνότητα επαναστένωσης με βάση την αγγειογραφική απεικόνιση ήταν 16% στην ομάδα κολχικίνης και 33% στην ομάδα ελέγχου ($P=0,007$). Ο αναγκαίος αριθμός ασθενών για θεραπεία (Number Needed to Treat) έτσι ώστε να αποφευχθεί μία επαναστένωση ήταν 6. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα για την ISR που διεγνώσθη με τη βοήθεια του IVUS (number needed to treat = 5). Η μείωση του αυλού (lumen area loss) ήταν 1,6mm² στους ασθενείς που έλαβαν κολχικίνη και σε 2,9 mm² στην ομάδα ελέγχου ($P=0,002$). Οι κύριες ανεπιθύμητες ενέργειες αφορούσαν το γαστρεντερικό. Από τους ασθενείς που έλαβαν κολχικίνη, το 16% ανέφερε διάρροια ή ναυτία έναντι του 7% των ασθενών που έλαβαν εικονικό φάρμακο ($P=0,058$) ενώ δεν υπήρξαν περιπτώσεις ηπατοτοξικότητας ή μυελοκαταστολής.

Κολχικίνη και ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια

Τα τελευταία χρόνια, η συμμετοχή της φλεγμονής στην παθοφυσιολογία της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας έχει γίνει αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας. Στο πλαίσιο αυτό ένας αριθμός φλεγμονωδών μονοπατιών και μηχανισμών έχει μελετηθεί εκτενώς [483, 484]. Η Ευρωπαϊκή Καρδιολογική Εταιρεία αναγνωρίζοντας το γεγονός αυτό εξέδωσε μια συμφωνία ειδικών (consensus statement) [485] επισημαίνοντας ότι, αν και η φλεγμονή φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στην καρδιακή ανεπάρκεια, όλες οι αντιφλεγμονώδεις θεραπείες που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα δεν έχουν δείξει κάποιο όφελος [486]. Η κολχικίνη, με τις ιδιαίτερες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές που διαθέτει και την καλή ανοχή που έχουν επιδείξει ασθενείς (με FMF για παράδειγμα) που την λαμβάνουν

για μακρά χρονικά διαστήματα, φαίνεται, θεωρητικά τουλάχιστον, να είναι ένας ιδανικός υποψήφιος για τη χρόνια αντιφλεγμονώδη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας. Επιπλέον, πειράματα σε ανθρώπινα και ζωικά μοντέλα καρδιακής ανεπάρκειας δείχνουν ότι η αυξημένη πυκνότητα των μικροσκληρίσκων (densification) σχετίζεται με μυοκαρδιακή δυσλειτουργία [487], παρέχοντας έτσι ένα επιπλέον στοιχείο υπέρ της χρήσης της κολχικίνης σε αυτούς τους ασθενείς.

Στα περισσότερα ζωικά μοντέλα καρδιακής ανεπάρκειας που προκλήθηκε από υπερφόρτιση πίεσης (pressure-overload) η κολχικίνη μείωσε ή και ανεστρέψε την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας [488-490] και αύξησε την επιβίωση [459]. Σε άλλες όμως περιπτώσεις δεν φάνηκε να επηρεάζει τη συστολική ή τη διαστολική δυσλειτουργία [491]. Παθοφυσιολογικά η ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια διαφέρει από την καρδιακή ανεπάρκεια που προκαλείται από pressure-overload. Παρόλα αυτά η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας παίζει πρωτεύοντα ρόλο και στις δύο οντότητες.

Σε επίπεδο κλινικών μελετών οι Δευτεραίος et. al διεξήγαγαν μια διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη, όπου 279 ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια χωρίστηκαν σε δύο ομάδες εκ των οποίων η μια έλαβε θεραπεία 6 μηνών με 0,5 mg κολχικίνης δύο φορές ημερησίως (140 ασθενείς) ενώ η άλλη έλαβε εικονικό φάρμακο [492]. Ως πρωτογενές καταληκτικό σημείο ορίστηκε η βελτίωση κατά μια τουλάχιστον βαθμίδα στην κατάταξη της καρδιακής ανεπάρκειας κατά NYHA (New York Heart Association class). Παρόλο που οι ασθενείς στην ομάδα της κολχικίνης έδειξαν σημαντική μείωση των επιπέδων της hsCRP και της IL-6 σε σχέση με αυτούς στην ομάδα ελέγχου, δεν σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές κλινικές διαφορές μεταξύ τους. Η μελέτη συμπεριέλαβε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια ανεξαρτήτως αιτιολογίας (ισχαιμική, διατακτική κ.λπ.) και η ισχύς της επαρκούσε για να καταγράψει ακόμα και μια μέτρια διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων. Οι ασθενείς με νόσο ισχαιμικής αιτιολογίας ήταν η πλειοψηφία και στις δύο ομάδες (71% και στις δύο ομάδες). Ως εκ τούτου, στη συγκεκριμένη υποομάδα, είναι εξαιρετικά απίθανο να μην είχε καταγραφεί μια σημαντική διαφορά, εφόσον υπήρχε.

Μετα-αναλύσεις για την επίδραση της κολχικίνης στα καρδιαγγειακά συμβάματα

Δύο μετα-αναλύσεις προοπτικών κλινικών μελετών εξέτασαν τις επιδράσεις της κολχικίνης στο καρδιαγγειακό. Η πρώτη διεξήχθη από την ομάδα Cochrane και συμπεριέλαβε 39 τυχαιοποιημένες μελέτες με ένα ευρύτερο φάσμα (4992) ασθενών με και χωρίς καρδιαγγειακή νόσο. Συνολικά, η κολχικίνη δεν βρέθηκε να έχει επίδραση στη θνητότητα (σχετικός κίνδυνος, 0.94, 95% CI, 0.82-1.09) με τα διαθέσιμα στοιχεία να είναι από χαμηλής έως μέτριας ποιότητας [493]. Ο κίνδυνος εμφράγματος του μυοκαρδίου μειώθηκε (αλλά με ευρεία διαστήματα εμπιστοσύνης, σχετικός κίνδυνος, 0.20, 95% CI, 0.07-0.57; 2 μελέτες). Τέλος πέρα από μια δυσανεξία από το γαστρεντερικό δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Η δεύτερη μετα-ανάλυση εστίασε σε 5 μόνο μελέτες που περιλάμβαναν 1301 ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο (στεφανιαία νόσο, οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, εγκεφαλικό επεισόδιο, αγγειοπλαστική, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια) [494]. Η ανάλυση στο σύνολο του πληθυσμού έδειξε μείωση της επίπτωσης των καρδιαγγειακών συμβαμάτων κατά περίπου 60% (risk ratio, 0.44, 95% CI, 0.28-0.69) στους ασθενείς που έλαβαν κολχικίνη. Και σε αυτή την περίπτωση όμως η θεραπεία με κολχικίνη δεν έδειξε να επηρεάζει τη θνητότητα.

Μελέτες που διεξάγονται σήμερα ή βρίσκονται στη φάση σχεδιασμού

Μια νέα κλινική μελέτη η COACS (Colchicine for Acute Coronary Syndromes) από την Ιταλία (NCT01906749) εντάσσει ασθενείς μετά από ΟΣΣ. Η μελέτη LoDoCo2 από την Αυστραλία και την Ολλανδία διερευνά την δράση του φαρμάκου (0,5 mg ημερησίως) σε ασθενείς οι οποίοι ήταν σταθεροί για τουλάχιστον 6 μήνες πριν από την ένταξη τους χωρίς να απαιτείται ο προσδιορισμός των επιπέδων φλεγμονωδών δεικτών κατά το αρχικό στάδιο (U1111-1139-8608). Το σύνθετο πρωτογενές καταληκτικό σημείο περιλαμβάνει τον καρδιαγγειακό θάνατο, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και την ασταθή στηθάγχη που απαιτεί επαναγγείωση. Η ομάδα απαρτίζεται από ένα ετερογενή πληθυσμό ασθενών με ΣΝ ηλικίας 45-82 ετών που βρίσκεται υπό βέλτιστη φαρμακευτική αγωγή. Τέλος δύο άλλες κλινικές μελέτες βρίσκονται στη φάση του σχεδιασμού και θα ξεκινήσουν σύντομα. Η CLEARSYNERGY (OASIS-9; Colchicine and Spironolactone in Patients With STEMI/SYNERGY Stent Registry) θα χρησιμοποιήσει ένα 2 × 2 παραγοντικό σχεδιασμό για να ερευνήσει το αποτέλεσμα της κολχικίνης (1 mg ημερησίως) έναντι της σπιρονολακτόνης ή εικονικού φαρμάκου σε 4000 ασθενείς που είχαν πρόσφατα υποστεί STEMI (NCT03048825). Η CONVINCENCE (Colchicine for Prevention of Vascular Inflammation in Non-cardio Embolic Stroke) θα διερευνήσει την επίδραση χαμηλής δόσης κολχικίνης (0,5 mg ημερησίως) στα καρδιαγγειακά συμβάματα σε περίπου 2500 ασθενείς με προηγούμενα συμπτωματικά αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (NCT02898610). Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο και των δύο μελετών απαρτίζεται από τον καρδιαγγειακό θάνατο, το OEM και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΟΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ

Όπως έχει γίνει φανερό από τα όσα έχουμε αναπτύξει, στο OEM η έκταση της βλάβης συνδέεται στενά με την πρόγνωση [495]. Στη σύγχρονη καρδιολογία, οι τεχνολογίες απεικόνισης επιτρέπουν την ακριβή μέτρηση του μεγέθους του εμφράγματος. Ωστόσο στην καθημερινή κλινική πρακτική, η χρήση των μεθόδων απεικόνισης για τέτοιου είδους μετρήσεις περιορίζεται από το κόστος και την διαθεσιμότητα. Με αυτό ως δεδομένο, οι βιοχημικοί δείκτες παραμένουν η πιο ρεαλιστική και απλή μέθοδος. Τα τελευταία 30 χρόνια η ανάπτυξη ευαίσθητων βιοδεικτών μυοκαρδιακής νέκρωσης όπως είναι η κρεατινική κινάση και η Tn και η χρήση τους αρχικά για διαγνωστικούς και μετέπειτα για προγνωστικούς σκοπούς είχε ως αποτέλεσμα μια πληθώρα μελετών που διερευνήσε τη χρησιμότητα και την ακρίβεια τους στον προσδιορισμό του μεγέθους του εμφράγματος.

Κρεατινική κινάση

Η κρεατινική κινάση είναι ένα ένζυμο το οποίο απαντάται αποκλειστικά στο κυτταρόπλασμα διαφόρων ιστών. Ο βιολογικός της ρόλος είναι η κατάλυση της μετατροπής της κρεατίνης σε φωσφοκρεατίνη και ADP με την κατανάλωση ενός μορίου ATP. Το ένζυμο διαθέτει δύο υπομονάδες [M(muscle) και B(brain) 43-45kDa] ο συνδυασμός των οποίων ορίζει τις τρεις κύριες ισομορφές του. Έτσι η CK-MM (CK-3) βρίσκεται κυρίως στους σκελετικούς μύες, η CK-BB (CK-1) στον εγκέφαλο και η CK-MB (CK-2) στο μυοκάρδιο. Υπάρχουν και άλλες δυο ισομορφές που εντοπίζονται στα μιτοχόνδρια (CK-Mt). Το CK-MB εμφανίζεται στο αίμα σε δύο μορφές. Το MB₂ απελευθερώνεται από τα κύτταρα του μυοκαρδίου και μετατρέπεται μέσω υδρόλυσης σε MB₁ [496]. Ο προσδιορισμός των επιπέδων του στο αίμα γίνεται μέσω ανοσοαντίδρασης με μονοκλωνικά αντισώματα (CK-MB μάζα ή Mass CK-MB ή MMB).

Μέχρι το 2000 περίπου θεωρείτο η μέθοδος αναφοράς για τη διάγνωση των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων οπότε και αντικαταστάθηκε από την Tn. Η μειωμένη ειδικότητα του (παθολογικές τιμές σε περίπτωση μυοπαθειών, εγκαυμάτων, χειρουργικών παρεμβάσεων, ραβδομυόλυσης, υπερβολικής σωματικής άσκησης κ.λπ.) και η χαμηλή ευαισθησία της τις πρώτες 6 ώρες μετά από ένα ΟΣΣ καθιστούν την Tn ένα ιδανικότερο βιοδείκτη τουλάχιστον σε ότι αφορά στη διάγνωση του ΟΣΣ. Παρόλα αυτά η ταχύτερη μείωση των επιπέδων του μετά το ΟΣΣ (σε σχέση με την Tn), σε συνδυασμό με τη σύντομη διάρκεια νοσηλείας που ακολουθείται στη σύγχρονη πρακτική και τη σχετική τυποποίηση των δοκιμασιών μάζας CK-MB ανάμεσα στους κατασκευαστές των αντιδραστηρίων είναι χαρακτηριστικά που τοποθετούν το CK-MB σε πλεονεκτική θέση όσον αφορά στην εκτίμηση της έκτασης της μυοκαρδιακής νέκρωσης σε κλινικές δοκιμές [497]. Η σχέση μεταξύ των επιπέδων του CK-MB και του μεγέθους του εμφράγματος έχει εδραιωθεί μέσω παθολογικών και απεικονιστικών ερευνών. Επιπλέον, το μέγεθος εμφράγματος που μετράται με την απελευθέρωση της CK-MB σχετίζεται με την βραχυπρόθεσμη και την μακροπρόθεσμη έκβαση των ασθενών τόσο σε μελέτες επαναγγείωσης με θρομβόλυση όσο και σε μελέτες με αγγειοπλαστική [497]. Πρόσφατα μια πλειάδα μελετών που συνέκρινε διάφορους βιοδείκτες για τον προσδιορισμό του μεγέθους της μυοκαρδιακής βλάβης κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η CK-MB αποτελεί ένα βιοδείκτη ανώτερο της Tn [498-500]. Μάλιστα αυτή η ακρίβεια επιτυγχάνεται χωρίς την ανάγκη πολλαπλών μετρήσεων καθώς η μέγιστη τιμή του CK-MB μπορεί να είναι ενδεικτική του μεγέθους [497, 500, 501]. Εναλλακτικά μοντέλα ανάλυσης της κινητικής του ενζύμου μπορεί να επιτύχουν ακόμα πιο ακριβή αποτελέσματα [499]. Σε κάθε περίπτωση όμως η μεταβλητότητα μπορεί να μειωθεί και η στατιστική ισχύς να αυξηθεί με μετρήσεις που συνυπολογίζουν πολλαπλές τιμές όπως είναι το εμβαδόν της περιοχής κάτω από την καμπύλη (AUC)[502].

Τροπονίνη

Η Tn είναι ένα πρωτεϊνικό σύμπλοκο αποτελούμενο από τρεις υπομονάδες (T, C και I) που τροποποιούν την επαγόμενη από το Ca^{2+} αλληλεπίδραση μεταξύ της ακτίνης και της μυοσίνης στο μυοκαρδιακό ιστό. Η TnI παρεμποδίζει τη σύσπαση στη φάση χάλασης, η TnC συνδέεται με το Ca^{2+} και ξεκινά τη μυϊκή σύσπαση ενώ η TnT συνδέει το σύμπλοκο τροπονίνης με το μόριο της τροπομυοσίνης. Ως εκ τούτου η Tn εντοπίζεται στα ινίδια σε ποσοστό 94-97%, ενώ το κυτταροπλασματικό της κλάσμα ανέρχεται μόλις στο 3-6% [503, 504]. Η μέτρηση των επιπέδων της στο αίμα γίνεται με τη βοήθεια ανοσο-αντιδράσεων που χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον καρδιο-ειδικών επιτόπων.

Αυξήσεις της συγκέντρωσης της τροπονίνης φανερώνουν μυοκαρδιακή βλάβη, χωρίς όμως αυτό να είναι απαραίτητα και δείκτης ισχαιμικού θανάτου. Σε μερικές περιπτώσεις οι αυξήσεις αυτές μπορεί να αντικατοπτρίζουν αυξημένη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης ή απελευθέρωση προϊόντων πρωτεολυτικής αποδόμησης της τροπονίνης [505]. Εμμένουσα, μετρίου βαθμού, αύξηση των επιπέδων της τροπονίνης απαντάται και σε φυσιολογικά άτομα και αποδίδεται σε μια αργή και επιβραδυνόμενη με την ηλικία ανανέωση του πληθυσμού των κυττάρων του μυοκαρδίου [506]. Επιπλέον, μπορεί να υπάρχουν ιστολογικές ενδείξεις θανάτου των μυοκαρδιακών κυττάρων απουσία ισχαιμίας. Για παράδειγμα, σε ζωικά μοντέλα, η βλάβη που προκαλείται από το ψύχος (cryoinjury) έχει ως αποτέλεσμα την ξαφνική και εκτεταμένη νέκρωση απουσία ισχαιμίας. Σε ασθενείς, η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, η νεφρική ανεπάρκεια, η μυοκαρδίτιδα και άλλες παθήσεις μπορεί να προκαλέσουν μη ισχαιμικό θάνατο ενός σημαντικού αριθμού μυοκαρδιακών κυττάρων. Το ίδιο ισχύει και για ορισμένες ιατρικές πράξεις

όπως η κατάλυση της κολπικής μαρμαρυγής. Αυτές οι οντότητες δεν θα πρέπει να συγχέονται με το OEM [11].

Σε περίπτωση μυοκαρδιακής νέκρωσης, η συγκέντρωση της τροπονίνης στο αίμα αυξάνεται αρχικά λόγω της απελευθέρωσης του κυτταροπλασματικού κλάσματος και στη συνέχεια λόγω μιας πιο αργής και παρατεταμένης απελευθέρωσης του κλάσματος που εντοπίζεται στα ινίδια [507]. Σε ασθενείς με STEMI οι οποίοι έχουν υποβληθεί σε θεραπεία επαναιμάτωσης (αγγειοπλαστική ή θρομβόλυση), η αποκατάσταση της ροής στο επικαρδιακό δίκτυο οδηγεί σε μια ταχεία «έκπλυση» που έχει ως αποτέλεσμα το μέγιστο της συγκέντρωσης να παρατηρείται νωρίς. Αντιθέτως σε ασθενείς στους οποίους δεν έχει χορηγηθεί θεραπεία επαναιμάτωσης η συγκέντρωση στο αίμα αυξάνεται αργά φτάνοντας σε ένα μέγιστο 3-4 ημέρες μετά την απόφραξη. Σε κάθε περίπτωση το σύνολο της τροπονίνης που απελευθερώνεται δεν επηρεάζεται από το αν οι ασθενείς έχουν επαναιματωθεί ή όχι. Το ίδιο ισχύει και για τα επίπεδα στο αίμα μετά από την πρώτη ημέρα, γεγονός που αντανάκλα σε μεγάλο βαθμό την αργή αποικοδόμηση και απελευθέρωση της τροπονίνης που βρίσκεται στα ινίδια [503]. Σε ασθενείς που έχουν επαναιματωθεί τόσο η TnC όσο και η TnI έχει βρεθεί ότι φτάνουν σε ένα μέγιστο νωρίς (<12 ώρες). Η μείωση όμως της συγκέντρωσης της TnI επιτυγχάνεται γρηγορότερα σε σύγκριση με την TnT, αν και οι δύο εξακολουθούν να είναι σημαντικά αυξημένες στις 72 ώρες [508].

Οι παραπάνω ιδιότητες καθιστούν την Tn κατάλληλη τόσο για την έγκαιρη διάγνωση του OEM όσο και για την αξιολόγηση της έκτασης της μυοκαρδιακής νέκρωσης. Εντούτοις, στην δεύτερη περίπτωση, θα πρέπει επίσης να σημειώσουμε δύο αδυναμίες της τροπονίνης, μία βιολογική και μία μεθοδολογική. Πρώτον, η συγκέντρωση της Tn στον καρδιακό ιστό ποικίλλει. Η περιεκτικότητα σε Tn (ανά γραμμάριο υγρού βάρους ιστού και ανά γραμμάριο πρωτεΐνης) στο μυοκάρδιο έχει αποδειχθεί ότι είναι χαμηλότερη στους κόλπους και υψηλότερη στις κοιλίες. Η περιεκτικότητα στην αριστερή κοιλία είναι σχετικά ομοιόμορφη, αλλά παρουσιάζει κάποιες διαφορές από άτομο σε άτομο. Αυτή η μεταβλητότητα μεταξύ των ασθενών υποδεικνύει ότι οι μετρήσεις της Tn με βάση τις μετρήσεις πλάσματος ή ορού δεν μπορούν ποτέ να επιτύχουν τη βέλτιστη ακρίβεια όσον αφορά στην εκτίμηση του μεγέθους του εμφράγματος [509]. Δεύτερον, οι πρόσφατες μελέτες δεν λαμβάνουν υπόψη την πολυπλοκότητα που ενέχει η αποικοδόμηση και απελευθέρωση της Tn. Η απλοποίηση αυτή έχει ως αποτέλεσμα μια αυξημένη χρηστικότητα στην κλινική πρακτική σε βάρος όμως της ακρίβειας του υπολογισμού του μεγέθους του εμφράγματος [499].

Τα τελευταία χρόνια μια πληθώρα ερευνών μελέτησε τη συσχέτιση της Tn στο πλαίσιο του STEMI με το μέγεθος του εμφράγματος [502, 510]. Χωρίς εξαίρεση, όλες οι μελέτες έχουν βρει μια συνεπή και θετική συσχέτιση μεταξύ της Tn και του μεγέθους του εμφράγματος όπως αυτό καθορίστηκε τόσο από τη μαγνητική τομογραφία καρδιάς όσο και από το σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου. Τέλος αρκετές μελέτες φαίνεται να συμφωνούν στο ότι η μέτρηση της μέγιστης τιμής είναι ενδεικτική του μεγέθους του εμφράγματος [508, 511].

Μαγνητική τομογραφία καρδιάς (CMR)

Η μαγνητική τομογραφία καρδιάς (CMR) έχει εξελιχθεί σε μια σημαντική μέθοδο εκτίμησης της αποτελεσματικότητας νέων θεραπειών που αποσκοπούν στη μείωση του μεγέθους του OEM και την πρόληψη της αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας (ΑΚ) σε ασθενείς με STEMI [13, 512]. Αποτελεί τη

μέθοδο αναφοράς όσον αφορά στην ποσοτικοποίηση του μεγέθους του εμφράγματος [513] αφού δύναται να ανιχνεύσει ακόμα και μικρό (μόλις 1 γραμμάριο) υπενδοκαρδιακό έμφραγμα με μεγάλη ακρίβεια [514, 515]. Ο προσδιορισμός του μεγέθους του εμφράγματος γίνεται, παραδοσιακά, με τη βοήθεια σκιαγραφικών με βάση το γαδολίνιο (Gadolinium Based Contrast Agents- GBCAs) καθώς το χηλικό γαδολίνιο δεν μπορεί να διαχυθεί μέσω αέραιων κυτταρικών μεμβρανών [516]. Αντιθέτως σε κύτταρα που έχουν υποστεί νέκρωση η διάρρηξη των κυτταρικών μεμβρανών επιτρέπει στο σκιαγραφικό να εισέλθει στο εσωτερικό τους. Στη χρόνια φάση, υπάρχει επίσης επέκταση του εξωκυτταρικού χώρου λόγω των αποθέσεων κολλαγόνου και του σχετικά χαμηλού αριθμού υπολειπόμενων ανέπαφων καρδιομυοκυττάρων στην περιοχή του εμφράγματος. Ως εκ τούτου, μετά τη χορήγηση χηλικού γαδολινίου, το σκιαγραφικό ανακατανέμεται από το αγγειακό χώρο στον διάμεσο χώρο φτάνοντας έτσι σε μια ισορροπία με τη συγκέντρωση του να είναι υψηλότερη σε περιοχές οξείας ή χρόνιας νέκρωσης σε σχέση με το φυσιολογικό μυοκάρδιο. Το φαινόμενο αυτό καλείται καθυστερημένη ενίσχυση του σήματος (late enhancement) και αποτελεί τη βάση για το διαχωρισμό του βιώσιμου από το νεκρό μυοκάρδιο.

Η λήψη εικόνων πολύ νωρίς (<8 λεπτά μετά τη χορήγηση του σκιαγραφικού) μπορεί να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση του μεγέθους του εμφράγματος [517]. Ιδανικά, η λήψη εικόνων 25 λεπτά μετά τη χορήγηση του φαρμάκου φαίνεται να έχει καλύτερη διακριτική ικανότητα και να προσδιορίζει το μέγεθος του εμφράγματος με μεγαλύτερη ακρίβεια ενώ έχει και μεγαλύτερη προγνωστική αξία σε σχέση με την αποκατάσταση της λειτουργικότητας της ΑΚ [518]. Ωστόσο, αναμονή 25 λεπτών μπορεί να είναι δύσκολο να εφαρμοστεί στην κλινική πράξη λόγω χρονικών περιορισμών. Ως εκ τούτου, ένας αποδεκτός συμβιβασμός είναι οι καθυστερημένες λήψεις με γαδολίνιο να λαμβάνονται 10-15 λεπτά μετά το σκιαγραφικό [512].

Ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει τον προσδιορισμό του μεγέθους του εμφράγματος είναι η χρονική περίοδος μετά το οξύ επεισόδιο που πραγματοποιείται η σάρωση. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι μια σημαντική μείωση (κατά 30-35%) παρατηρείται μεταξύ της οξείας και της χρόνιας φάσης [519, 520]. Σημαντικό ρόλο σε αυτό παίζει η σύνθεση των διαφόρων ιστών που αναγνωρίζονται και η οποία είναι διαφορετική. Έτσι στην οξεία φάση απεικονίζεται μυοκαρδιακή νέκρωση με οίδημα, ενδομυοκαρδιακή αιμορραγία και μικροαγγειακή απόφραξη, ενώ στη χρόνια φάση απεικονίζεται εστιακή ίνωση. Συνεπώς αυτή η μείωση αντιπροσωπεύει τη σταδιακή λύση του οιδήματος, της ενδομυοκαρδιακής αιμορραγίας και της μικροαγγειακής απόφραξης και τη σταδιακή αντικατάσταση των νεκρωτικών μυοκυττάρων με εστιακές ουλές [521]. Παρόλα αυτά το μέγεθος του εμφράγματος όπως αυτό προσδιορίζεται από τη CMR τόσο κατά την οξεία φάση όσο και κατά τη χρόνια έχει αποδειχθεί ότι είναι ισχυρότερος προγνωστικός παράγοντας της κλινικής έκβασης από το κλάσμα εξώθησης ή τους όγκους της ΑΚ [522-524].

Η νοσηρότητα και η θνησιμότητα μετά από STEMI σχετίζεται στενά με το μέγεθος του εμφράγματος στην οξεία φάση. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση που συμπεριέλαβε 2.632 ασθενείς από 10 τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες (randomized controlled trials, RCTs) έδειξε ότι το μέγεθος του εμφράγματος όπως αυτό μετρήθηκε από τη CMR ή το σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου (SPECT) εντός ενός μηνός μετά από πρωτογενή αγγειοπλαστική συσχετίστηκε στενά με τις νοσηλείες για καρδιακή ανεπάρκεια και τη θνησιμότητα από κάθε αιτία κατά το πρώτο έτος μετά το συμβάν [524]. Για κάθε αύξηση κατά 5% του μεγέθους του εμφράγματος, παρατηρήθηκε αύξηση κατά 20% του σχετικού στιγμιαίου κινδύνου (hazard

ratio) για τα προαναφερθέντα σημεία. Το ποσοστό των συμβαμάτων ήταν 1,2% σε ασθενείς με έμφραγμα μεγέθους $\leq 8\%$ της ΑΚ, 2,5% σε αυτούς με έμφραγμα μεγέθους $> 8\% - \leq 17,9\%$ της ΑΚ, 5,6% σε αυτούς με έμφραγμα μεγέθους $> 17,9\% - 29,8\%$ της ΑΚ και 8,8% σε αυτούς με έμφραγμα μεγέθους $> 29,8\%$ της ΑΚ. Η μελέτη αυτή προστίθεται στον αυξανόμενο αριθμό αποδεικτικών στοιχείων που καταδεικνύουν ότι το μέγεθος του OEM έχει προγνωστική σημασία και επομένως παραμένει ένα έγκυρο υποκατάστατο τελικό σημείο για χρήση σε κλινικές δοκιμές. Παρόλα αυτά στο σύνολο του πληθυσμού της μελέτης ο θάνατος από όλες τις αιτίες ανήλθε στο 2,2% και η νοσηλεία για καρδιακή ανεπάρκεια κατά το πρώτο έτος στο 2,6%, ποσοστά που είναι σημαντικά χαμηλότερα από αυτά που αναφέρονται στα κλινικά μητρώα (registries). Το γεγονός αυτό πιθανότατα αντικατοπτρίζει μια μεροληπτική επιλογή των συμμετεχόντων (selection bias) που πηγάζει από το γεγονός ότι αυτοί πρέπει να είναι σε αρκετά καλή κατάσταση ώστε να υποβληθούν στη μαγνητική τομογραφία.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Η αλληλεπίδραση μεταξύ ισχαιμίας, φλεγμονής και επαναιμάτωσης έχει αποτελέσει αντικείμενο έντονης επιστημονικής έρευνας για περισσότερο από τρεις δεκαετίες. Με την πάροδο των ετών, συσσωρεύτηκε ένας σημαντικός όγκος δεδομένων τα οποία ενοχοποιούν τις φλεγμονώδεις διεργασίες και τα σηματοδοτικά μονοπάτια αυτών ως κύριους υπευθύνους της βλάβης που υπόκειται το μυοκάρδιο κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση. Παρ' όλα αυτά, εξίσου εντυπωσιακή είναι και η έλλειψη οποιονδήποτε κλινικά εφαρμόσιμων θεραπευτικών στρατηγικών που θα μπορούσαν να αντισταθμίσουν αυτούς τους «μηχανισμούς βλάβης» παρέχοντας έτσι σημαντική καρδιοπροστασία. Δεδομένου του αριθμού των ασθενών που προσβάλλονται από OEM σε ετήσια βάση, εκείνων που υποβάλλονται σε ιατρογενή ισχαιμία/επαναιμάτωση μέσω εκλεκτικής PCI καθώς και αυτών που υποβάλλονται σε χειρουργικές επεμβάσεις καρδιάς, η απουσία στοχευμένης θεραπείας έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία.

Η κολχικίνη είναι μια ουσία γνωστή για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της. Ο μηχανισμός δράσης της, σε αντίθεση με άλλους αντιφλεγμονώδεις παράγοντες (μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα και γλυκοκορτικοειδή), δεν περιλαμβάνει το μονοπάτι του αραχιδονικού οξέος. Παρεμβαίνοντας στον πολυμερισμό των μικροσωληνίσκων επηρεάζει σχεδόν κάθε κυτταρική διαδικασία που απαιτεί κυτταροσκελετικές αλλαγές συμπεριλαμβανομένων της μίτωσης, εξωκύττωσης και χημειοταξίας των ουδετερόφιλων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα πρόσφατα πειραματικά δεδομένα που συσχετίζουν την ενεργοποίηση του NLRP3 φλεγμονοσώματος με την χωρική διάταξη των μιτοχονδρίων στο κυτταρόπλασμα όπως αυτή διαμορφώνεται από τη δραστηριότητα των μικροσωληνίσκων. Άλλες γνωστές δράσεις του φαρμάκου περιλαμβάνουν την αναστολή της παραγωγής IL-1 από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα καθώς και την αναστολή της έκφρασης των υποδοχέων του TNF-α στα μακροφάγα και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Έχει επίσης βρεθεί ότι αυξάνει τα cAMP των λευκοκυττάρων και ότι μειώνει την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο αγγειακό ενδοθήλιο, πιθανά μεταβάλλοντας την έκφραση της E-σελεκτίνης και της L-σελεκτίνης στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών και των πολυμορφοπύρηνων κυττάρων αντίστοιχα.

Στο πλαίσιο της καρδιαγγειακής νόσου η χρήση της κολχικίνης παραδοσιακά συνδέεται με την θεραπεία της οξείας ή της υποτροπιάζουσας περικαρδίτιδας [525]. Επιπλέον, νεότερα δεδομένα υποδηλώνουν κάποιο ρόλο στην πρόληψη της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής [526], καθώς και στην πρόληψη της επανεμφάνισης αυτής μετά από θεραπεία κατάλυσης με υψίσυχνο ρεύμα [527]. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της υπόθεσης ότι η από στόματος (per os) χορήγηση κολχικίνης (1,5 mg ως δόση φόρτισης αμέσως μόλις τεθεί η διάγνωση του STEMI, ακολουθούμενη από 0,5 mg μια ώρα αργότερα, και εν συνεχεία, 12 ώρες αργότερα 0,5 mg δύο φορές ημερησίως για εννέα ημέρες), θα οδηγήσει σε σημαντική μείωση του μεγέθους του εμφράγματος.

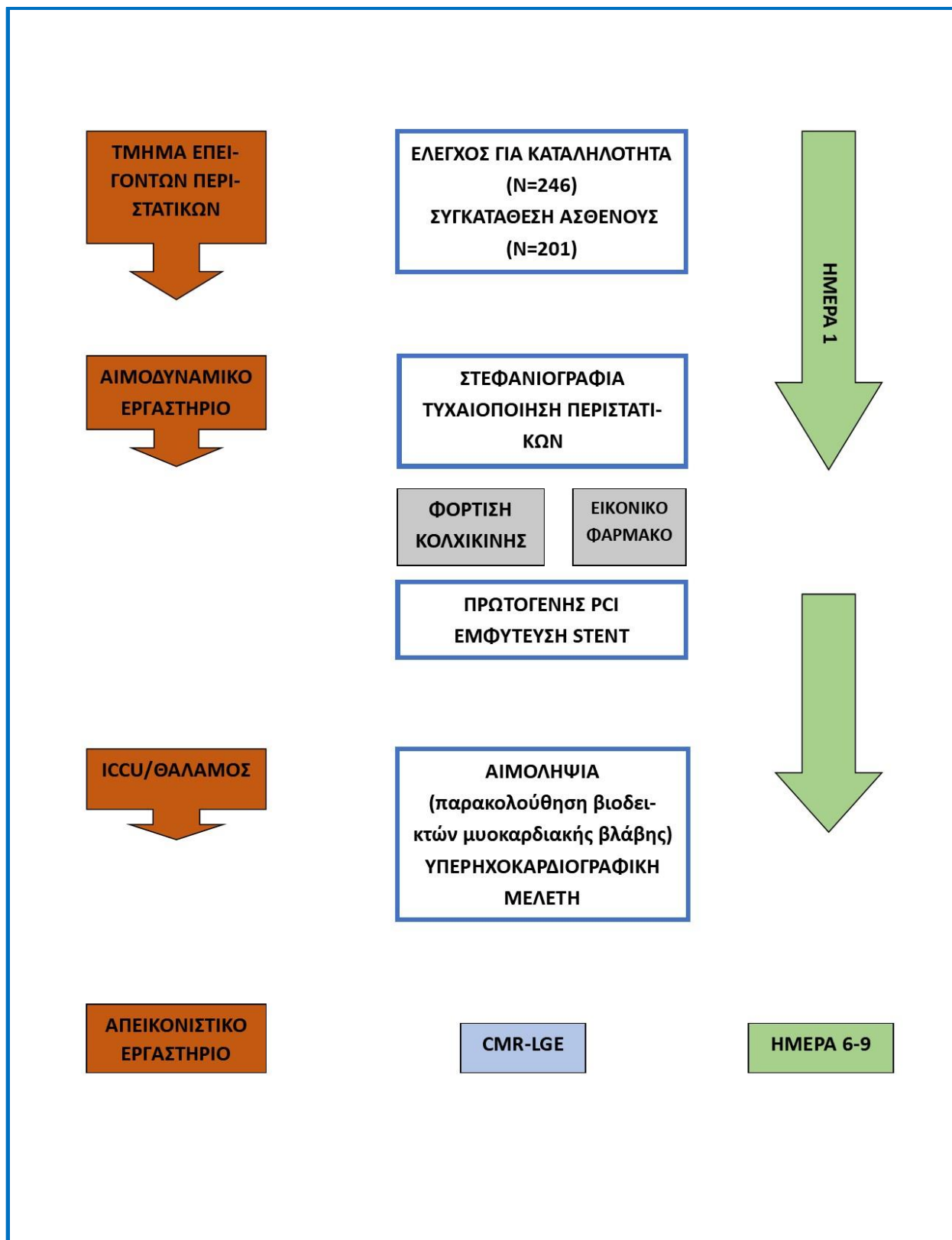
Μέθοδοι

Διεξήγαμε μια προοπτική, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό σκευάσμα (placebo-controlled) μελέτη σε δύο νοσοκομεία που αποτελούν κέντρα αναφοράς στη πρωτογενή διαδερμική στεφανιαία αγγειοπλαστική στην ευρύτερη περιοχή των Αθηνών. Οι μαγνητικές τομογραφίες καρδιάς (CMR) έγιναν σε τρίτο (ξεχωριστό) κέντρο. Συμπεριλήφθηκαν ασθενείς με STEMI, οι οποίοι προσήλθαν/διακομίστηκαν

στα νοσοκομεία σε διάστημα μικρότερο ή ίσο των δώδεκα ωρών από την έναρξη του πόνου στο στήθος, από τον Ιούλιο 2013 έως τον Μάρτιο 2015. Βασικά κριτήρια αποκλεισμού ήταν: ηλικία ≤ 18 ετών ή ≥ 80 ετών, ενεργή φλεγμονώδης ή λοιμώδης νόσος ή γνωστή κακοήθεια, σύγχρονη αγωγή με κορτικοστεροειδή ή άλλους αντιφλεγμονώδεις παράγοντες, γνωστή υπερευαισθησία στην κολχικίνη, σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια (εκτιμώμενος ρυθμός σπειραματικής διήθησης $< 30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$), ηπατική ανεπάρκεια (τάξη B ή C κατά Child-Pugh), καρδιακή ανακοπή, εμφάνιση συμπτωμάτων κοιλιακής μαρμαρυγής ή καρδιογενούς καταπληξίας (shock), θρόμβωση στεφανιαίας ενδοπροθέσεως (stent thrombosis), στηθάγχη εντός 48 ωρών πριν την έναρξη του πόνου, προηγούμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου, απόφραξη του στελέχους ή της περισπωμένης στεφανιαίας αρτηρίας ή παρουσία παράπλευρης κυκλοφορίας στην περιοχή κινδύνου κατά την αρχική στεφανιογραφία, παρουσία μεταλλικών εμφυτευμάτων (φερομαγνητικά υλικά), και αδυναμία ή απροθυμία να παρέχουν συγκατάθεση κατόπιν ενημέρωσης. Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από τα επιστημονικά συμβούλια των ιδρυμάτων και υλοποιήθηκε σύμφωνα με τις αντίστοιχες διατάξεις της διακήρυξης του Ελσίνκι. Όλοι οι ασθενείς παρέιχαν συγκατάθεση κατόπιν ενημέρωσης.

Μετά την ολοκλήρωση της διαγνωστικής στεφανιογραφίας, οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν (με χρήση συστήματος κατανομής 1:1 με χρήση αλγορίθμου τυχαιοποίησης από ηλεκτρονικό υπολογιστή - για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε πρόγραμμα σε γλώσσα προγραμματισμού R) σε μία ομάδα που έλαβε κολχικίνη, ξεκινώντας με δόση 2 mg (1.5 mg αρχικά και 0.5 mg 1 ώρα αργότερα) και συνεχίζοντας με 0.5 mg δύο φορές την ημέρα, ή στην ομάδα που έλαβε εικονικό σκεύασμα (placebo), για 5 μέρες (εικόνα 16). Ασθενείς με σωματικό βάρος $< 60 \text{ kg}$ έλαβαν 0.5 mg μία φορά τη μέρα. Η παρακολούθηση ανεπιθύμητων ενεργειών συμπεριέλαβε εκδηλώσεις από το γαστρεντερικό, ηπατοτοξικότητα, μυελοτοξικότητα και μυοτοξικότητα. Χειριστές και προσωπικό υπεύθυνοι για την παρακολούθηση των ασθενών και οι διαχειριστές της μελέτης ήταν τυφλοί ως προς την κατανομή των ασθενών (η αγωγή των ασθενών ταυτοποιείτο μέσω σειριακού αριθμού, τα αρχεία της ανάθεσης διατηρούνταν σε ψηφιακό φάκελο που ξεκλείδωσε μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας παρακολούθησης του τελευταίου ασθενούς και το κλείδωμα της βάσης δεδομένων).

Όλοι οι ασθενείς έλαβαν την ενδεδειγμένη θεραπεία για STEMI. Κατά την πρωτογενή διαδερμική στεφανιαία αγγειοπλαστική, μπιβαλιρουδίνη (bivalirudin), ηπαρίνη και αναστολείς της γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διακριτική ευχέρεια του θεράποντα επεμβατικού καρδιολόγου. Χορηγήθηκε η ενδεδειγμένη θεραπευτική αγωγή, συμπεριλαμβανόμενων β-αναστολέων (β-blockers), στατινών, ακετυλοσαλικυλικού οξέος και τικαγρελόρης (ticagrelor) ή πρασουγρέλης (prasugrel) στις προτεινόμενες ημερήσιες δόσεις.



Εικόνα 16. Διάγραμμα ροής μελέτης. Όλοι οι ασθενείς εξετάστηκαν στο τμήμα επειγόντων και ζητήθηκε η συγκατάθεσή τους. Η τελική καταλληλότητα για ένταξη στη μελέτη προσδιορίστηκε στη μονάδα καθετηριασμού, σύμφωνα με τις απαιτήσεις του πρωτοκόλλου. Κάθε αποκλεισμός ασθενούς σε αυτό το στάδιο ήταν αποτέλεσμα διατάξεων του πρωτοκόλλου. Συντομογραφίες: ICCU στεφανιαία μονάδα (intensive coronary care unit); LGE, όψιμη ενίσχυση με γαδολίνιο; and PCI, διαδερμική στεφανιαία αγγειοπλαστική.

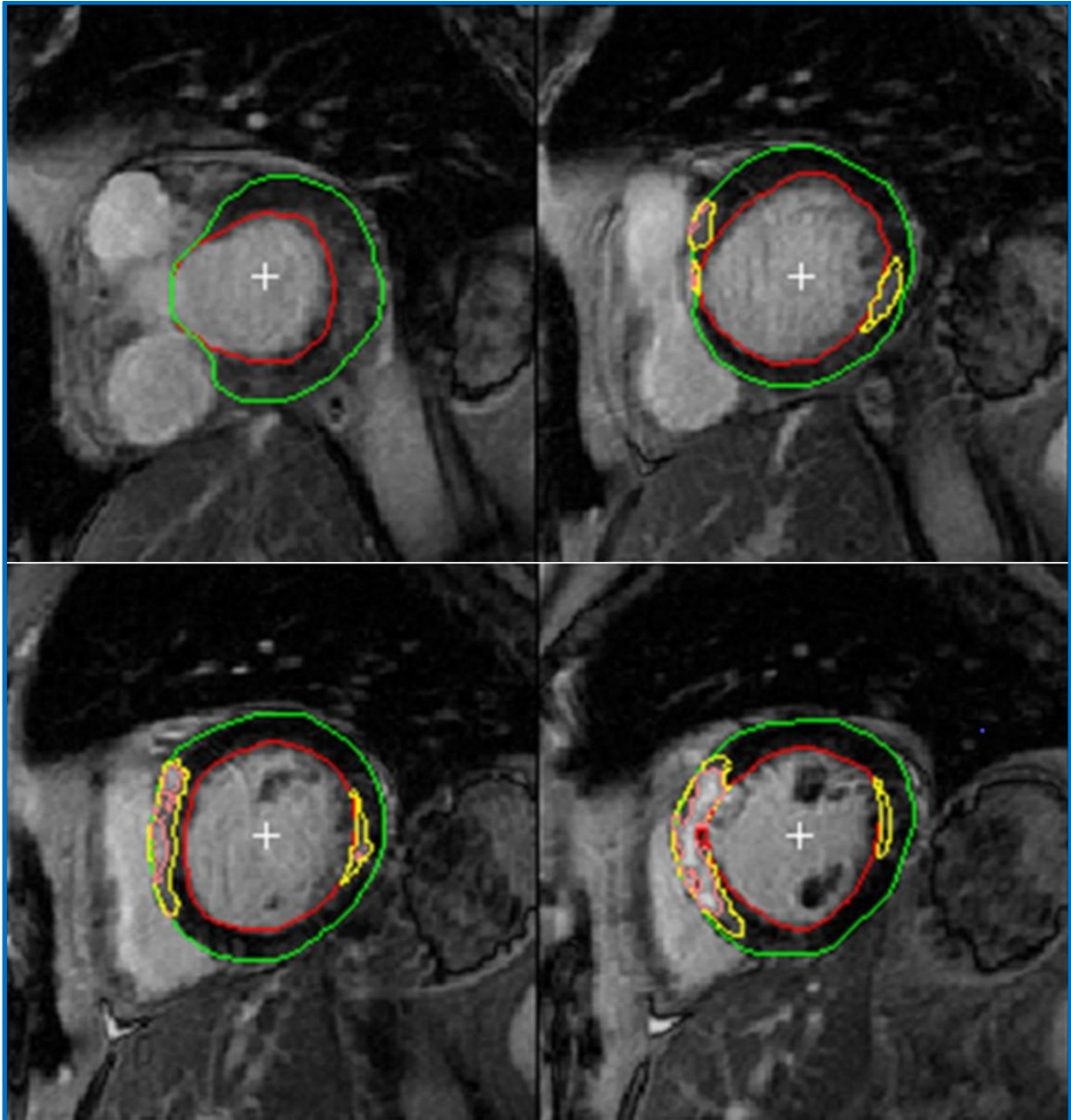
Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο ήταν το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της συγκέντρωσης του CK-MB στις 72 ώρες μετά την εισαγωγή (υπολογίστηκε με χρήση της μεθόδου ολοκλήρωσης του Simpson [11]). Το CK-MB μετρήθηκε κατά την εισαγωγή και κάθε 4 ώρες στη συνέχεια. Η μέγιστη τιμή της υψηλής ευαισθησίας τροπονίνης T, κατά την ίδια ήταν χρονική περίοδο, ήταν η δευτερεύουσα παράμετρος εκβάσεως. Ένα υποσύνολο των ασθενών υποβλήθηκε σε CMR με όψιμη ενίσχυση με γαδολίνιο (late gadolinium enhancement, LGE) 6 με 9 ημέρες μετά την αγγειοπλαστική (CMR υποομάδα). Σε αυτή την υποομάδα ο απόλυτος όγκος του εμφράγματος του μυοκαρδίου, που προσδιορίστηκε από την LGE, ήταν η κύρια παράμετρος εκβάσεως. Ο όγκος του εμφράγματος του μυοκαρδίου ως προς την επιφάνεια του σώματος και το σχετικό μέγεθος εμφράγματος (ο λόγος του απόλυτου όγκου εμφράγματος προς τον όγκο της αριστερής κοιλίας) ήταν δευτερεύουσες παράμετροι εκβάσεως.

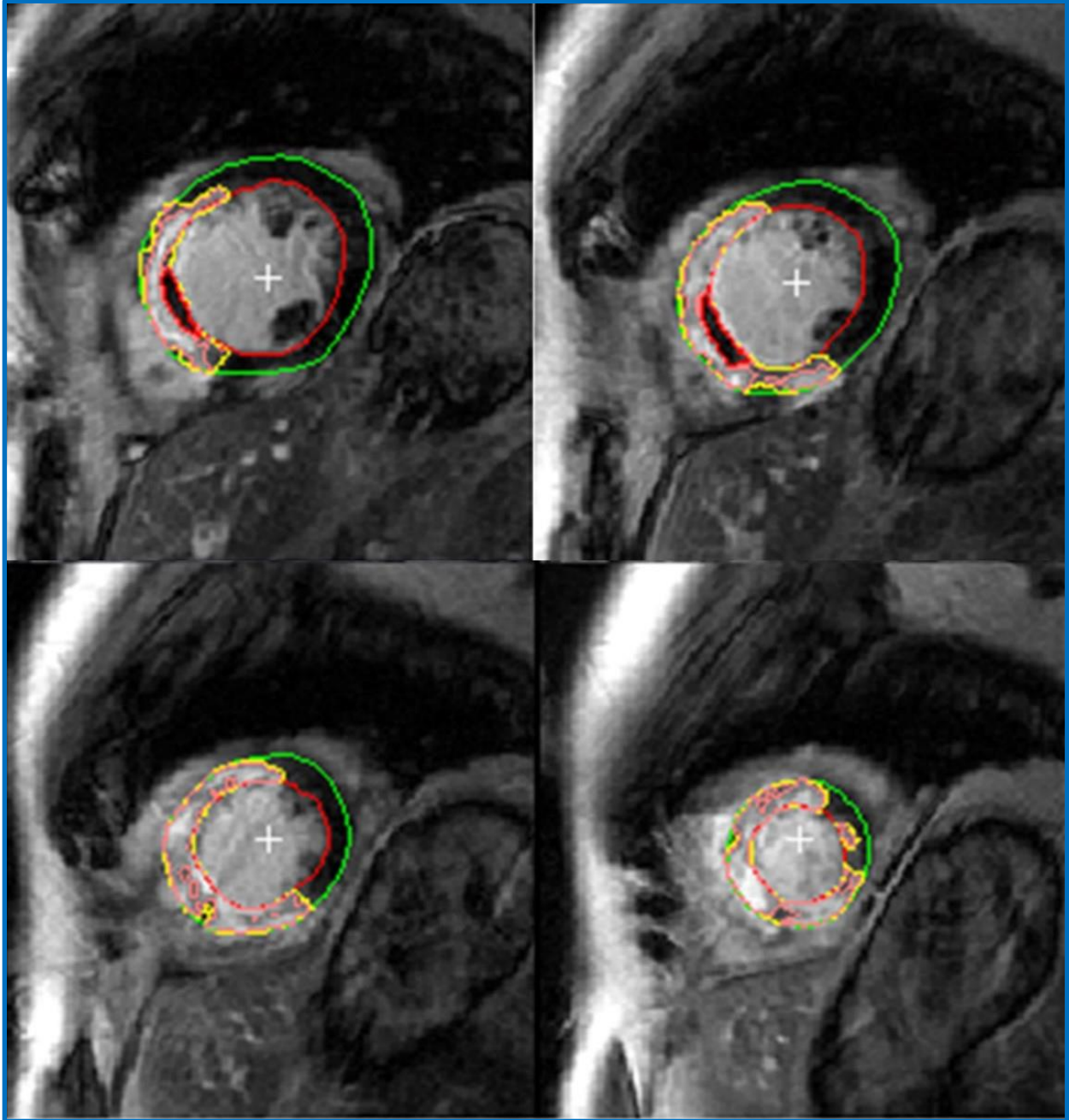
Δείγματα αίματος για τη μέτρηση της υψηλής ευαισθησίας τροπονίνης T (εξέταση Elecsys Troponin T hs, Roche Diagnostics; κατώτερο όριο ανίχνευσης 5 pg/mL), CK-MB (εξέταση Elecsys CK-MB, Roche Diagnostics; κατώτερο όριο ανίχνευσης <0.1 ng/mL), και άλλων αναλύσεων (γενική αίματος, βιοχημικές εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένης και της εξέτασης της υψηλής ευαισθησίας CRP, κτλ), ελήφθησαν κατά την εισαγωγή και κάθε 4 ώρες για τις πρώτες 72 ώρες (από την εμφάνιση) και κάθε 12 ώρες στη συνέχεια. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν στο συνήθη διαθωρακικό υπερηχογραφικό έλεγχο πριν το εξιτήριο, κατά τον οποίο εκτιμήθηκε το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας με χρήση του τροποποιημένου κανόνα του Simpson.

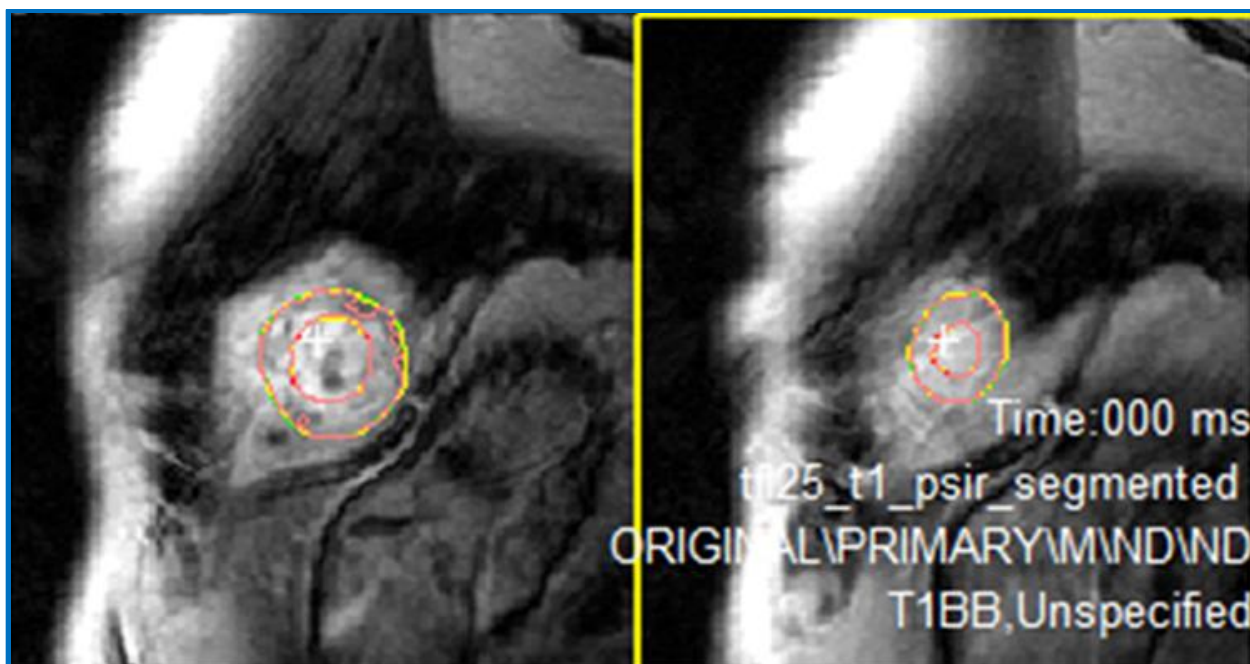
Μαγνητική τομογραφία καρδιάς

Το πρωτόκολλο της μαγνητικής τομογραφίας καρδιάς διεξήχθη σε ένα σύστημα 1.5T Siemens Symphony (Erlangen, Germany). Περίπου 8 με 9 λεπτά μετά τη χορήγηση 0.015 με 0.02 mmol/kg γαδοβουτρόλης (Gadovist, Bayer Hellas AG), έγινε πολυφασική σάρωση με ακολουθία SSFP (steady state free precession) ("TI-scout") στο μέσο επίπεδο του βραχέως άξονα της καρδιάς ώστε να καθοριστεί ο βέλτιστος χρόνος αναστροφής (TI) όπου το μυοκάρδιο έχει μηδενικό σήμα. Ο χρόνος που αντιστοιχούσε στην εικόνα με το μηδενικό σήμα του μυοκαρδίου εισήχθη ως TI στη συνέχεια κατά την segmented turbo flash ακολουθία που χρησιμοποιήθηκε για την απεικόνιση με την όψιμη ενίσχυση γαδολινίου. Τυπικά ο TI κυμαινόταν μεταξύ 230 και 330 ms καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Άλλες απεικονιστικές παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: repetition time/ echo time/ flip = 700 ms/4.18 ms/25 deg, 8 mm πάχος τομής, πεδίο απεικόνισης = 255×340 mm, 192×256, και 25 τομές. Η λήψη έγινε κατά το βραχύ άξονα, και κάλυπτε την αριστερή κοιλία από τη βάση έως την κορυφή. Επιπλέον ελήφθησαν μονές τομές στον επιμήκη άξονα και κατά την απεικόνιση των 4-κοιλοτήτων και των 3-κοιλοτήτων. Ο TI αυξήθηκε όσο απαιτούνταν με το πέρασ του χρόνου (10-20 λεπτά μετά τη χορήγηση γαδοβουτρόλης). Για την ποσοτικοποίηση της μυοκαρδιακής ουλής, εικόνες όψιμης ενίσχυσης κατά το βραχύ άξονα αναλύθηκαν

με το ελεύθερα διαθέσιμο για ερευνητικούς σκοπούς λογισμικό Segment, έκδοση 1.9 R2354 (<http://segment.heiberg.se>; εικόνα 17).







Εικόνα 17. Εικόνες CMR-LGE. Παράδειγμα της οριοθέτησης της ουλής χρησιμοποιώντας το λογισμικό Segment με τη μέθοδο σταθμισμένης περιοχής (τα πίξελ του εμφράγματος σταθμίζονται με την ένταση του σήματός τους). Η κίτρινη γραμμή περιγράφει ολόκληρη την επηρεασμένη περιοχή (ουλή), και η ροζ γραμμή είναι μία γραφική απεικόνιση της αντίστοιχης σταθμισμένης περιοχής. Η μικροαγγειακή απόφραξη φαίνεται με κόκκινο. Για περαιτέρω πληροφορίες, ανατρέξτε στο Heiberg *et al.* [528]. LGE: όψιμη ενίσχυση με γαδολίνιο.

Εκτίμηση του μεγέθους του δείγματος και στατιστική ανάλυση

Οι προκαταρκτικές μετρήσεις που διεξήχθησαν σε ασθενείς με STEMI παρείχαν ένα εμβαδόν κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης του ισοενζύμου CK-MB τις πρώτες 72 ώρες $\approx 6000 \text{ U } [(\text{ng/mL}) \times \text{h}]$ με τυπική απόκλιση $\approx 3000 \text{ U}$. Υπολογίστηκε ότι για να εντοπιστεί 25% μείωση της κύριας παραμέτρου εκβάσεως με 85% πιθανότητα (πιθανότητα σφάλματος τύπου II 0.15), με α (πιθανότητα σφάλματος τύπου I) ίσο με 0.05, 150 ασθενείς θα έπρεπε να συμπεριληφθούν στη μελέτη. Η ανάλυση έγινε με βάση την πρόθεση θεραπείας (όλοι οι ασθενείς ανατέθηκαν τυχαία). Οι συνεχείς μεταβλητές εκφράστηκαν ως η διάμεση τιμή (25ο-75ο εκατοστημόριο). Οι συγκρίσεις των μέτρων κεντρικής τάσης και των συσχετίσεων ελέγχθηκαν με μη παραμετρικά κριτήρια (Mann-Whitney U και Spearman, αντίστοιχα). Οι κατηγορικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως απόλυτες μετρήσεις και ποσοστά και συγκρίθηκαν με χρήση του κριτηρίου χ^2 (ή Fisher exact κριτήριο, αν οι παραγόμενοι 2×2 πίνακες ενδεχομένων περιλάμβαναν τιμές ≤ 5). Για όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο λογισμικού SPSS 17 (SPSS Inc, Chicago, IL) και η γλώσσα προγραμματισμού R. P values < 0.05 (2-sided) θεωρήθηκαν ως ενδεικτικές στατιστικής σημαντικότητας.

Αποτελέσματα

Εκατόν πενήντα ένας ασθενείς (104 άντρες) συμπεριελήφθησαν στην τελική ανάλυση (77 στην ομάδα κολχικίνης και 74 controls). Εξήντα (41 άντρες) από αυτούς τους ασθενείς συμπεριελήφθησαν στην υπομελέτη με την CMR. Τα επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων (συνολικά και χωρισμένα στα 2 θεραπευτικά σκέλη) συνοψίζονται στον πίνακα 2. Τα δύο θεραπευτικά σκέλη, ήταν παρόμοια σε σχέση με σημαντικές παραμέτρους αναφοράς, τόσο στη συνολική κοόρτη (η μόνη αξιοσημείωτη τάση ήταν ένα όχι στατιστικά σημαντικό υψηλότερο θρομβωτικό φορτίο στο σκέλος της κολχικίνης) όσο και στην υποομάδα που υποβλήθηκε σε CMR. Τα χαρακτηριστικά της υποομάδας που υποβλήθηκε σε CMR δε διέφεραν με οποιοδήποτε σημαντικό τρόπο από εκείνα της συνολικής κοόρτης.

Συνολική κοόρτη

Η διάμεση τιμή των μετρήσεων CK-MB ανά ασθενή ήταν 16 (15 - 16; χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων; $P=0.226$). Το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της συγκέντρωσης CK-MB ήταν 3144 (1754 - 6940) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ στην ομάδα της κολχικίνης, σε σύγκριση με 6184 (4456 - 6980) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ στους ασθενείς που έλαβαν εικονικό σκεύασμα (placebo) ($P < 0.001$; εικόνα 18). Μία παρόμοια διαφορά παρατηρήθηκε στις μέγιστες τιμές τροπονίνης: η διάμεση μέγιστη τιμή της υψηλής ευαισθησίας τροπονίνης T ήταν 19763 (6692 - 51922) pg/mL και 45550 (19706 - 75556) pg/mL στην ομάδα κολχικίνης και την ομάδα ελέγχου, αντίστοιχα ($P = 0.001$), αν και θα πρέπει να επισημάνουμε την έντονη διασπορά των τιμών στην ομάδα της κολχικίνης, που είναι προφανής και στο θηκόγραμμα (boxplot graph) εμβαδού κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης CK-MB (εικόνα 18). Το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας όπως υπολογίστηκε από την υπερηχογραφική μελέτη πριν το εξιτήριο ήταν 53 (44 - 59) % στην ομάδα της κολχικίνης έναντι 46 (38 - 51) % στην ομάδα ελέγχου ($P = 0.003$).

Υποομάδα που υποβλήθηκε σε CMR

Το καθορισμένο με CMR -LGE μέγεθος του εμφράγματος, τόσο ως απόλυτος όγκος όσο και ως σχετικό μέγεθος εμφράγματος (ο λόγος του απόλυτου όγκου εμφράγματος προς τον όγκο της αριστερής κοιλίας), ήταν μικρότερο στα άτομα που έλαβαν κολχικίνη (εικόνα 19). Ο απόλυτος όγκος του εμφράγματος ήταν 25.1 (20.0 - 35.9) mL στην ομάδα ελέγχου σε αντίθεση με 18.8 (8.1 - 28.5) mL στην ομάδα της κολχικίνης ($P = 0.019$). Λαμβάνοντας υπόψιν την επιφάνεια σώματος το αντίστοιχο μέγεθος του εμφράγματος διαμορφώθηκε σε 23.2 (18.5 - 33.4) $\text{mL}/1.73 \text{ m}^2$ έναντι 18.3 (7.6 - 29.9) $\text{mL}/1.73 \text{ m}^2$ ($P = 0.019$). Το σχετικό μέγεθος του εμφράγματος ήταν 19.8 (13.7 - 29.8) % και 13.0 (8.0 - 25.3) %, αντίστοιχα (εικόνα 19). Το υπολογιζόμενο μέσω βιοδεικτών μέγεθος του εμφράγματος ήταν επίσης μικρότερο στους ασθενείς που έλαβαν κολχικίνη της CMR υποομάδας, παρόμοια με την συνολική κοόρτη (εικόνα 19). Όπως ήταν αναμενόμενο, υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους εμφράγματος που καθορίστηκε με CMR με αυτό που καθορίστηκε μέσω βιοδεικτών, το οποίο καταδεικνύει μια εσωτερική συνέπεια των δεδομένων (εικόνα 20Α).

Διακοπή της θεραπείας της μελέτης και ανεπιθύμητες ενέργειες

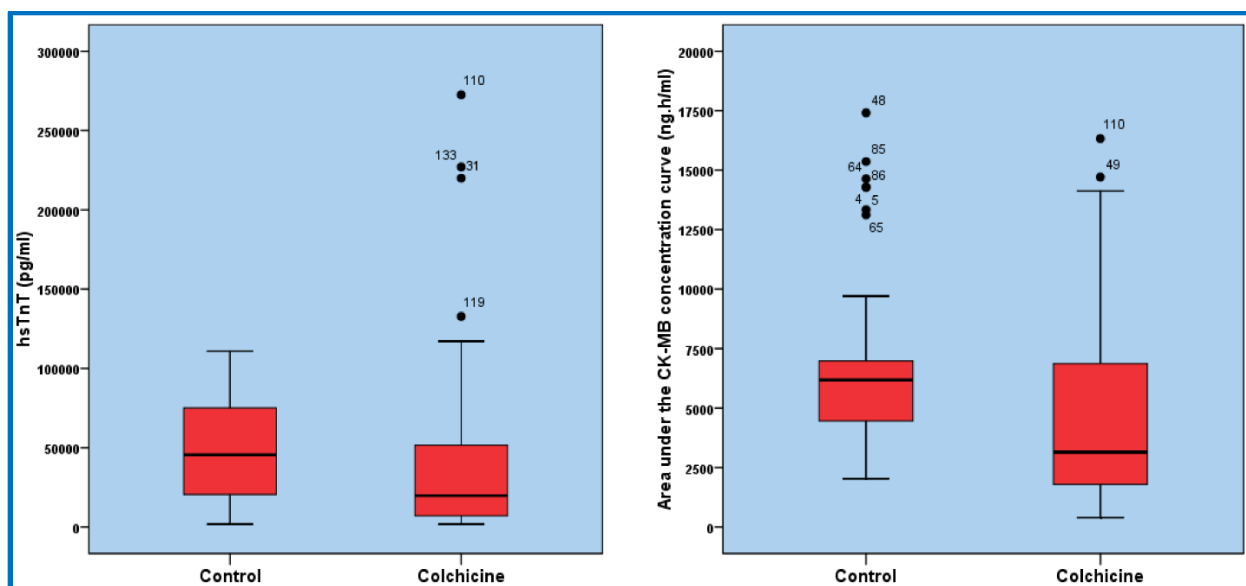
Συνολικά, 23 από τους 151 διέκοψαν τη θεραπεία πριν λάβουν όλες τις δόσεις του φαρμάκου της μελέτης. Το ποσοστό διακοπής ήταν 26% στην ομάδα της κολχικίνης (20 από 77 ασθενείς) σε αντίθεση με 4% στην ομάδα ελέγχου (3 από 74 ασθενείς; $P < 0.001$) Ο λόγος διακοπής του φαρμάκου της μελέτης που αναφέρθηκε σε 16 από τις 23 περιπτώσεις ήταν διάρροια (15 στην ομάδα της κολχικίνης και 1 στην ομάδα ελέγχου) και ναυτία/έμετος σε 3 περιπτώσεις (όλες στην ομάδα της κολχικίνης). Σε μία περίπτωση, η σημαντική αύξηση στο επίπεδο της αμινοτρανσφοράς της αλανίνης (ALT) αναφέρθηκε

ως ο λόγος διακοπής του φαρμάκου της μελέτης (μέχρι και ≈ 5 φορές πάνω από την ανώτερη τιμή αναφοράς, χωρίς άλλα επακόλουθα). Δεν αναφέρθηκε καμία περίπτωση μυελοτοξικότητας. Ενδονοσοκομειακός θάνατος επήλθε σε 1 ασθενή από την ομάδα της κολχικίνης και 1 από την ομάδα ελέγχου (στις μέρες 4 και 5 της νοσηλείας, αντίστοιχα).

Το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της συγκέντρωσης της CK-MB ήταν 2312 (1201 - 5743) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ σε ασθενείς στην ομάδα της κολχικίνης που ολοκλήρωσαν τη θεραπεία ($n = 57$) έναντι 5920 (2998 - 8858) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ σε αυτούς που σταμάτησαν τη θεραπεία ($n = 20$; $P = 0.003$). Οι αντίστοιχες τιμές για το απόλυτο μέγεθος εμφράγματος στην CMR υποομάδα ήταν 12.4 (6.8 - 25.9) mL σε ασθενείς που ολοκλήρωσαν τη θεραπεία με κολχικίνη ($n = 24$) έναντι 29.1 (26.1 - 36.6) mL σε αυτούς που τη διέκοψαν ($n = 7$; $P = 0.008$).

	Όλοι οι συμμετέχοντες (N=151)		P value	Υποομάδα CMR (N=60)		P value
	Ομάδα ελέγχου (n=74)	Κολχικίνη (n=77)		Ομάδα ελέγχου (n=29)	Κολχικίνη (n=31)	
Μεταβλητή						
Ηλικία (χρόνια)	58 (51–68)	58 (52–64)	0.800	57 (50–66)	59 (54–66)	0.277
Ανδρικό φύλο	52 (70)	52 (68)	0.716	20 (69)	21 (68)	0.919
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m^2	27.1 (24.6–30.8)	27.1 (25.3–30.7)	0.611	27.4 (24.4–30.5)	28.1 (26–31.4)	0.420
Επιφάνεια σώματος, m^2	1.89 (1.79–1.98)	1.90 (1.79–1.98)	0.855	1.92 (1.78–1.99)	1.91 (1.79–2.02)	0.865
eGFR, $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$	84 (56–99)	75 (55–100)	0.836	86 (57–100)	81 (60–101)	0.982
Κάπνισμα	36 (49)	43 (56)	0.376	15 (52)	15 (48)	0.796
Σακχαρώδης διαβήτης	19 (26)	13 (17)	0.186	8 (28)	6 (19)	0.451
Δυσλιπιδαιμία	35 (47)	44 (57)	0.226	13 (45)	16 (52)	0.599
Υπέρταση	29 (39)	31 (40)	0.893	7 (24)	12 (39)	0.225
Χρόνος ισχαιμίας, min	180 (146–237)	173 (141–223)	0.609	183 (148–231)	172 (146–227)	0.673
hsTnT (αρχική μέτρηση), pg/mL	34 (8–304)	37 (9–361)	0.786	22 (7–462)	35 (8–403)	0.982
CK-MB (αρχική μέτρηση), ng/mL	44 (35–71)	59 (33–74)	0.984	44 (37–76)	43 (34–73)	0.923
Αριθμός ουδετεροφίλων (αρχική μέτρηση), $/\mu\text{L}$	7131 (5913–7950)	6947 (5929–8935)	0.587	6800 (5761–7997)	6643 (5577–9230)	0.559
CRP (αρχική μέτρηση), mg/L	2.46 (1.02–5.22)	2.39 (1.18–4.60)	0.553	2.81 (1.11–4.97)	2.31 (1.16–3.58)	0.847
Ένοχο αγγείο						
LAD	40 (54)	44 (57)	0.703	17 (59)	16 (52)	0.586
RCA	34 (46)	33 (43)		12 (41)	15 (48)	
Θρομβωτικό φορτίο κατά TIMI	4 (3–5)	5 (4–5)	0.068	4 (3–5)	5 (3–5)	0.241
Ροή TIMI 3 μετά την pPCI	57 (77)	53 (69)	0.258	24 (83)	21 (68)	0.179

Πίνακας 2. Επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων. Οι συνεχείς μεταβλητές συνοψίζονται ως διάμεσες τιμές (ενδοτεταρτημοριακό εύρος). Οι διακριτές μεταβλητές παρουσιάζονται ως αριθμός μετρήσεων (ποσοστό) Συνομογραφίες: CRP C-αντιδρώσα πρωτεΐνη; eGFR, εκτιμώμενος ρυθμός σπειραματικής διήθησης (τύπος Cockcroft-Gault); hs-TnT, υψηλής ευαισθησίας τροπονίνη T; LAD, πρόσθιος κατιόντας; pPCI, πρωτογενής διαδερμική στεφανιαία αγγειοπλαστική ; RCA, δεξιά στεφανιαία αρτηρία.



Εικόνα 18. Βιοδείκτες βλάβης του μυοκαρδίου στην ολική κοόρτη. Θηκογράμματα (boxplot graphs) που παρουσιάζουν την κατανομή της υψηλότερης τιμής hs-TnT μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου (αριστερά) και το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της συγκέντρωσης CK-MB (δεξιά) στο σύνολο των 151 ασθενών (η παχιά οριζόντια μαύρη γραμμή αντιστοιχεί στη διάμεση τιμή, το ορθογώνιο στο ενδοτεταρτημοριακό εύρος, και οι κεραίες στο εύρος των ακραίων τιμών, που αντιπροσωπεύονται από τελείες και ορίζονται ως τα σημεία που βρίσκονται 1.5 φορές εκτός του ενδοτεταρτημοριακού εύρους, πάνω ή κάτω από το 25ο και το 75ο εκατοστημόριο, αντίστοιχα). Συντομογραφίες: CK-MB καρδιακό ισοένζυμο της κρεατινικής κινάσης; hs-TnT, υψηλής ευαισθησίας τροπονίνη Τ.

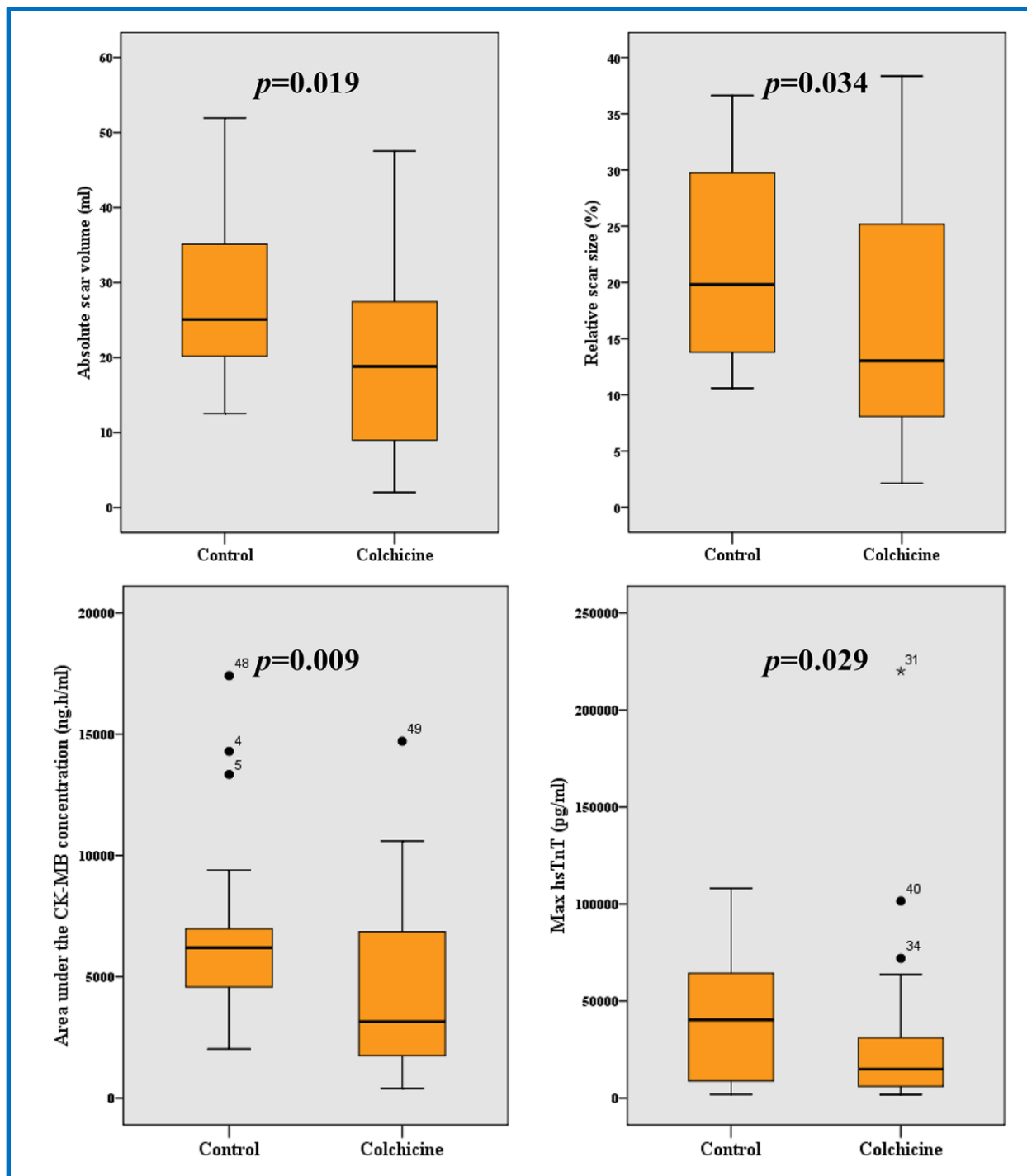
Δείκτες φλεγμονής

Ο μέγιστος αριθμός ουδετερόφιλων (που μετρήθηκε κατά τη νοσηλεία) ήταν 7543 (6549 - 10118) / μL στην ομάδα της κολχικίνης, σε σύγκριση με 8922 (7880 - 10307) / μL στην ομάδα ελέγχου ($P = 0.008$), και ήταν στατιστικά σημαντικά συσχετισμένος με το απόλυτο και το σχετικό μέγεθος εμφράγματος (εικόνα 20B), και με το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της CK-MB (Spearman ρ 0.79; $P < 0.001$). Αυτές οι συσχετίσεις ήταν στατιστικά σημαντικές ανεξαρτήτως της ομάδας μελέτης (κολχικίνης ή ελέγχου).

Τα μέγιστα επίπεδα CRP ήταν επίσης υψηλότερα στην ομάδα ελέγχου από την ομάδα της κολχικίνης (63.8 [34.7 - 103.4] mg/L έναντι 42.9 [16.3 - 71.4] mg/L; $P = 0.019$). Η μέγιστη τιμή της CRP ήταν συσχετισμένη (αν και λιγότερο ισχυρά από τον αριθμό των ουδετερόφιλων) με το σχετικό μέγεθος εμφράγματος κατά CMR -LGE (Spearman ρ 0.42; $P = 0.001$), το εκτιμώμενο βάσει βιοδεικτών απόλυτο μέγεθος εμφράγματος (Spearman ρ 0.43; $P = 0.001$), και το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της CK-MB (Spearman ρ 0.38; $P < 0.001$).

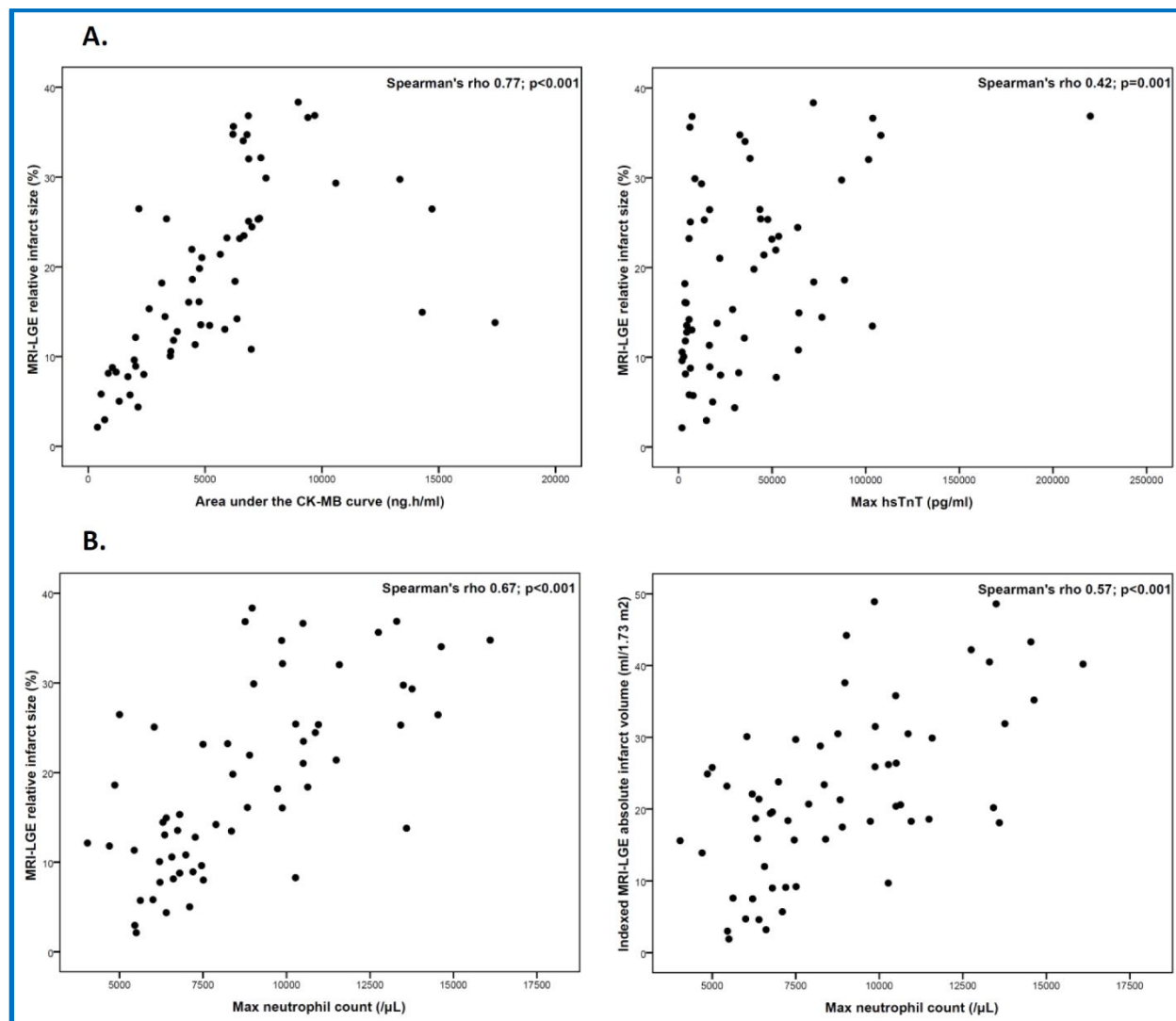
Συζήτηση

Τα αποτελέσματα αυτής της προοπτικής, τυχαιοποιημένης μελέτης δείχνουν ότι η χορήγηση κολχικίνης σχετίζεται με μειωμένο μέγεθος εμφράγματος σε ασθενείς με STEMI που υποβάλλονται σε πρωτογενή PCI, όπως υποδεικνύουν οι μετρήσεις των βιοδεικτών και η CMR-LGE. Το φαινόμενο αυτό συνοδεύεται από σημαντική διαφορά στους δείκτες της μετα-εμφραγματικής φλεγμονώδους απόκρισης (τουλάχιστον βραχυπρόθεσμα) και πιο συγκεκριμένα στον αριθμό των ουδετερόφιλων και στη CRP. Οι τελευταίες αυτές παράμετροι συσχετίζονται στενά με το μέγεθος του εμφράγματος.



Εικόνα 19. Μέγεθος εμφράγματος καθορισμένο μέσω CMR και μέσω βιοδεικτών στην CMR υποομάδα. Θηκογράμματα (boxplot graphs) απεικονίζουν την κατανομή των περιγραφικών δεικτών του μεγέθους εμφράγματος στα δύο θεραπευτικά σκέλη σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε καρδιακό CMR (η παχιά οριζόντια μαύρη γραμμή αντιστοιχεί στη διάμεση τιμή, το ορθογώνιο στο ενδοτεταρτημοριακό εύρος, και οι κεραίες στο εύρος των ακραίων τιμών, που αντιπροσωπεύονται από τελείες και ορίζονται ως τα

σημεία που βρίσκονται 1.5 φορές εκτός του ενδοτεταρτημοριακού εύρους, πάνω ή κάτω από το 25ο και το 75ο εκατοστημόριο, αντίστοιχα) Συντομογραφίες: CK-MB καρδιακό ισοένζυμο της κρεατινικής κινάσης; hs-TnT, υψηλής ευαισθησίας τροπονίνη Τ.



Εικόνα 20. Α, Συσχέτιση μεταξύ μεγέθους εμφράγματος καθορισμένου μέσω βιοδεικτών και μέσω CMR. Διαγράμματα διασποράς των βιοχημικών έναντι των απεικονιστικών περιγραφικών παραμέτρων του μεγέθους εμφράγματος που απεικονίζουν την αναμενόμενη σχέση μεταξύ αυτών των δύο. Β, Συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των ουδετερόφιλων και του μεγέθους εμφράγματος μέσω CMR. Διαγράμματα διασποράς των μέγιστων μετα-εμφραγματικών τιμών των ουδετερόφιλων έναντι του σχετικού (ως προς τον όγκο της αριστερής κοιλίας) και του αναχθέντος στην επιφάνεια σώματος απόλυτου μεγέθους του εμφράγματος. Συντομογραφίες: CK-MB καρδιακό ισοένζυμο της κρεατινικής κινάσης; hs-TnT, υψηλής ευαισθησίας τροπονίνη Τ.; LGE, όψιμη ενίσχυση με γαδολίνιο

Η φλεγμονή έχει δείχθει ότι εμπλέκεται σε διάφορες διεργασίες που συμμετέχουν στην αλληλουχία των γεγονότων που ακολουθούν την απόφραξη μιας επικαρδιακής στεφανιαίας αρτηρίας στο πλαίσιο του STEMI, συμπεριλαμβανόμενων και του σχηματισμού θρόμβου [529], της λειτουργίας του ενδοθηλίου [530], της μετα-εμφραγματικής μυοκαρδιακής λειτουργίας [531], των κλινικών συμβάντων [532], ακόμα και της νεφρικής βλάβης μετά από έμφραγμα [533]. Επιπλέον υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι η έγκαιρη επαναιμάτωση οδηγεί σε άμβλυνση της φλεγμονώδους απόκρισης [534]. Το επίπεδο της CRP μετά από STEMI αποτελεί δείκτης πρόγνωσης της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας [535], ενώ και τα μόρια τελεστές της φλεγμονής συσχετίζονται με βιοδείκτες καρδιακής δυσλειτουργίας [536]. Επιμέρους στοιχεία της κυτταρικής φλεγμονώδους απόκρισης έχουν συσχετιστεί ισχυρά με τη σχετιζόμενη με το STEMI μυοκαρδιακή βλάβη: η απόκριση των μονοκυττάρων έχει συνδεθεί με εκτεταμένη βλάβη του μυοκαρδίου και δυσμενή λειτουργική έκβαση μετά από STEMI [537] και οι μέγιστες τιμές ουδετερόφιλων έχουν βρεθεί να είναι προγνωστικός δείκτης του μεγέθους εμφράγματος βάσει CMR [538]. Ενόψει αυτών των στοιχείων, η στατιστικά σημαντική αντίστροφη συσχέτιση της αγωγής με κολχικίνη με την αύξηση των ουδετερόφιλων μετά το STEMI, που παρατηρήθηκε σε αυτή τη μελέτη, προτείνει ένα πιθανό μηχανισμό δράσης της κολχικίνης (σε συνδυασμό με τη συσχέτιση του αριθμού των ουδετερόφιλων με το μέγεθος του εμφράγματος, που ήταν ισχυρή σε όλους τους ασθενείς ανεξαρτήτως θεραπευτικού σκέλους).

Εξ όσων γνωρίζουμε, καμία προηγούμενη μελέτη δεν έχει αξιολογήσει την επίδραση της κολχικίνης στο μέγεθος του εμφράγματος στον άνθρωπο. Οι Raju *et al.* [475] μελέτησαν έναν μεικτό πληθυσμό από 80 ασθενείς με STEMI, NSTEMI και ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο και δε βρήκαν διαφορές στα επίπεδα CRP μεταξύ ασθενών που έλαβαν κολχικίνη και την ομάδα ελέγχου 30 ημέρες μετά το αρχικό συμβάν (ένα χρονικό σημείο στο οποίο θα περιμέναμε οι διεργασίες οξείας φλεγμονής να έχουν υποχωρήσει ακόμα και σε ασθενείς που δεν έλαβαν αντιφλεγμονώδη αγωγή, το οποίο με τη σειρά του καθιστά αυτό το εύρημα δύσκολο να ερμηνευτεί με ένα κλινικά ουσιαστικό τρόπο). Διαφορές στα επίπεδα της CRP δεν παρατηρήθηκαν ούτε στη μελέτη COLIN [476]. Και σε αυτήν την περίπτωση όμως ο μικρός πληθυσμός της μελέτης, 44 ασθενείς, και η ανομοιογενής κατανομή τους (οι ασθενείς που έλαβαν κολχικίνη παρουσίαζαν μεγαλύτερη ισχαιμική περιοχή) κάνουν την ερμηνεία των αποτελεσμάτων δύσκολη. Από την άλλη, η κολχικίνη έχει φανεί ότι μειώνει την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών σε ασθενείς με ΟΣΣ [456, 457] ενώ έχει συσχετιστεί και με μειωμένη βλάβη του μυοκαρδίου σε ένα διαφορετικό πλαίσιο προσβολής του μυοκαρδίου μέσω ισχαιμίας/επαναιμάτωσης, αυτό του χειρουργείου [477].

Μελέτες άλλων παραγόντων με αντιφλεγμονώδη δράση έχουν δείξει ποικίλα αποτελέσματα όσον αναφορά στην έκβαση μετά από ΟΣΣ. Τα κορτικοστεροειδή αποτέλεσαν την αρχική επιλογή για την αντιφλεγμονώδη θεραπεία μετά από ΟΣΣ. Μια μετα-ανάλυση 11 μελετών (2646 ασθενείς) διαπίστωσε μείωση της θνησιμότητας κατά 26% . Όταν όμως η ανάλυση ευαισθησίας περιορίστηκε σε μεγάλες και τυχαιοποιημένες μελέτες διαπιστώθηκε έλλειψη αποτελεσματικότητας [539]. Επιπλέον αυτή η προσέγγιση εγκαταλείφθηκε μετά από παρατηρήσεις που έδειξαν ότι, σε ορισμένες περιπτώσεις, η μειωμένη επούλωση των τοιχωμάτων της αριστερής κοιλίας είχε ως αποτέλεσμα την ρήξη τους [540]. Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (με εξαίρεση την ασπιρίνη) βρέθηκε ότι αυξάνουν τη θνησιμότητα των ασθενών μετά το οξύ επεισόδιο ενώ αυξάνουν και τον κίνδυνο επακόλουθου OEM [541]. Η αναστολή της φωσφολιπάσης A2 (PLA2), ενός ενζύμου που συμμετέχει στη φλεγμονή των αθηρωματικών πλακών απέτυχε να δείξει κάποιο όφελος τόσο σε ασθενείς με σταθερή ΣΝ όσο και σε

ασθενείς μετά από ΟΣΣ [542-544]. Το inclacumab είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της Ρ-σελεκτίνης. Μια κλινική μελέτη, φασής ΙΙ, ενέταξε 544 ασθενείς με NSTEMI οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε έγχυση εικονικού φαρμάκου, 5 mg/kg inclacumab ή 20 mg/kg inclacumab πριν από την PCI [545]. Το κύριο καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή στο επίπεδο της τροπονίνης Ι στις πρώτες 16 και 24 ώρες. Παρόλο που δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας του εικονικού φαρμάκου και της ομάδας των 5 mg/kg, διαπιστώθηκε διαφορά μεταξύ της ομάδας του εικονικού φαρμάκου και της ομάδας των 20 mg/kg στις 24 ώρες (23.8%, $P = 0.05$). Το losmapimod, ένας εκλεκτικός αναστολέας του μεταγραφικού παράγοντα p38 MAPK, όταν χορηγήθηκε σε ασθενείς με NSTEMI μείωσε αποτελεσματικά τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας CRP και του νατριουρητικού πεπτιδίου χωρίς όμως αυτό να οδηγήσει σε καμία διαφορά στο πρωτεύον σύμπλοκο τελικό σημείο του καρδιαγγειακού θανάτου, του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου ή της επανεμφανιζόμενης ισχαιμίας στις 12 εβδομάδες [546]. Σε 2 μικρές μελέτες, ένας αναστολέας της IL-1 συσχετίστηκε με χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας μετά από STEMI [547, 548]. Εντούτοις, σε μία άλλη μελέτη σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο χωρίς ανάσπαση του ST διαστήματος, ο ίδιος παράγοντας, παρά τη σημαντική μείωση στους βιοδείκτες της φλεγμονής, συσχετίστηκε με περισσότερες υποτροπές στον ένα χρόνο (αν και πρέπει να σημειωθεί ότι αυτή η μελέτη δεν ήταν σχεδιασμένη για την αξιολόγηση κλινικών καταληκτικών σημείων και σε κάθε περίπτωση, η παθοφυσιολογία του οξέος στεφανιαίου συνδρόμου χωρίς ανάσπαση του ST διαστήματος διαφέρει ουσιαστικά από αυτή του STEMI) [549].

Μια εκ των πλέον σημαντικών μελετών στο πεδίο των αντιφλεγμονωδών θεραπειών σε ασθενείς με ΟΣΣ είναι η “Canakinumab Antiinflammatory Thrombosis Outcome Study” (CANTOS) [550]. Η CANTOS ήταν μια τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή κλινική δοκιμή του canakinumab, ενός μονοκλωνικού αντισώματος έναντι της IL-1 β , σε 10.061 ασθενείς με προηγούμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου και με αυξημένη συγκέντρωση hsCRP (>2 mg/l). Η δοκιμή συνέκρινε τρεις δόσεις canakinumab (50 mg, 150 mg και 300 mg χορηγούμενες υποδόρια κάθε 3 μήνες) με εικονικό φάρμακο. Το κύριο καταληκτικό σημείο ήταν το μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου, το μη θανατηφόρο εγκεφαλικό επεισόδιο ή ο καρδιαγγειακός θάνατος. Σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, το canakinumab μείωσε το επίπεδο της hsCRP από την αρχική τιμή με δοσοεξαρτώμενο τρόπο στους 48 μήνες, χωρίς να παρατηρηθεί μείωση του επιπέδου της LDL χοληστερόλης. Σε μια περίοδο μέσης παρακολούθησης 3,7 ετών, η δόση των 150 mg συσχετίστηκε με 0,6% απόλυτη μείωση στο πρωταρχικό τελικό σημείο το οποίο οφειλόταν σε μεγάλο βαθμό στη μείωση της επίπτωσης του OEM. Όφελος από τη δόση των 150 mg, παρατηρήθηκε και σε ένα δευτερεύον τελικό σημείο που επιπλέον περιελάμβανε νοσηλεία για ασταθή στηθάγχη που απαιτούσε επείγουσα επαναγγείωση. Σημαντική παρατήρηση αποτελεί το ότι οι ομάδες που έλαβαν canakinumab είχαν 0,13% απόλυτη αύξηση σε θανατηφόρες λοιμώξεις αν και δεν καταγράφηκε σημαντική διαφορά στη θνησιμότητα από όλες τις αιτίες (μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των υπόλοιπων ομάδων). Σημείο κριτικής αποτελεί το γεγονός ότι περίπου το 40% των υποψηφίων ασθενών αποκλείστηκε από τη μελέτη (οι περισσότεροι εκ των οποίων λόγω χαμηλής συγκέντρωσης της CRP αλλά και αρκετοί λόγω συννοσηροτήτων ή αυξημένου κινδύνου φυματίωσης) που με τη σειρά του εμποδίζει τη γενίκευση των αποτελεσμάτων. Επίσης ο αναγκαίος αριθμός ασθενών για θεραπεία έτσι ώστε να αποφευχθεί μια ανεπιθύμητη έκβαση ήταν ιδιαίτερα υψηλός (156) με αποτέλεσμα να τίθεται η ερώτηση αν η στατιστικά σημαντική μείωση που παρατηρήθηκε αντικατοπτρίζεται και σε επίπεδο κλινικής σημασίας. Σε κάθε περίπτωση όμως η μελέτη αυτή παρέχει ισχυρές ενδείξεις ότι η φλεγμονή μπορεί να ενταχθεί ανάμεσα στους τροποποιήσιμους παράγοντες των ασθενών με ΣΝ.

Η ίδια ομάδα, ένα χρόνο μετά, δημοσίευσε τα αποτελέσματα μιας άλλης πολυαναμενόμενης μελέτης της “Cardiovascular Inflammation Reduction Trial” (CIRT) [551]. Οι ερευνητές διεξήγαγαν μια τυχαιοποιημένη διπλά τυφλή κλινική δοκιμή κατά την οποία χορήγησαν χαμηλή δόση μεθοτρεξάτης (15 έως 20 mg εβδομαδιαίως) ή εικονικό φάρμακο σε 4786 ασθενείς με προηγούμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή πολυαγγειακή στεφανιαία νόσο, οι οποίοι επιπλέον είχαν διαβήτη τύπου 2 ή μεταβολικό σύνδρομο. Το πρωτεύον σύνθετο καταληκτικό σημείο κατά την έναρξη της δοκιμής ήταν παρόμοιο με τη μελέτη CANTOS. Στην περίπτωση της CIRT όμως τα αποτελέσματα ήταν μάλλον απογοητευτικά. Μετά από μια μέση παρακολούθηση 2,3 ετών η μελέτη διεκόπη. Η μεθοτρεξάτη δεν κατάφερε να μειώσει τα επίπεδα της IL-1β, της IL-6 ή της CRP σε σχέση με το εικονικό φάρμακο ούτε κατάφερε να μειώσει τα καρδιαγγειακά συμβάματα, ενώ παρατηρήθηκαν και αρκετές ανεπιθύμητες ενέργειες (αύξηση της τιμής των ηπατικών ενζύμων, μείωση του αριθμού των λευκοκυττάρων και του αιματοκρίτη και υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του δέρματος).

Η πρόσφατη δημοσίευση των ενθαρρυντικών αποτελεσμάτων της COLCOT είναι ένα σημαντικό πρώτο βήμα όσον αφορά στην χρήση της κολχικίνης ως τροποποιητικό παράγοντα της φλεγμονής σε ασθενείς με ΣΝ μετά από ΟΣΣ [472]. Θα πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι η μέση περίοδος παρακολούθησης των 23 μηνών σε συνδυασμό με τα υψηλότερα ποσοστά πνευμονίας που καταγράφηκαν σε ασθενείς που έλαβαν αγωγή με κολχικίνη αφήνει ερωτηματικά σχετικά με την μακροχρόνια αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της προσέγγισης. Ερωτηματικά αφήνει επίσης και η έλλειψη συσχέτισης του επιπέδου της CRP και της τιμής των λευκοκυττάρων με την εν λόγω θεραπεία αφήνοντας ανοικτό το ενδεχόμενο δράσης μέσω διαφορετικών οδών.

Σε αυτό το πλαίσιο, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης είναι αξιοσημείωτα, δεδομένου του ότι παρατηρήθηκε ευεργετικό αποτέλεσμα της αγωγής σε όλες τις υπό μελέτη παραμέτρους (βιοδείκτες και CMR). Είναι πιθανό ότι το εύρος των δράσεων της κολχικίνης (που επηρεάζει διάφορα μονοπάτια των φλεγμονωδών διεργασιών) να αποτελεί ένα πλεονέκτημα στην πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ της φλεγμονής, της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης στο πλαίσιο του STEMI. Εντούτοις, κανείς χρειάζεται να κοιτάξει πέρα από τη στατιστική σημαντικότητα και να επισημάνει, παρατηρώντας την κατανομή των αξιολογημένων μεγεθών εμφράγματος (πχ. στην εικόνα 18), ότι υπήρχε χαρακτηριστική διασπορά των τιμών, υποδεικνύοντας πιθανόν μια ετερογένεια στη δράση του φαρμάκου. Μια άλλη, ίσως πιο πιθανή, εκδοχή που δικαιολογεί αυτή τη διασπορά είναι το σημαντικό ποσοστό πρόωρης διακοπής του φαρμάκου της μελέτης. Αυτή η παρατήρηση, μαζί με το γεγονός ότι η μελέτη δεν είχε την ισχύ να δείξει διαφορές σε αντικειμενικά κλινικά καταληκτικά σημεία, πρέπει να ορίσει τα όρια για τη γενίκευση αυτών των αποτελεσμάτων.

Περιορισμοί μελέτης

Τα επιλεγμένα μέτρα μεγέθους του εμφράγματος (παραγωγή CK-MB και μέγεθος εμφράγματος βάσει CMR-LGE) είναι καλά τεκμηριωμένα σε αυτό το πλαίσιο. Και οι δύο παράμετροι παρουσιάζουν άριστη συσχέτιση με τη πρόγνωση. Παρόλα αυτά μπορούν να προκύψουν περιορισμοί τόσο στην περίπτωση της CK-MB (πχ. όταν χρησιμοποιούνται διαφορετικά διαστήματα μεταξύ δειγματοληψιών στην καμπύλη συγκέντρωσης έναντι χρόνου και όταν συγκρίνονται ασθενείς με αλλοιώσεις στην κινητική του ενζύμου) όσο και στην περίπτωση της CMR (εδώ ο πιο σημαντικός παράγοντας πιθανόν να είναι ο χρόνος της μέτρησης σε σχέση με το αρχικό συμβάν). Αυτές οι πιθανές πηγές λάθους ελαχιστοποιήθηκαν προσεκτικά στην παρούσα μελέτη.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Mortality, G.B.D. and C. Causes of Death, *Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013*. The Lancet, 2015. **385**(9963): p. 117-171.
2. Townsend, N., et al., *Cardiovascular disease in Europe — epidemiological update 2015*. European Heart Journal, 2015. **36**(40): p. 2696-2705.
3. Townsend, N., et al., *Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016*. European Heart Journal, 2016. **37**(42): p. 3232-3245.
4. Naghavi, M., et al., *From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II*. Circulation, 2003. **108**(15): p. 1772-8.
5. DeWood, M.A., et al., *Prevalence of Total Coronary Occlusion during the Early Hours of Transmural Myocardial Infarction*. New England Journal of Medicine, 1980. **303**(16): p. 897-902.
6. DeWood, M.A., et al., *Coronary Arteriographic Findings Soon after Non-Q-Wave Myocardial Infarction*. New England Journal of Medicine, 1986. **315**(7): p. 417-423.
7. Stone, G.W., et al., *A Prospective Natural-History Study of Coronary Atherosclerosis*. New England Journal of Medicine, 2011. **364**(3): p. 226-235.
8. Jia, H., et al., *In Vivo Diagnosis of Plaque Erosion and Calcified Nodule in Patients With Acute Coronary Syndrome by Intravascular Optical Coherence Tomography*. Journal of the American College of Cardiology, 2013. **62**(19): p. 1748-1758.
9. Kanwar, S.S., et al., *Acute coronary syndromes without coronary plaque rupture*. Nature Reviews Cardiology, 2016. **13**(5): p. 257-265.
10. Libby, P., *Superficial erosion and the precision management of acute coronary syndromes: not one-size-fits-all*. European Heart Journal, 2017. **38**(11): p. 801-803.
11. Thygesen, K., et al., *Fourth universal definition of myocardial infarction (2018)*. European Heart Journal, 2019. **40**(3): p. 237-269.
12. Roffi, M., et al., *2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation*. European Heart Journal, 2016. **37**(3): p. 267-315.
13. Ibanez, B., et al., *2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation*. 2018. p. 119-177.
14. *European Cardiovascular Disease Statistics 2012 edition*.
15. Bentzon, J.F., et al., *Mechanisms of Plaque Formation and Rupture*. Circulation Research, 2014. **114**(12): p. 1852-1866.
16. Reynolds, H.R., et al., *Mechanisms of Myocardial Infarction in Women Without Angiographically Obstructive Coronary Artery Disease*. Circulation, 2011. **124**(13): p. 1414-1425.
17. Elliott, A.C., et al., *Metabolic changes during ischaemia and their role in contractile failure in isolated ferret hearts*. The Journal of physiology, 1992. **454**: p. 467-90.
18. Kentish, J.C., *The effects of inorganic phosphate and creatine phosphate on force production in skinned muscles from rat ventricle*. The Journal of Physiology, 1986. **370**(1): p. 585-604.
19. Sekili, S., et al., *Direct evidence that the hydroxyl radical plays a pathogenetic role in myocardial “stunning” in the conscious dog and demonstration that stunning can be markedly attenuated without subsequent adverse effects*. Circulation Research, 1993. **73**(4): p. 705-723.

20. Corretti, M.C., et al., *Glycolytic inhibition and calcium overload as consequences of exogenously generated free radicals in rabbit hearts*. The Journal of clinical investigation, 1991. **88**(3): p. 1014-25.
21. Suzuki, S., et al., *Alterations in cardiac contractile proteins due to oxygen free radicals*. Biochimica et biophysica acta, 1991. **1074**(1): p. 95-100.
22. Van Eyk, J.E., et al., *Breakdown and release of myofilament proteins during ischemia and ischemia/reperfusion in rat hearts: identification of degradation products and effects on the pCa-force relation*. Circulation research, 1998. **82**(2): p. 261-71.
23. Gao, W.D., et al., *Role of Troponin I Proteolysis in the Pathogenesis of Stunned Myocardium*. Circulation Research, 1997. **80**(3): p. 393-399.
24. Steenbergen, C., M.L. Hill, and R.B. Jennings, *Volume regulation and plasma membrane injury in aerobic, anaerobic, and ischemic myocardium in vitro. Effects of osmotic cell swelling on plasma membrane integrity*. Circulation research, 1985. **57**(6): p. 864-75.
25. Pouleur, H., *Diastolic dysfunction and myocardial energetics*. European Heart Journal, 1990. **11**(suppl C): p. 30-34.
26. Ingwall Joanne, S. and G. Weiss Robert, *Is the Failing Heart Energy Starved?* Circulation Research, 2004. **95**(2): p. 135-145.
27. Huss, J.M. and D.P. Kelly, *Nuclear receptor signaling and cardiac energetics*. Circ Res, 2004. **95**(6): p. 568-78.
28. Ventura-Clapier, R., A. Garnier, and V. Veksler, *Energy metabolism in heart failure*. J Physiol, 2004. **555**(Pt 1): p. 1-13.
29. Braasch, W., et al., *Early changes in energy metabolism in the myocardium following acute coronary artery occlusion in anesthetized dogs*. Circ Res, 1968. **23**(3): p. 429-38.
30. Kubler, W. and P.G. Spieckermann, *Regulation of glycolysis in the ischemic and the anoxic myocardium*. J Mol Cell Cardiol, 1970. **1**(4): p. 351-77.
31. Jennings, R.B. and C. Steenbergen, Jr., *Nucleotide metabolism and cellular damage in myocardial ischemia*. Annu Rev Physiol, 1985. **47**: p. 727-49.
32. Kléber, A.G., *Resting membrane potential, extracellular potassium activity, and intracellular sodium activity during acute global ischemia in isolated perfused guinea pig hearts*. Circulation Research, 1983. **52**(4): p. 442-450.
33. Weiss, J. and K.I. Shine, *Extracellular K⁺ accumulation during myocardial ischemia in isolated rabbit heart*. Am J Physiol, 1982. **242**(4): p. H619-28.
34. Schaapherder, A.F., et al., *Transmural inhomogeneity of extracellular [K⁺] and pH and myocardial energy metabolism in the isolated rat heart during acute global ischemia; dependence on gaseous environment*. Basic Res Cardiol, 1990. **85**(1): p. 33-44.
35. Carmeliet, E., *Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias*. Physiol Rev, 1999. **79**(3): p. 917-1017.
36. Coraboeuf, E., E. Deroubaix, and A. Coulombe, *Acidosis-induced abnormal repolarization and repetitive activity in isolated dog Purkinje fibers*. J Physiol (Paris), 1980. **76**(2): p. 97-106.
37. Baker, W.L., *Treating arrhythmias with adjunctive magnesium: identifying future research directions*. European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy, 2016. **3**(2): p. 108-117.
38. Jennings, R.B., et al., *Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog*. Arch Pathol, 1960. **70**: p. 68-78.
39. Jennings, R.B., et al., *Development of cell injury in sustained acute ischemia*. Circulation, 1990. **82**(3 Suppl): p. li2-12.
40. Eichbaum, F.W., *'Wavy' myocardial fibers in spontaneous and experimental adrenergic cardiopathies*. Cardiology, 1975. **60**(6): p. 358-65.

41. Burke, A.P. and R. Virmani, *Pathophysiology of acute myocardial infarction*. Med Clin North Am, 2007. **91**(4): p. 553-72; ix.
42. Kenneth Mallory, G., P.D. White, and J. Salcedo-Salgar, *The speed of healing of myocardial infarction: A study of the pathologic anatomy in seventy-two cases*. American Heart Journal, 1939. **18**(6): p. 647-671.
43. Jennings, R.B., et al., *Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury. Changes in cell volume, electrolytes, metabolites, and ultrastructure*. Circ Res, 1985. **56**(2): p. 262-78.
44. Reimer, K.A., et al., *The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs*. Circulation, 1977. **56**(5): p. 786-94.
45. Boatwright, R.B., et al., *Transmural variation in autoregulation of coronary blood flow in hyperperfused canine myocardium*. Circ Res, 1980. **47**(4): p. 599-609.
46. Buckberg, G.D., et al., *Experimental subendocardial ischemia in dogs with normal coronary arteries*. Circ Res, 1972. **30**(1): p. 67-81.
47. Downey, J.M. and E.S. Kirk, *Inhibition of coronary blood flow by a vascular waterfall mechanism*. Circulation Research, 1975. **36**(6): p. 753-760.
48. Spaan, J.A., N.P. Breuls, and J.D. Laird, *Diastolic-systolic coronary flow differences are caused by intramyocardial pump action in the anesthetized dog*. Circ Res, 1981. **49**(3): p. 584-93.
49. Algranati, D., G.S. Kassab, and Y. Lanir, *Why is the subendocardium more vulnerable to ischemia? A new paradigm*. American journal of physiology. Heart and circulatory physiology, 2011. **300**(3): p. H1090-H1100.
50. Leshnower, B.G., et al., *Progression of myocardial injury during coronary occlusion in the collateral-deficient heart: a non-wavefront phenomenon*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(3): p. H1799-804.
51. Christia, P., et al., *Systematic characterization of myocardial inflammation, repair, and remodeling in a mouse model of reperfused myocardial infarction*. J Histochem Cytochem, 2013. **61**(8): p. 555-70.
52. Konstantinidis, K., R.S. Whelan, and R.N. Kitsis, *Mechanisms of cell death in heart disease*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012. **32**(7): p. 1552-62.
53. Nicotera, P. and G. Melino, *Regulation of the apoptosis-necrosis switch*. Oncogene, 2004. **23**(16): p. 2757-65.
54. Bialik, S., et al., *Myocyte apoptosis during acute myocardial infarction in the mouse localizes to hypoxic regions but occurs independently of p53*. The Journal of clinical investigation, 1997. **100**(6): p. 1363-1372.
55. Kajstura, J., et al., *Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats*. Lab Invest, 1996. **74**(1): p. 86-107.
56. Gottlieb, R.A., *Cell death pathways in acute ischemia/reperfusion injury*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2011. **16**(3-4): p. 233-8.
57. Gottlieb, R.A., et al., *Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes*. The Journal of clinical investigation, 1994. **94**(4): p. 1621-1628.
58. Sam, F., et al., *Progressive left ventricular remodeling and apoptosis late after myocardial infarction in mouse heart*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000. **279**(1): p. H422-8.
59. Ong, S.-B. and A.B. Gustafsson, *New roles for mitochondria in cell death in the reperfused myocardium*. Cardiovascular research, 2012. **94**(2): p. 190-196.
60. Hochhauser, E., et al., *Bax ablation protects against myocardial ischemia-reperfusion injury in transgenic mice*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **284**(6): p. H2351-9.
61. Brocheriou, V., et al., *Cardiac functional improvement by a human Bcl-2 transgene in a mouse model of ischemia/reperfusion injury*. J Gene Med, 2000. **2**(5): p. 326-33.

62. Hochhauser, E., et al., *Bax deficiency reduces infarct size and improves long-term function after myocardial infarction*. Cell Biochem Biophys, 2007. **47**(1): p. 11-20.
63. Li, P., et al., *Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade*. Cell, 1997. **91**(4): p. 479-89.
64. Vandenabeele, P., et al., *Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2010. **11**: p. 700.
65. Degterev, A. and J. Yuan, *Expansion and evolution of cell death programmes*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008. **9**(5): p. 378-90.
66. MacFarlane, M. and A.C. Williams, *Apoptosis and disease: a life or death decision*. EMBO Rep, 2004. **5**(7): p. 674-8.
67. MacFarlane, M. and A.C. Williams, *Apoptosis and disease: a life or death decision*. EMBO reports, 2004. **5**(7): p. 674-678.
68. Frantz, S., et al., *Targeted deletion of caspase-1 reduces early mortality and left ventricular dilatation following myocardial infarction*. J Mol Cell Cardiol, 2003. **35**(6): p. 685-94.
69. Bergsbaken, T., S.L. Fink, and B.T. Cookson, *Pyroptosis: host cell death and inflammation*. Nature reviews. Microbiology, 2009. **7**(2): p. 99-109.
70. Putinski, C., et al., *Intrinsic-mediated caspase activation is essential for cardiomyocyte hypertrophy*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013. **110**(43): p. E4079-E4087.
71. Yang, Z. and D.J. Klionsky, *Eaten alive: a history of macroautophagy*. Nat Cell Biol, 2010. **12**(9): p. 814-22.
72. Sridhar, S., et al., *Autophagy and disease: always two sides to a problem*. The Journal of pathology, 2012. **226**(2): p. 255-273.
73. Taneike, M., et al., *Inhibition of autophagy in the heart induces age-related cardiomyopathy*. Autophagy, 2010. **6**(5): p. 600-6.
74. Gustafsson, A.B. and R.A. Gottlieb, *Eat your heart out: Role of autophagy in myocardial ischemia/reperfusion*. Autophagy, 2008. **4**(4): p. 416-21.
75. Lavandro, S., et al., *Cardiovascular autophagy: concepts, controversies, and perspectives*. Autophagy, 2013. **9**(10): p. 1455-66.
76. Souders, C.A., S.L. Bowers, and T.A. Baudino, *Cardiac fibroblast: the renaissance cell*. Circ Res, 2009. **105**(12): p. 1164-76.
77. Epelman, S., et al., *Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation*. Immunity, 2014. **40**(1): p. 91-104.
78. Frangogiannis, N.G., et al., *Histochemical and morphological characteristics of canine cardiac mast cells*. Histochem J, 1999. **31**(4): p. 221-9.
79. Spencer, S.C. and J.W. Fabre, *Characterization of the tissue macrophage and the interstitial dendritic cell as distinct leukocytes normally resident in the connective tissue of rat heart*. The Journal of experimental medicine, 1990. **171**(6): p. 1841-1851.
80. Heidt, T., et al., *Differential contribution of monocytes to heart macrophages in steady-state and after myocardial infarction*. Circ Res, 2014. **115**(2): p. 284-95.
81. Bulkley, G.B., *Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review*. Br J Cancer Suppl, 1987. **8**: p. 66-73.
82. Yokota, A., et al., *Time limit for early coronary artery revascularization. Restoration of contractility in reperfused myocardium in dogs*. Jpn Circ J, 1981. **45**(12): p. 1355-63.
83. Wilcox, R.G., et al., *Trial of tissue plasminogen activator for mortality reduction in acute myocardial infarction. Anglo-Scandinavian Study of Early Thrombolysis (ASSET)*. Lancet, 1988. **2**(8610): p. 525-30.

84. Boersma, E., et al., *Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour*. Lancet, 1996. **348**(9030): p. 771-5.
85. *Indications for fibrinolytic therapy in suspected acute myocardial infarction: collaborative overview of early mortality and major morbidity results from all randomised trials of more than 1000 patients*. Fibrinolytic Therapy Trialists' (FTT) Collaborative Group. Lancet, 1994. **343**(8893): p. 311-22.
86. *Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction*. Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto Miocardico (GISSI). Lancet, 1986. **1**(8478): p. 397-402.
87. *Randomised trial of intravenous atenolol among 16 027 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-1*. First International Study of Infarct Survival Collaborative Group. Lancet, 1986. **2**(8498): p. 57-66.
88. Ross, A.M., et al., *Extended mortality benefit of early postinfarction reperfusion*. GUSTO-I Angiographic Investigators. Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries Trial. Circulation, 1998. **97**(16): p. 1549-56.
89. Shah, A., et al., *Prognostic implications of TIMI flow grade in the infarct related artery compared with continuous 12-lead ST-segment resolution analysis. Reexamining the "gold standard" for myocardial reperfusion assessment*. J Am Coll Cardiol, 2000. **35**(3): p. 666-72.
90. Murry, C.E., R.B. Jennings, and K.A. Reimer, *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium*. Circulation, 1986. **74**(5): p. 1124-36.
91. Frohlich, G.M., et al., *Myocardial reperfusion injury: looking beyond primary PCI*. Eur Heart J, 2013. **34**(23): p. 1714-22.
92. Sies, H., *Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine*. Redox Biol, 2015. **4**: p. 180-3.
93. Hearse, D.J., S.M. Humphrey, and E.B. Chain, *Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release*. J Mol Cell Cardiol, 1973. **5**(4): p. 395-407.
94. Guarnieri, C., F. Flamigni, and C.M. Caldara, *Role of oxygen in the cellular damage induced by re-oxygenation of hypoxic heart*. J Mol Cell Cardiol, 1980. **12**(8): p. 797-808.
95. Hess, M.L. and N.H. Manson, *Molecular oxygen: friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury*. J Mol Cell Cardiol, 1984. **16**(11): p. 969-85.
96. Ambrosio, G., et al., *Reduction in experimental infarct size by recombinant human superoxide dismutase: insights into the pathophysiology of reperfusion injury*. Circulation, 1986. **74**(6): p. 1424-1433.
97. Bolli, R., et al., *Demonstration of free radical generation in "stunned" myocardium of intact dogs with the use of the spin trap alpha-phenyl N-tert-butyl nitrone*. J Clin Invest, 1988. **82**(2): p. 476-85.
98. Bolli, R., et al., *Direct evidence that oxygen-derived free radicals contribute to postischemic myocardial dysfunction in the intact dog*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989. **86**(12): p. 4695-9.
99. Zweier, J.L., J.T. Flaherty, and M.L. Weisfeldt, *Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1987. **84**(5): p. 1404-1407.
100. Josephson, R.A., et al., *Study of the mechanisms of hydrogen peroxide and hydroxyl free radical-induced cellular injury and calcium overload in cardiac myocytes*. J Biol Chem, 1991. **266**(4): p. 2354-61.
101. Arroyo, C.M., et al., *Identification of free radicals in myocardial ischemia/reperfusion by spin trapping with nitrone DMPO*. FEBS Lett, 1987. **221**(1): p. 101-4.

102. Raedschelders, K., D.M. Ansley, and D.D. Chen, *The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion*. Pharmacol Ther, 2012. **133**(2): p. 230-55.
103. Ignarro, L.J., et al., *Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical*. Circ Res, 1987. **61**(6): p. 866-79.
104. Palmer, R.M., A.G. Ferrige, and S. Moncada, *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor*. Nature, 1987. **327**(6122): p. 524-6.
105. Blough, N.V. and O.C. Zafiriou, *Reaction of superoxide with nitric oxide to form peroxynitrite in alkaline aqueous solution*. Inorganic Chemistry, 1985. **24**(22): p. 3502-3504.
106. Zweier, J.L., *Measurement of superoxide-derived free radicals in the reperfused heart. Evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury*. J Biol Chem, 1988. **263**(3): p. 1353-7.
107. Das, D.K., et al., *Detection of hydroxyl radical in the mitochondria of ischemic-reperfused myocardium by trapping with salicylate*. Biochem Biophys Res Commun, 1989. **165**(3): p. 1004-9.
108. Radi, R., et al., *Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide*. Arch Biochem Biophys, 1991. **288**(2): p. 481-7.
109. Rubbo, H., et al., *Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives*. J Biol Chem, 1994. **269**(42): p. 26066-75.
110. Tavazzi, B., et al., *Malondialdehyde production and ascorbate decrease are associated to the reperfusion of the isolated postischemic rat heart*. Free Radic Biol Med, 1992. **13**(1): p. 75-8.
111. Delanty, N., et al., *8-epi PGF2 alpha generation during coronary reperfusion. A potential quantitative marker of oxidant stress in vivo*. Circulation, 1997. **95**(11): p. 2492-9.
112. Mobert, J., et al., *Hemodynamic effects of isoprostanes (8-iso-prostaglandin F2alpha and E2) in isolated guinea pig hearts*. J Cardiovasc Pharmacol, 1997. **29**(6): p. 789-94.
113. Xia, Z., et al., *15-F(2t)-isoprostane exacerbates myocardial ischemia-reperfusion injury of isolated rat hearts*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005. **289**(4): p. H1366-72.
114. Iuliano, L., et al., *Angioplasty increases coronary sinus F2-isoprostane formation: evidence for in vivo oxidative stress during PTCA*. J Am Coll Cardiol, 2001. **37**(1): p. 76-80.
115. Ulus, A.T., et al., *Cardiopulmonary bypass as a cause of free radical-induced oxidative stress and enhanced blood-borne isoprostanes in humans*. Free Radic Biol Med, 2003. **34**(7): p. 911-7.
116. Ansley, D.M., Z. Xia, and B.S. Dhaliwal, *The relationship between plasma free 15-F2t-isoprostane concentration and early postoperative cardiac depression following warm heart surgery*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003. **126**(4): p. 1222-3.
117. Mehlhorn, U., et al., *Nitrotyrosine and 8-isoprostane formation indicate free radical-mediated injury in hearts of patients subjected to cardioplegia*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003. **125**(1): p. 178-83.
118. Chicco, A.J. and G.C. Sparagna, *Role of cardiolipin alterations in mitochondrial dysfunction and disease*. Am J Physiol Cell Physiol, 2007. **292**(1): p. C33-44.
119. Sparagna, G.C. and E.J. Lesnfsky, *Cardiolipin remodeling in the heart*. J Cardiovasc Pharmacol, 2009. **53**(4): p. 290-301.
120. Stadtman, E.R. and R.L. Levine, *Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins*. Amino Acids, 2003. **25**(3-4): p. 207-18.
121. White, M.Y., et al., *Proteomics of ischemia and reperfusion injuries in rabbit myocardium with and without intervention by an oxygen-free radical scavenger*. Proteomics, 2006. **6**(23): p. 6221-33.
122. Steinberg, S.F., *Oxidative stress and sarcomeric proteins*. Circulation research, 2013. **112**(2): p. 393-405.

123. Kang, J.H. and S.M. Kim, *DNA cleavage by hydroxyl radicals generated in the Cu,Zn-superoxide dismutase and hydrogen peroxide system*. Mol Cells, 1997. **7**(6): p. 777-82.
124. Marnett, L.J., *Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde*. Mutat Res, 1999. **424**(1-2): p. 83-95.
125. Szabo, C. and V.L. Dawson, *Role of poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion*. Trends Pharmacol Sci, 1998. **19**(7): p. 287-98.
126. Talukder, M.A.H., J.L. Zweier, and M. Periasamy, *Targeting calcium transport in ischaemic heart disease*. Cardiovascular research, 2009. **84**(3): p. 345-352.
127. Yu, F.H. and W.A. Catterall, *The VGL-chanome: a protein superfamily specialized for electrical signaling and ionic homeostasis*. Sci STKE, 2004. **2004**(253): p. re15.
128. Catterall, W.A., *Voltage-gated calcium channels*. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 2011. **3**(8): p. a003947-a003947.
129. Gross, G.J., J.R. Kersten, and D.C. Warltier, *Mechanisms of postischemic contractile dysfunction*. Ann Thorac Surg, 1999. **68**(5): p. 1898-904.
130. González, G., et al., *Pharmacological preconditioning by diazoxide downregulates cardiac L-type Ca(2+) channels*. British journal of pharmacology, 2010. **161**(5): p. 1172-1185.
131. Zhang, H., et al., *Beta-adrenergic-stimulated L-type channel Ca(2)+ entry mediates hypoxic Ca(2)+ overload in intact heart*. J Mol Cell Cardiol, 2013. **65**: p. 51-8.
132. Viola, H.M., et al., *Decreased myocardial injury and improved contractility after administration of a peptide derived against the alpha-interacting domain of the L-type calcium channel*. J Am Heart Assoc, 2014. **3**(3): p. e000961.
133. Lytton, J., *Na+/Ca2+ exchangers: three mammalian gene families control Ca2+ transport*. Biochem J, 2007. **406**(3): p. 365-82.
134. Blaustein, M.P. and W.J. Lederer, *Sodium/calcium exchange: its physiological implications*. Physiol Rev, 1999. **79**(3): p. 763-854.
135. Bers, D.M., *Cardiac excitation-contraction coupling*. Nature, 2002. **415**(6868): p. 198-205.
136. Wakabayashi, S., T. Hisamitsu, and T.Y. Nakamura, *Regulation of the cardiac Na(+)/H(+) exchanger in health and disease*. J Mol Cell Cardiol, 2013. **61**: p. 68-76.
137. Kalogeris, T., et al., *Cell biology of ischemia/reperfusion injury*. Int Rev Cell Mol Biol, 2012. **298**: p. 229-317.
138. Garcia-Dorado, D., et al., *Calcium-mediated cell death during myocardial reperfusion*. Cardiovasc Res, 2012. **94**(2): p. 168-80.
139. Sanada, S., I. Komuro, and M. Kitakaze, *Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(5): p. H1723-41.
140. Tani, M. and J.R. Neely, *Role of intracellular Na+ in Ca2+ overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts. Possible involvement of H+-Na+ and Na+-Ca2+ exchange*. Circ Res, 1989. **65**(4): p. 1045-56.
141. Satoh, N. and Y. Kitada, *Cardioprotective effect of MCC-135 is associated with inhibition of Ca2+ overload in ischemic/reperfused hearts*. Eur J Pharmacol, 2004. **499**(1-2): p. 179-87.
142. Kawasumi, H., N. Satoh, and Y. Kitada, *Caldaret, an intracellular Ca2+ handling modulator, limits infarct size of reperfused canine heart*. J Pharmacol Sci, 2007. **103**(2): p. 222-33.
143. Bar, F.W., et al., *Results of the first clinical study of adjunctive CALdaret (MCC-135) in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-Elevation Myocardial Infarction: the randomized multicentre CASTEMI study*. Eur Heart J, 2006. **27**(21): p. 2516-23.
144. Tzivoni, D., et al., *Effect of caldaret on the incidence of severe left ventricular dysfunction in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary coronary intervention*. Am J Cardiol, 2009. **103**(1): p. 1-4.

145. Jang, I.K., et al., *A randomized, double-blind, placebo-controlled study of the safety and efficacy of intravenous MCC-135 as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction: Evaluation of MCC-135 for left ventricular salvage in acute myocardial infarction (EVOLVE)*. Am Heart J, 2008. **155**(1): p. 113.e1-8.
146. Theroux, P., et al., *Inhibition of the sodium-hydrogen exchanger with cariporide to prevent myocardial infarction in high-risk ischemic situations. Main results of the GUARDIAN trial. Guard during ischemia against necrosis (GUARDIAN) Investigators*. Circulation, 2000. **102**(25): p. 3032-8.
147. Zeymer, U., et al., *The Na(+)/H(+) exchange inhibitor eniporide as an adjunct to early reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Results of the evaluation of the safety and cardioprotective effects of eniporide in acute myocardial infarction (ESCAMI) trial*. J Am Coll Cardiol, 2001. **38**(6): p. 1644-50.
148. Mentzer, R.M., Jr., et al., *Sodium-hydrogen exchange inhibition by cariporide to reduce the risk of ischemic cardiac events in patients undergoing coronary artery bypass grafting: results of the EXPEDITION study*. Ann Thorac Surg, 2008. **85**(4): p. 1261-70.
149. Vandecaetsbeek, I., et al., *The Ca²⁺ pumps of the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011. **3**(5).
150. Toyoshima, C., *How Ca²⁺-ATPase pumps ions across the sarcoplasmic reticulum membrane*. Biochim Biophys Acta, 2009. **1793**(6): p. 941-6.
151. Kranias, E.G. and R.J. Hajjar, *Modulation of cardiac contractility by the phospholamban/SERCA2a regulatome*. Circ Res, 2012. **110**(12): p. 1646-60.
152. Kim, H.W., et al., *Functional reconstitution of the cardiac sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase with phospholamban in phospholipid vesicles*. J Biol Chem, 1990. **265**(3): p. 1702-9.
153. Mubagwa, K., *Sarcoplasmic reticulum function during myocardial ischaemia and reperfusion*. Cardiovasc Res, 1995. **30**(2): p. 166-75.
154. Ruiz-Meana, M., et al., *Role of sarcoplasmic reticulum in mitochondrial permeability transition and cardiomyocyte death during reperfusion*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **297**(4): p. H1281-9.
155. Talukder, M.A., et al., *Expression of SERCA isoform with faster Ca²⁺ transport properties improves postischemic cardiac function and Ca²⁺ handling and decreases myocardial infarction*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(4): p. H2418-28.
156. Talukder, M.A., et al., *Reduced SERCA2a converts sub-lethal myocardial injury to infarction and affects postischemic functional recovery*. J Mol Cell Cardiol, 2009. **46**(2): p. 285-7.
157. Kranias, E.G. and R.J. Solaro, *Phosphorylation of troponin I and phospholamban during catecholamine stimulation of rabbit heart*. Nature, 1982. **298**(5870): p. 182-4.
158. Kranias, E.G., et al., *Phosphorylation and functional modifications of sarcoplasmic reticulum and myofibrils in isolated rabbit hearts stimulated with isoprenaline*. Biochem J, 1985. **226**(1): p. 113-21.
159. Edes, I. and E.G. Kranias, *Phospholamban and troponin I are substrates for protein kinase C in vitro but not in intact beating guinea pig hearts*. Circ Res, 1990. **67**(2): p. 394-400.
160. Oh, J.G., et al., *Decoy peptides targeted to protein phosphatase 1 inhibit dephosphorylation of phospholamban in cardiomyocytes*. J Mol Cell Cardiol, 2013. **56**: p. 63-71.
161. Kitakaze, M., et al., *Human atrial natriuretic peptide and nicorandil as adjuncts to reperfusion treatment for acute myocardial infarction (J-WIND): two randomised trials*. Lancet, 2007. **370**(9597): p. 1483-93.
162. Lanner, J.T., et al., *Ryanodine receptors: structure, expression, molecular details, and function in calcium release*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010. **2**(11): p. a003996.
163. Nakai, J., et al., *Primary structure and functional expression from cDNA of the cardiac ryanodine receptor/calcium release channel*. FEBS Lett, 1990. **271**(1-2): p. 169-77.

164. Fauconnier, J., et al., *Type 2 ryanodine receptor: a novel therapeutic target in myocardial ischemia/reperfusion*. Pharmacol Ther, 2013. **138**(3): p. 323-32.
165. Guo, W. and K.P. Campbell, *Association of triadin with the ryanodine receptor and calsequestrin in the lumen of the sarcoplasmic reticulum*. J Biol Chem, 1995. **270**(16): p. 9027-30.
166. Kawasaki, T. and M. Kasai, *Regulation of Calcium Channel in Sarcoplasmic Reticulum by Calsequestrin*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1994. **199**(3): p. 1120-1127.
167. Priori, S.G. and S.R. Chen, *Inherited dysfunction of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ handling and arrhythmogenesis*. Circ Res, 2011. **108**(7): p. 871-83.
168. Boys, J.A., et al., *Effects of dantrolene on ischemia-reperfusion injury in animal models: a review of outcomes in heart, brain, liver, and kidney*. J Investig Med, 2010. **58**(7): p. 875-82.
169. Wang, R., et al., *Localization of the dantrolene-binding sequence near the FK506-binding protein-binding site in the three-dimensional structure of the ryanodine receptor*. J Biol Chem, 2011. **286**(14): p. 12202-12.
170. Zima, A.V. and L.A. Blatter, *Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters*. Cardiovasc Res, 2006. **71**(2): p. 310-21.
171. Donoso, P., et al., *Modulation of cardiac ryanodine receptor activity by ROS and RNS*. Front Biosci (Landmark Ed), 2011. **16**: p. 553-67.
172. Fauconnier, J., et al., *Ryanodine receptor leak mediated by caspase-8 activation leads to left ventricular injury after myocardial ischemia-reperfusion*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108**(32): p. 13258-63.
173. Cherednichenko, G., et al., *NADH oxidase activity of rat cardiac sarcoplasmic reticulum regulates calcium-induced calcium release*. Circ Res, 2004. **94**(4): p. 478-86.
174. Guo, Z., et al., *RNAi targeting ryanodine receptor 2 protects rat cardiomyocytes from injury caused by simulated ischemia-reperfusion*. Biomed Pharmacother, 2010. **64**(3): p. 184-90.
175. Pedrozo, Z., et al., *Calpains and proteasomes mediate degradation of ryanodine receptors in a model of cardiac ischemic reperfusion*. Biochim Biophys Acta, 2010. **1802**(3): p. 356-62.
176. Cai, W.F., et al., *Ablation of junctin or triadin is associated with increased cardiac injury following ischaemia/reperfusion*. Cardiovasc Res, 2012. **94**(2): p. 333-41.
177. Said, M., et al., *Calcium-calmodulin dependent protein kinase II (CaMKII): a main signal responsible for early reperfusion arrhythmias*. J Mol Cell Cardiol, 2011. **51**(6): p. 936-44.
178. Nichols, C.G. and W.J. Lederer, *The role of ATP in energy-deprivation contractures in unloaded rat ventricular myocytes*. Can J Physiol Pharmacol, 1990. **68**(2): p. 183-94.
179. Fauconnier, J., et al., *Type 2 ryanodine receptor: A novel therapeutic target in myocardial ischemia/reperfusion*. Pharmacology & Therapeutics, 2013. **138**(3): p. 323-332.
180. Piper, H.M., Y. Abdallah, and C. Schafer, *The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection*. Cardiovasc Res, 2004. **61**(3): p. 365-71.
181. Inserte, J., et al., *Calpain-Mediated Impairment of Na⁺/K⁺ATPase Activity During Early Reperfusion Contributes to Cell Death After Myocardial Ischemia*. Circulation Research, 2005. **97**(5): p. 465-473.
182. Siegmund, B., et al., *Temporary contractile blockade prevents hypercontracture in anoxic-reoxygenated cardiomyocytes*. Am J Physiol, 1991. **260**(2 Pt 2): p. H426-35.
183. Betts, R., et al., *Structural determinants of the calpain inhibitory activity of calpastatin peptide B27-WT*. J Biol Chem, 2003. **278**(10): p. 7800-9.
184. Suzuki, K., et al., *Calpain: novel family members, activation, and physiologic function*. Biol Chem Hoppe Seyler, 1995. **376**(9): p. 523-9.

185. Inserte, J., et al., *Ischemic preconditioning attenuates calpain-mediated degradation of structural proteins through a protein kinase A-dependent mechanism*. Cardiovasc Res, 2004. **64**(1): p. 105-14.
186. Hernando, V., et al., *Calpain translocation and activation as pharmacological targets during myocardial ischemia/reperfusion*. J Mol Cell Cardiol, 2010. **49**(2): p. 271-9.
187. Hood, J.L., W.H. Brooks, and T.L. Roszman, *Subcellular mobility of the calpain/calpastatin network: an organelle transient*. Bioessays, 2006. **28**(8): p. 850-9.
188. Inserte, J., et al., *Delayed recovery of intracellular acidosis during reperfusion prevents calpain activation and determines protection in postconditioned myocardium*. Cardiovasc Res, 2009. **81**(1): p. 116-22.
189. Neuhof, C. and H. Neuhof, *Calpain system and its involvement in myocardial ischemia and reperfusion injury*. World journal of cardiology, 2014. **6**(7): p. 638-652.
190. Chen, M., et al., *Calpain and mitochondria in ischemia/reperfusion injury*. J Biol Chem, 2002. **277**(32): p. 29181-6.
191. Schwartz Longacre, L., et al., *New horizons in cardioprotection: recommendations from the 2010 National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop*. Circulation, 2011. **124**(10): p. 1172-1179.
192. Gunter, T.E., et al., *Calcium and mitochondria*. FEBS Letters, 2004. **567**(1): p. 96-102.
193. Zhang, S.Z., et al., *Involvement of the mitochondrial calcium uniporter in cardioprotection by ischemic preconditioning*. Life Sci, 2006. **78**(7): p. 738-45.
194. Bianchi, K., et al., *Calcium and mitochondria: mechanisms and functions of a troubled relationship*. Biochim Biophys Acta, 2004. **1742**(1-3): p. 119-31.
195. Orchard, C. and F. Brette, *t-Tubules and sarcoplasmic reticulum function in cardiac ventricular myocytes*. Cardiovasc Res, 2008. **77**(2): p. 237-44.
196. Palmer, J.W., B. Tandler, and C.L. Hoppel, *Biochemical properties of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria isolated from rat cardiac muscle*. Journal of Biological Chemistry, 1977. **252**(23): p. 8731-9.
197. Abdallah, Y., et al., *Interplay between Ca²⁺ cycling and mitochondrial permeability transition pores promotes reperfusion-induced injury of cardiac myocytes*. J Cell Mol Med, 2011. **15**(11): p. 2478-85.
198. de Brito, O.M. and L. Scorrano, *Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria*. Nature, 2008. **456**(7222): p. 605-10.
199. Garcia-Perez, C., et al., *Alignment of sarcoplasmic reticulum-mitochondrial junctions with mitochondrial contact points*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(5): p. H1907-15.
200. Dorn, G.W., 2nd and C. Maack, *SR and mitochondria: calcium cross-talk between kissing cousins*. J Mol Cell Cardiol, 2013. **55**: p. 42-9.
201. Ruiz-Meana, M., et al., *Opening of mitochondrial permeability transition pore induces hypercontracture in Ca²⁺ overloaded cardiac myocytes*. Basic Res Cardiol, 2007. **102**(6): p. 542-52.
202. Vercesi, A.E., et al., *The role of reactive oxygen species in mitochondrial permeability transition*. Biosci Rep, 1997. **17**(1): p. 43-52.
203. Kim, J.S., Y. Jin, and J.J. Lemasters, *Reactive oxygen species, but not Ca²⁺ overloading, trigger pH- and mitochondrial permeability transition-dependent death of adult rat myocytes after ischemia-reperfusion*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **290**(5): p. H2024-34.
204. Halestrap, A.P., S.J. Clarke, and I. Khaliulin, *The role of mitochondria in protection of the heart by preconditioning*. Biochim Biophys Acta, 2007. **1767**(8): p. 1007-31.
205. Honda, H.M. and P. Ping, *Mitochondrial permeability transition in cardiac cell injury and death*. Cardiovasc Drugs Ther, 2006. **20**(6): p. 425-32.

206. Kokoszka, J.E., et al., *The ADP/ATP translocator is not essential for the mitochondrial permeability transition pore*. Nature, 2004. **427**(6973): p. 461-5.
207. He, L. and J.J. Lemasters, *Regulated and unregulated mitochondrial permeability transition pores: a new paradigm of pore structure and function?* FEBS Lett, 2002. **512**(1-3): p. 1-7.
208. Szabo, I., P. Bernardi, and M. Zoratti, *Modulation of the mitochondrial megachannel by divalent cations and protons*. J Biol Chem, 1992. **267**(5): p. 2940-6.
209. Selivanov, V.A., et al., *The role of external and matrix pH in mitochondrial reactive oxygen species generation*. The Journal of biological chemistry, 2008. **283**(43): p. 29292-29300.
210. Baines, C.P., *The cardiac mitochondrion: nexus of stress*. Annu Rev Physiol, 2010. **72**: p. 61-80.
211. Halestrap, A.P., *A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection*. Biochem Soc Trans, 2010. **38**(4): p. 841-60.
212. Ott, M., et al., *Cytochrome c release from mitochondria proceeds by a two-step process*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(3): p. 1259-63.
213. Kagan, V.E., et al., *Cytochrome c acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors*. Nat Chem Biol, 2005. **1**(4): p. 223-32.
214. Baines, C.P., et al., *Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death*. Nature, 2005. **434**(7033): p. 658-62.
215. Halestrap, A.P., S.J. Clarke, and S.A. Javadov, *Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion--a target for cardioprotection*. Cardiovasc Res, 2004. **61**(3): p. 372-85.
216. Kim, J.S., L. He, and J.J. Lemasters, *Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis*. Biochem Biophys Res Commun, 2003. **304**(3): p. 463-70.
217. Tatsumi, T., et al., *Intracellular ATP is required for mitochondrial apoptotic pathways in isolated hypoxic rat cardiac myocytes*. Cardiovasc Res, 2003. **59**(2): p. 428-40.
218. Hausenloy, D.J., S.B. Ong, and D.M. Yellon, *The mitochondrial permeability transition pore as a target for preconditioning and postconditioning*. Basic Res Cardiol, 2009. **104**(2): p. 189-202.
219. Saotome, M., et al., *Transient opening of mitochondrial permeability transition pore by reactive oxygen species protects myocardium from ischemia-reperfusion injury*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **296**(4): p. H1125-32.
220. Cohen, M.V., X.M. Yang, and J.M. Downey, *Acidosis, oxygen, and interference with mitochondrial permeability transition pore formation in the early minutes of reperfusion are critical to postconditioning's success*. Basic Res Cardiol, 2008. **103**(5): p. 464-71.
221. Javadov, S., et al., *Mitochondrial permeability transition in cardiac ischemia-reperfusion: whether cyclophilin D is a viable target for cardioprotection?* Cellular and molecular life sciences : CMLS, 2017. **74**(15): p. 2795-2813.
222. Piot, C., et al., *Effect of Cyclosporine on Reperfusion Injury in Acute Myocardial Infarction*. New England Journal of Medicine, 2008. **359**(5): p. 473-481.
223. Binbrek, A.S., et al., *Erythropoietin to augment myocardial salvage induced by coronary thrombolysis in patients with ST segment elevation acute myocardial infarction*. Am J Cardiol, 2009. **104**(8): p. 1035-40.
224. Rahman, F.A., et al., *Efficacy and Safety of Cyclosporine in Acute Myocardial Infarction: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Frontiers in pharmacology, 2018. **9**: p. 238-238.
225. Cung, T.T., et al., *Cyclosporine before PCI in Patients with Acute Myocardial Infarction*. N Engl J Med, 2015. **373**(11): p. 1021-31.
226. Frangogiannis, N.G., *Regulation of the inflammatory response in cardiac repair*. Circ Res, 2012. **110**(1): p. 159-73.
227. Zipfel, P.F., T. Hallstrom, and K. Riesbeck, *Human complement control and complement evasion by pathogenic microbes--tipping the balance*. Mol Immunol, 2013. **56**(3): p. 152-60.

228. Degn, S.E. and S. Thiel, *Humoral pattern recognition and the complement system*. Scand J Immunol, 2013. **78**(2): p. 181-93.
229. Nijmeijer, R., et al., *C-reactive protein activates complement in infarcted human myocardium*. Am J Pathol, 2003. **163**(1): p. 269-75.
230. Krijnen, P.A., et al., *IgM colocalises with complement and C reactive protein in infarcted human myocardium*. J Clin Pathol, 2005. **58**(4): p. 382-8.
231. Ehrnthaller, C., et al., *New insights of an old defense system: structure, function, and clinical relevance of the complement system*. Mol Med, 2011. **17**(3-4): p. 317-29.
232. Hill, J.H. and P.A. Ward, *The phlogistic role of C3 leukotactic fragments in myocardial infarcts of rats*. J Exp Med, 1971. **133**(4): p. 885-900.
233. Pinckard, R.N., et al., *Consumption of classical complement components by heart subcellular membranes in vitro and in patients after acute myocardial infarction*. J Clin Invest, 1975. **56**(3): p. 740-50.
234. Rossen, R.D., et al., *Cardiolipin-protein complexes and initiation of complement activation after coronary artery occlusion*. Circ Res, 1994. **75**(3): p. 546-55.
235. Dreyer, W.J., et al., *Kinetics of C5a release in cardiac lymph of dogs experiencing coronary artery ischemia-reperfusion injury*. Circ Res, 1992. **71**(6): p. 1518-24.
236. Birdsall, H.H., et al., *Complement C5a, TGF-beta 1, and MCP-1, in sequence, induce migration of monocytes into ischemic canine myocardium within the first one to five hours after reperfusion*. Circulation, 1997. **95**(3): p. 684-92.
237. Maroko, P.R., et al., *Reduction by cobra venom factor of myocardial necrosis after coronary artery occlusion*. The Journal of clinical investigation, 1978. **61**(3): p. 661-670.
238. Weisman, H.F., et al., *Soluble human complement receptor type 1: in vivo inhibitor of complement suppressing post-ischemic myocardial inflammation and necrosis*. Science, 1990. **249**(4965): p. 146-51.
239. Buerke, M., T. Murohara, and A.M. Lefer, *Cardioprotective effects of a C1 esterase inhibitor in myocardial ischemia and reperfusion*. Circulation, 1995. **91**(2): p. 393-402.
240. Horstick, G., et al., *Intracoronary application of C1 esterase inhibitor improves cardiac function and reduces myocardial necrosis in an experimental model of ischemia and reperfusion*. Circulation, 1997. **95**(3): p. 701-8.
241. Buerke, M., et al., *Blocking of classical complement pathway inhibits endothelial adhesion molecule expression and preserves ischemic myocardium from reperfusion injury*. J Pharmacol Exp Ther, 1998. **286**(1): p. 429-38.
242. Jordan, J.E., M.C. Montalto, and G.L. Stahl, *Inhibition of mannose-binding lectin reduces postischemic myocardial reperfusion injury*. Circulation, 2001. **104**(12): p. 1413-8.
243. Walsh, M.C., et al., *Mannose-binding lectin is a regulator of inflammation that accompanies myocardial ischemia and reperfusion injury*. J Immunol, 2005. **175**(1): p. 541-6.
244. Lucchesi, B.R. and K.S. Kilgore, *Complement inhibitors in myocardial ischemia/reperfusion injury*. Immunopharmacology, 1997. **38**(1-2): p. 27-42.
245. Kirschfink, M., *Targeting complement in therapy*. Immunol Rev, 2001. **180**: p. 177-89.
246. Granger, C.B., et al., *Pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, as adjunctive therapy to primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction: the COMPLEMENT inhibition in Myocardial infarction treated with Angioplasty (COMMA) trial*. Circulation, 2003. **108**(10): p. 1184-90.
247. Armstrong, P.W., et al., *Pexelizumab for acute ST-elevation myocardial infarction in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial*. Jama, 2007. **297**(1): p. 43-51.

248. Testa, L., et al., *Pexelizumab in ischemic heart disease: a systematic review and meta-analysis on 15,196 patients*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008. **136**(4): p. 884-93.
249. de Zwaan, C., et al., *Continuous 48-h C1-inhibitor treatment, following reperfusion therapy, in patients with acute myocardial infarction*. Eur Heart J, 2002. **23**(21): p. 1670-7.
250. Fattouch, K., et al., *Beneficial effects of C1 esterase inhibitor in ST-elevation myocardial infarction in patients who underwent surgical reperfusion: a randomised double-blind study*. Eur J Cardiothorac Surg, 2007. **32**(2): p. 326-32.
251. Matzinger, P., *The danger model: a renewed sense of self*. Science, 2002. **296**(5566): p. 301-5.
252. Tissières, A., H.K. Mitchell, and U.M. Tracy, *Protein synthesis in salivary glands of Drosophila melanogaster: Relation to chromosome puffs*. Journal of Molecular Biology, 1974. **84**(3): p. 389-398.
253. Martin, J.L., et al., *Small heat shock proteins and protection against ischemic injury in cardiac myocytes*. Circulation, 1997. **96**(12): p. 4343-8.
254. Fan, G.C., et al., *Novel cardioprotective role of a small heat-shock protein, Hsp20, against ischemia/reperfusion injury*. Circulation, 2005. **111**(14): p. 1792-9.
255. Yellon, D.M., et al., *Whole body heat stress fails to limit infarct size in the reperfused rabbit heart*. Cardiovasc Res, 1992. **26**(4): p. 342-6.
256. Kim, S.C., et al., *Extracellular heat shock protein 60, cardiac myocytes, and apoptosis*. Circ Res, 2009. **105**(12): p. 1186-95.
257. Li, Y., et al., *Myocardial ischemia activates an injurious innate immune signaling via cardiac heat shock protein 60 and Toll-like receptor 4*. J Biol Chem, 2011. **286**(36): p. 31308-19.
258. Rovere-Querini, P., et al., *HMGB1 is an endogenous immune adjuvant released by necrotic cells*. EMBO reports, 2004. **5**(8): p. 825-830.
259. Park, J.S., et al., *Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein*. J Biol Chem, 2004. **279**(9): p. 7370-7.
260. Ivanov, S., et al., *A novel role for HMGB1 in TLR9-mediated inflammatory responses to CpG-DNA*. Blood, 2007. **110**(6): p. 1970-81.
261. Tian, J., et al., *Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE*. Nat Immunol, 2007. **8**(5): p. 487-96.
262. Andrassy, M., et al., *High-mobility group box-1 in ischemia-reperfusion injury of the heart*. Circulation, 2008. **117**(25): p. 3216-26.
263. Takahashi, K., et al., *Modulated inflammation by injection of high-mobility group box 1 recovers post-infarction chronically failing heart*. Circulation, 2008. **118**(14 Suppl): p. S106-14.
264. Kitahara, T., et al., *High-mobility group box 1 restores cardiac function after myocardial infarction in transgenic mice*. Cardiovasc Res, 2008. **80**(1): p. 40-6.
265. Hensley, K., et al., *Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury*. Free Radic Biol Med, 2000. **28**(10): p. 1456-62.
266. Sen, C.K. and L. Packer, *Antioxidant and redox regulation of gene transcription*. Faseb j, 1996. **10**(7): p. 709-20.
267. Griending, K.K. and G.A. FitzGerald, *Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS*. Circulation, 2003. **108**(16): p. 1912-6.
268. Granger, D.N., *Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury*. Am J Physiol, 1988. **255**(6 Pt 2): p. H1269-75.
269. Zorov, D.B., et al., *Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes*. J Exp Med, 2000. **192**(7): p. 1001-14.
270. Wang, P., et al., *Overexpression of human copper, zinc-superoxide dismutase (SOD1) prevents postischemic injury*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(8): p. 4556-60.

271. Chen, Z., et al., *Overexpression of MnSOD protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in transgenic mice*. J Mol Cell Cardiol, 1998. **30**(11): p. 2281-9.
272. Jolly, S.R., et al., *Canine myocardial reperfusion injury. Its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase*. Circ Res, 1984. **54**(3): p. 277-85.
273. Uraizee, A., et al., *Failure of superoxide dismutase to limit size of myocardial infarction after 40 minutes of ischemia and 4 days of reperfusion in dogs*. Circulation, 1987. **75**(6): p. 1237-48.
274. Richard, V.J., et al., *Therapy to reduce free radicals during early reperfusion does not limit the size of myocardial infarcts caused by 90 minutes of ischemia in dogs*. Circulation, 1988. **78**(2): p. 473-80.
275. Murohara, Y., et al., *Effects of superoxide dismutase on reperfusion arrhythmias and left ventricular function in patients undergoing thrombolysis for anterior wall acute myocardial infarction*. American Journal of Cardiology, 1991. **67**(8): p. 765-767.
276. Flaherty, J.T., et al., *Recombinant human superoxide dismutase (h-SOD) fails to improve recovery of ventricular function in patients undergoing coronary angioplasty for acute myocardial infarction*. Circulation, 1994. **89**(5): p. 1982-91.
277. Dhalla, N.S., R.M. Temsah, and T. Netticadan, *Role of oxidative stress in cardiovascular diseases*. J Hypertens, 2000. **18**(6): p. 655-73.
278. Medzhitov, R., P. Preston-Hurlburt, and C.A. Janeway, Jr., *A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity*. Nature, 1997. **388**(6640): p. 394-7.
279. Gallucci, S., M. Lolkema, and P. Matzinger, *Natural adjuvants: endogenous activators of dendritic cells*. Nat Med, 1999. **5**(11): p. 1249-55.
280. Ohashi, K., et al., *Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex*. J Immunol, 2000. **164**(2): p. 558-61.
281. Shi, Y., W. Zheng, and K.L. Rock, *Cell injury releases endogenous adjuvants that stimulate cytotoxic T cell responses*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(26): p. 14590-5.
282. Oyama, J., et al., *Reduced myocardial ischemia-reperfusion injury in toll-like receptor 4-deficient mice*. Circulation, 2004. **109**(6): p. 784-9.
283. Timmers, L., et al., *Toll-like receptor 4 mediates maladaptive left ventricular remodeling and impairs cardiac function after myocardial infarction*. Circ Res, 2008. **102**(2): p. 257-64.
284. Shishido, T., et al., *Toll-like receptor-2 modulates ventricular remodeling after myocardial infarction*. Circulation, 2003. **108**(23): p. 2905-10.
285. Arslan, F., et al., *Myocardial ischemia/reperfusion injury is mediated by leukocytic toll-like receptor-2 and reduced by systemic administration of a novel anti-toll-like receptor-2 antibody*. Circulation, 2010. **121**(1): p. 80-90.
286. Shimamoto, A., et al., *Inhibition of Toll-like receptor 4 with eritoran attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury*. Circulation, 2006. **114**(1 Suppl): p. I270-4.
287. Kim, S.C., et al., *Toll-like receptor 4 deficiency: smaller infarcts, but no gain in function*. BMC Physiol, 2007. **7**: p. 5.
288. Sakata, Y., et al., *Toll-like receptor 2 modulates left ventricular function following ischemia-reperfusion injury*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **292**(1): p. H503-9.
289. Chao, W., *Toll-like receptor signaling: a critical modulator of cell survival and ischemic injury in the heart*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **296**(1): p. H1-12.
290. Boyd, J.H., et al., *Toll-like receptor stimulation in cardiomyocytes decreases contractility and initiates an NF-kappaB dependent inflammatory response*. Cardiovasc Res, 2006. **72**(3): p. 384-93.
291. Frantz, S., et al., *Toll4 (TLR4) expression in cardiac myocytes in normal and failing myocardium*. J Clin Invest, 1999. **104**(3): p. 271-80.

292. Ha, T., et al., *Lipopolysaccharide-induced myocardial protection against ischaemia/reperfusion injury is mediated through a PI3K/Akt-dependent mechanism*. Cardiovasc Res, 2008. **78**(3): p. 546-53.
293. Ha, T., et al., *TLR2 ligands induce cardioprotection against ischaemia/reperfusion injury through a PI3K/Akt-dependent mechanism*. Cardiovasc Res, 2010. **87**(4): p. 694-703.
294. Dong, J.-W., et al., *Innate immunity mediates myocardial preconditioning through Toll-like receptor 2 and TIRAP-dependent signaling pathways*. American journal of physiology. Heart and circulatory physiology, 2010. **298**(3): p. H1079-H1087.
295. Mantovani, A., et al., *Pentraxins in innate immunity: from C-reactive protein to the long pentraxin PTX3*. J Clin Immunol, 2008. **28**(1): p. 1-13.
296. Pepys, M.B., et al., *Targeting C-reactive protein for the treatment of cardiovascular disease*. Nature, 2006. **440**(7088): p. 1217-21.
297. Salio, M., et al., *Cardioprotective function of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction*. Circulation, 2008. **117**(8): p. 1055-64.
298. Sen, R. and D. Baltimore, *Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences*. Cell, 1986. **46**(5): p. 705-16.
299. Hayden, M.S. and S. Ghosh, *Shared principles in NF-kappaB signaling*. Cell, 2008. **132**(3): p. 344-62.
300. Lenardo, M.J. and D. Baltimore, *NF-kappa B: a pleiotropic mediator of inducible and tissue-specific gene control*. Cell, 1989. **58**(2): p. 227-9.
301. Stancovski, I. and D. Baltimore, *NF-kappaB activation: the I kappaB kinase revealed?* Cell, 1997. **91**(3): p. 299-302.
302. Timmers, L., et al., *The innate immune response in reperfused myocardium*. Cardiovasc Res, 2012. **94**(2): p. 276-83.
303. Morishita, R., et al., *In vivo transfection of cis element "decoy" against nuclear factor-kappaB binding site prevents myocardial infarction*. Nat Med, 1997. **3**(8): p. 894-9.
304. Maekawa, N., et al., *Improved myocardial ischemia/reperfusion injury in mice lacking tumor necrosis factor-alpha*. J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(7): p. 1229-35.
305. Frantz, S., et al., *Absence of NF-kappaB subunit p50 improves heart failure after myocardial infarction*. Faseb j, 2006. **20**(11): p. 1918-20.
306. Kawano, S., et al., *Blockade of NF-kappaB improves cardiac function and survival after myocardial infarction*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **291**(3): p. H1337-44.
307. Moss, N.C., et al., *IKKbeta inhibition attenuates myocardial injury and dysfunction following acute ischemia-reperfusion injury*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(4): p. H2248-53.
308. de Moissac, D., et al., *Bcl-2 activates the transcription factor NFkappaB through the degradation of the cytoplasmic inhibitor IkappaBalpha*. J Biol Chem, 1998. **273**(37): p. 23946-51.
309. de Moissac, D., H. Zheng, and L.A. Kirshenbaum, *Linkage of the BH4 domain of Bcl-2 and the nuclear factor kappaB signaling pathway for suppression of apoptosis*. J Biol Chem, 1999. **274**(41): p. 29505-9.
310. Mustapha, S., et al., *A direct requirement of nuclear factor-kappa B for suppression of apoptosis in ventricular myocytes*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000. **279**(3): p. H939-45.
311. Misra, A., et al., *Nuclear factor-kappaB protects the adult cardiac myocyte against ischemia-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction*. Circulation, 2003. **108**(25): p. 3075-8.
312. Timmers, L., et al., *Targeted deletion of nuclear factor kappaB p50 enhances cardiac remodeling and dysfunction following myocardial infarction*. Circ Res, 2009. **104**(5): p. 699-706.

313. Baetz, D., et al., *Nuclear factor-kappaB-mediated cell survival involves transcriptional silencing of the mitochondrial death gene BNIP3 in ventricular myocytes*. *Circulation*, 2005. **112**(24): p. 3777-85.
314. Shaw, J., et al., *Transcriptional silencing of the death gene BNIP3 by cooperative action of NF-kappaB and histone deacetylase 1 in ventricular myocytes*. *Circ Res*, 2006. **99**(12): p. 1347-54.
315. Yurkova, N., et al., *The cell cycle factor E2F-1 activates Bnip3 and the intrinsic death pathway in ventricular myocytes*. *Circ Res*, 2008. **102**(4): p. 472-9.
316. Shaw, J., et al., *Antagonism of E2F-1 regulated Bnip3 transcription by NF-kappaB is essential for basal cell survival*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(52): p. 20734-9.
317. Gordon, J.W., J.A. Shaw, and L.A. Kirshenbaum, *Multiple facets of NF-kappaB in the heart: to be or not to NF-kappaB*. *Circ Res*, 2011. **108**(9): p. 1122-32.
318. Toldo, S., et al., *The inflammasome in myocardial injury and cardiac remodeling*. *Antioxid Redox Signal*, 2015. **22**(13): p. 1146-61.
319. Lamkanfi, M. and V.M. Dixit, *Inflammasomes and Their Roles in Health and Disease*. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2012. **28**(1): p. 137-161.
320. Rider, P., et al., *Interleukin-1alpha*. *Semin Immunol*, 2013. **25**(6): p. 430-8.
321. Gross, O., et al., *Inflammasome activators induce interleukin-1alpha secretion via distinct pathways with differential requirement for the protease function of caspase-1*. *Immunity*, 2012. **36**(3): p. 388-400.
322. Toldo, S., et al., *Independent roles of the priming and the triggering of the NLRP3 inflammasome in the heart*. *Cardiovasc Res*, 2015. **105**(2): p. 203-12.
323. Kawaguchi, M., et al., *Inflammasome activation of cardiac fibroblasts is essential for myocardial ischemia/reperfusion injury*. *Circulation*, 2011. **123**(6): p. 594-604.
324. Mezzaroma, E., et al., *The inflammasome promotes adverse cardiac remodeling following acute myocardial infarction in the mouse*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011. **108**(49): p. 19725-30.
325. Liu, A., et al., *Cathepsin B inhibition attenuates cardiac dysfunction and remodeling following myocardial infarction by inhibiting the NLRP3 pathway*. *Mol Med Rep*, 2013. **8**(2): p. 361-6.
326. Wang, L., et al., *NLRP3 and downstream cytokine expression elevated in the monocytes of patients with coronary artery disease*. *Arch Med Sci*, 2014. **10**(4): p. 791-800.
327. Toldo, S., et al., *Inhibition of the NLRP3 inflammasome limits the inflammatory injury following myocardial ischemia-reperfusion in the mouse*. *Int J Cardiol*, 2016. **209**: p. 215-20.
328. Lamkanfi, M. and V.M. Dixit, *Inflammasomes and their roles in health and disease*. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2012. **28**: p. 137-61.
329. Broderick, L. and H.M. Hoffman, *cASCading specks*. *Nat Immunol*, 2014. **15**(8): p. 698-700.
330. Takahashi, M., *NLRP3 inflammasome as a novel player in myocardial infarction*. *Int Heart J*, 2014. **55**(2): p. 101-5.
331. Mezzaroma, E., C. Marchetti, and S. Toldo, *Letter by Mezzaroma, et al regarding article, "NLRP3 inflammasome as a therapeutic target in myocardial infarction"*. *Int Heart J*, 2014. **55**(4): p. 379.
332. Li, X., et al., *NOD2 deficiency protects against cardiac remodeling after myocardial infarction in mice*. *Cell Physiol Biochem*, 2013. **32**(6): p. 1857-66.
333. Shao, B.-Z., et al., *NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review*. *Frontiers in Pharmacology*, 2015. **6**(262).
334. Bujak, M., et al., *Interleukin-1 receptor type I signaling critically regulates infarct healing and cardiac remodeling*. *Am J Pathol*, 2008. **173**(1): p. 57-67.
335. Saxena, A., et al., *IL-1 induces proinflammatory leukocyte infiltration and regulates fibroblast phenotype in the infarcted myocardium*. *J Immunol*, 2013. **191**(9): p. 4838-48.
336. Shinde, A.V. and N.G. Frangogiannis, *Fibroblasts in myocardial infarction: a role in inflammation and repair*. *J Mol Cell Cardiol*, 2014. **70**: p. 74-82.

337. Frangogiannis, N.G., et al., *Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF-alpha, initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/reperfusion*. Circulation, 1998. **98**(7): p. 699-710.
338. Hamid, T., et al., *Divergent tumor necrosis factor receptor-related remodeling responses in heart failure: role of nuclear factor-kappaB and inflammatory activation*. Circulation, 2009. **119**(10): p. 1386-97.
339. Kurrelmeyer, K.M., et al., *Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(10): p. 5456-61.
340. Gwechenberger, M., et al., *Cardiac myocytes produce interleukin-6 in culture and in viable border zone of reperfused infarctions*. Circulation, 1999. **99**(4): p. 546-51.
341. Fischer, P. and D. Hilfiker-Kleiner, *Role of gp130-mediated signalling pathways in the heart and its impact on potential therapeutic aspects*. British journal of pharmacology, 2008. **153 Suppl 1**(Suppl 1): p. S414-S427.
342. Fuchs, M., et al., *Role of interleukin-6 for LV remodeling and survival after experimental myocardial infarction*. Faseb j, 2003. **17**(14): p. 2118-20.
343. Kobara, M., et al., *Antibody against interleukin-6 receptor attenuates left ventricular remodelling after myocardial infarction in mice*. Cardiovasc Res, 2010. **87**(3): p. 424-30.
344. Zou, Y., et al., *Leukemia inhibitory factor enhances survival of cardiomyocytes and induces regeneration of myocardium after myocardial infarction*. Circulation, 2003. **108**(6): p. 748-53.
345. Frangogiannis, N.G., *Chemokines in ischemia and reperfusion*. Thromb Haemost, 2007. **97**(5): p. 738-47.
346. Dewald, O., et al., *CCL2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts*. Circ Res, 2005. **96**(8): p. 881-9.
347. Ivey, C.L., et al., *Neutrophil chemoattractants generated in two phases during reperfusion of ischemic myocardium in the rabbit. Evidence for a role for C5a and interleukin-8*. J Clin Invest, 1995. **95**(6): p. 2720-8.
348. Frangogiannis, N.G., et al., *Induction and suppression of interferon-inducible protein 10 in reperfused myocardial infarcts may regulate angiogenesis*. Faseb j, 2001. **15**(8): p. 1428-30.
349. Tian, J., et al., *Extracellular HSP60 induces inflammation through activating and up-regulating TLRs in cardiomyocytes*. Cardiovasc Res, 2013. **98**(3): p. 391-401.
350. Turner, N.A., et al., *Interleukin-1alpha stimulates proinflammatory cytokine expression in human cardiac myofibroblasts*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **297**(3): p. H1117-27.
351. Dobaczewski, M., C. Gonzalez-Quesada, and N.G. Frangogiannis, *The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction*. J Mol Cell Cardiol, 2010. **48**(3): p. 504-11.
352. Gawaz, M., *Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium*. Cardiovasc Res, 2004. **61**(3): p. 498-511.
353. Del Conde, I., et al., *Platelet activation leads to activation and propagation of the complement system*. J Exp Med, 2005. **201**(6): p. 871-9.
354. Jordan, J.E., Z.-Q. Zhao, and J. Vinten-Johansen, *The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury*. Cardiovascular Research, 1999. **43**(4): p. 860-878.
355. Weil, B.R. and S. Neelamegham, *Selectins and Immune Cells in Acute Myocardial Infarction and Post-infarction Ventricular Remodeling: Pathophysiology and Novel Treatments*. Frontiers in immunology, 2019. **10**: p. 300-300.
356. Hafezi-Moghadam, A., et al., *L-selectin shedding regulates leukocyte recruitment*. The Journal of experimental medicine, 2001. **193**(7): p. 863-872.

357. Ma, X.L., et al., *Monoclonal antibody to L-selectin attenuates neutrophil accumulation and protects ischemic reperfused cat myocardium*. Circulation, 1993. **88**(2): p. 649-658.
358. Palazzo, A.J., et al., *Coronary endothelial P-selectin in pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury*. Am J Physiol, 1998. **275**(5): p. H1865-72.
359. Kechagia, J.Z., J. Ivaska, and P. Roca-Cusachs, *Integrins as biomechanical sensors of the microenvironment*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2019.
360. Paul, N.R., G. Jacquemet, and P.T. Caswell, *Endocytic Trafficking of Integrins in Cell Migration*. Curr Biol, 2015. **25**(22): p. R1092-105.
361. Ding, Z.M., et al., *Relative contribution of LFA-1 and Mac-1 to neutrophil adhesion and migration*. J Immunol, 1999. **163**(9): p. 5029-38.
362. Christia, P. and N.G. Frangogiannis, *Targeting inflammatory pathways in myocardial infarction*. Eur J Clin Invest, 2013. **43**(9): p. 986-95.
363. Smith, C.W., et al., *Cooperative interactions of LFA-1 and Mac-1 with intercellular adhesion molecule-1 in facilitating adherence and transendothelial migration of human neutrophils in vitro*. J Clin Invest, 1989. **83**(6): p. 2008-17.
364. Smith, C.W., *Introduction: functional polarity of motile neutrophils*. Blood, 2000. **95**(8): p. 2459.
365. Woodfin, A., et al., *The junctional adhesion molecule JAM-C regulates polarized transendothelial migration of neutrophils in vivo*. Nat Immunol, 2011. **12**(8): p. 761-9.
366. Frangogiannis, N.G., *The immune system and cardiac repair*. Pharmacol Res, 2008. **58**(2): p. 88-111.
367. Entman, M.L., et al., *Neutrophil induced oxidative injury of cardiac myocytes. A compartmented system requiring CD11b/CD18-ICAM-1 adherence*. J Clin Invest, 1992. **90**(4): p. 1335-45.
368. Albelda, S.M., C.W. Smith, and P.A. Ward, *Adhesion molecules and inflammatory injury*. Faseb j, 1994. **8**(8): p. 504-12.
369. Puhl, S.-L. and S. Steffens, *Neutrophils in Post-myocardial Infarction Inflammation: Damage vs. Resolution?* Frontiers in Cardiovascular Medicine, 2019. **6**(25).
370. Vinten-Johansen, J., *Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury*. Cardiovascular Research, 2004. **61**(3): p. 481-497.
371. Metzler, B., et al., *Mouse model of myocardial remodelling after ischemia: role of intercellular adhesion molecule-1*. Cardiovasc Res, 2001. **49**(2): p. 399-407.
372. Briaud, S.A., et al., *Leukocyte trafficking and myocardial reperfusion injury in ICAM-1/P-selectin-knockout mice*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **280**(1): p. H60-7.
373. Baran, K.W., et al., *Double-blind, randomized trial of an anti-CD18 antibody in conjunction with recombinant tissue plasminogen activator for acute myocardial infarction: limitation of myocardial infarction following thrombolysis in acute myocardial infarction (LIMIT AMI) study*. Circulation, 2001. **104**(23): p. 2778-83.
374. Faxon, D.P., et al., *The effect of blockade of the CD11/CD18 integrin receptor on infarct size in patients with acute myocardial infarction treated with direct angioplasty: the results of the HALT-MI study*. J Am Coll Cardiol, 2002. **40**(7): p. 1199-204.
375. Horckmans, M., et al., *Neutrophils orchestrate post-myocardial infarction healing by polarizing macrophages towards a reparative phenotype*. Eur Heart J, 2017. **38**(3): p. 187-197.
376. Wan, E., et al., *Enhanced efferocytosis of apoptotic cardiomyocytes through myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase links acute inflammation resolution to cardiac repair after infarction*. Circ Res, 2013. **113**(8): p. 1004-12.
377. Bournazou, I., et al., *Apoptotic human cells inhibit migration of granulocytes via release of lactoferrin*. The Journal of clinical investigation, 2009. **119**(1): p. 20-32.
378. Soehnlein, O. and L. Lindbom, *Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation*. Nat Rev Immunol, 2010. **10**(6): p. 427-39.

379. Nahrendorf, M. and F.K. Swirski, *Monocyte and macrophage heterogeneity in the heart*. Circ Res, 2013. **112**(12): p. 1624-33.
380. Hausenloy, D.J., E.A. Boston-Griffiths, and D.M. Yellon, *Cyclosporin A and cardioprotection: from investigative tool to therapeutic agent*. Br J Pharmacol, 2012. **165**(5): p. 1235-45.
381. Swirski, F.K., et al., *Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites*. Science, 2009. **325**(5940): p. 612-6.
382. Nahrendorf, M., et al., *The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions*. J Exp Med, 2007. **204**(12): p. 3037-47.
383. Frangogiannis, N.G., et al., *MCSF expression is induced in healing myocardial infarcts and may regulate monocyte and endothelial cell phenotype*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **285**(2): p. H483-92.
384. Yan, X., et al., *Temporal dynamics of cardiac immune cell accumulation following acute myocardial infarction*. J Mol Cell Cardiol, 2013. **62**: p. 24-35.
385. Zouggar, Y., et al., *B lymphocytes trigger monocyte mobilization and impair heart function after acute myocardial infarction*. Nat Med, 2013. **19**(10): p. 1273-80.
386. Whittaker, P., D.R. Boughner, and R.A. Kloner, *Role of collagen in acute myocardial infarct expansion*. Circulation, 1991. **84**(5): p. 2123-34.
387. Etoh, T., et al., *Myocardial and interstitial matrix metalloproteinase activity after acute myocardial infarction in pigs*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **281**(3): p. H987-94.
388. Villarreal, F., et al., *Early degradation and serum appearance of type I collagen fragments after myocardial infarction*. J Mol Cell Cardiol, 2004. **36**(4): p. 597-601.
389. Cleutjens, J.P., et al., *Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart*. The American journal of pathology, 1995. **147**(2): p. 325-338.
390. Dobaczewski, M., et al., *Extracellular matrix remodeling in canine and mouse myocardial infarcts*. Cell Tissue Res, 2006. **324**(3): p. 475-88.
391. Kandasamy, A.D., et al., *Matrix metalloproteinase-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix*. Cardiovasc Res, 2010. **85**(3): p. 413-23.
392. Van Lint, P. and C. Libert, *Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation*. J Leukoc Biol, 2007. **82**(6): p. 1375-81.
393. Senior, R.M., G.L. Griffin, and R.P. Mecham, *Chemotactic activity of elastin-derived peptides*. The Journal of clinical investigation, 1980. **66**(4): p. 859-862.
394. Taylor, K.R., et al., *Hyaluronan fragments stimulate endothelial recognition of injury through TLR4*. J Biol Chem, 2004. **279**(17): p. 17079-84.
395. Cerquaglia, C., et al., *Pharmacological and clinical basis of treatment of Familial Mediterranean Fever (FMF) with colchicine or analogues: an update*. Curr Drug Targets Inflamm Allergy, 2005. **4**(1): p. 117-24.
396. Achtert, G., J.M. Scherrmann, and M.O. Christen, *Pharmacokinetics/bioavailability of colchicine in healthy male volunteers*. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 1989. **14**(4): p. 317-22.
397. Ferron, G.M., et al., *Oral absorption characteristics and pharmacokinetics of colchicine in healthy volunteers after single and multiple doses*. J Clin Pharmacol, 1996. **36**(10): p. 874-83.
398. Bhat, A., et al., *Colchicine revisited*. Ann N Y Acad Sci, 2009. **1173**: p. 766-73.
399. Sabouraud, A., et al., *Binding of colchicine and thiocolchicoside to human serum proteins and blood cells*. Int J Clin Pharmacol Ther, 1994. **32**(8): p. 429-32.
400. Chappey, O.N., et al., *Colchicine disposition in human leukocytes after single and multiple oral administration*. Clin Pharmacol Ther, 1993. **54**(4): p. 360-7.
401. Molad, Y., *Update on colchicine and its mechanism of action*. Curr Rheumatol Rep, 2002. **4**(3): p. 252-6.

402. Deftereos, S., et al., *Colchicine and the heart: pushing the envelope*. J Am Coll Cardiol, 2013. **62**(20): p. 1817-25.
403. Niel, E. and J.M. Scherrmann, *Colchicine today*. Joint Bone Spine, 2006. **73**(6): p. 672-8.
404. Chen, J., K.N. Zhao, and C. Chen, *The role of CYP3A4 in the biotransformation of bile acids and therapeutic implication for cholestasis*. Ann Transl Med, 2014. **2**(1): p. 7.
405. Imazio, M., et al., *Colchicine for pericarditis: hype or hope?* European Heart Journal, 2009. **30**(5): p. 532-539.
406. Slobodnick, A., et al., *Colchicine: old and new*. Am J Med, 2015. **128**(5): p. 461-70.
407. Montanari, F. and G.F. Ecker, *Prediction of drug-ABC-transporter interaction--Recent advances and future challenges*. Adv Drug Deliv Rev, 2015. **86**: p. 17-26.
408. Terkeltaub, R.A., et al., *Novel evidence-based colchicine dose-reduction algorithm to predict and prevent colchicine toxicity in the presence of cytochrome P450 3A4/P-glycoprotein inhibitors*. Arthritis Rheum, 2011. **63**(8): p. 2226-37.
409. Ben-Chetrit, E. and M. Levy, *Does the lack of the P-glycoprotein efflux pump in neutrophils explain the efficacy of colchicine in familial Mediterranean fever and other inflammatory diseases?* Med Hypotheses, 1998. **51**(5): p. 377-80.
410. Roubille, F., et al., *Colchicine: an old wine in a new bottle?* Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem, 2013. **12**(1): p. 14-23.
411. Tufan, A., et al., *Association of drug transporter gene ABCB1 (MDR1) 3435C to T polymorphism with colchicine response in familial Mediterranean fever*. J Rheumatol, 2007. **34**(7): p. 1540-4.
412. Hesselink, D.A., et al., *Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus*. Clin Pharmacol Ther, 2003. **74**(3): p. 245-54.
413. *Colcrys [package insert]*. Philadelphia, PA: Mutual Pharmaceutical Company; 2009.
414. Terkeltaub, R.A., et al., *High versus low dosing of oral colchicine for early acute gout flare: Twenty-four-hour outcome of the first multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, dose-comparison colchicine study*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(4): p. 1060-8.
415. Terkeltaub, R.A., *Colchicine update: 2008*. Semin Arthritis Rheum, 2009. **38**(6): p. 411-9.
416. Nogales, E., et al., *High-resolution model of the microtubule*. Cell, 1999. **96**(1): p. 79-88.
417. Downing, K.H., *Structural basis for the interaction of tubulin with proteins and drugs that affect microtubule dynamics*. Annu Rev Cell Dev Biol, 2000. **16**: p. 89-111.
418. Ravelli, R.B., et al., *Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain*. Nature, 2004. **428**(6979): p. 198-202.
419. Bhattacharyya, B., et al., *Anti-mitotic activity of colchicine and the structural basis for its interaction with tubulin*. Med Res Rev, 2008. **28**(1): p. 155-83.
420. Risinger, A.L., F.J. Giles, and S.L. Mooberry, *Microtubule dynamics as a target in oncology*. Cancer treatment reviews, 2009. **35**(3): p. 255-261.
421. Hastie, S.B., *Interactions of colchicine with tubulin*. Pharmacol Ther, 1991. **51**(3): p. 377-401.
422. Skoufias, D.A. and L. Wilson, *Mechanism of inhibition of microtubule polymerization by colchicine: inhibitory potencies of unliganded colchicine and tubulin-colchicine complexes*. Biochemistry, 1992. **31**(3): p. 738-46.
423. Wilson, C. and R.B. Hargreaves, *Inhibition of the pharmacological effects of endothelin*. Prog Med Chem, 1994. **31**: p. 371-410.
424. Panda, D., et al., *Kinetic stabilization of microtubule dynamics at steady state in vitro by substoichiometric concentrations of tubulin-colchicine complex*. Biochemistry, 1995. **34**(31): p. 9921-9.
425. Pollard, T.D., *The cytoskeleton, cellular motility and the reductionist agenda*. Nature, 2003. **422**(6933): p. 741-745.

426. Huber, F., et al., *Cytoskeletal crosstalk: when three different personalities team up*. Curr Opin Cell Biol, 2015. **32**: p. 39-47.
427. Caviston, J.P. and E.L. Holzbaur, *Microtubule motors at the intersection of trafficking and transport*. Trends Cell Biol, 2006. **16**(10): p. 530-7.
428. Nogales, E., *Structural insights into microtubule function*. Annu Rev Biochem, 2000. **69**: p. 277-302.
429. Stanton, R.A., et al., *Drugs that target dynamic microtubules: a new molecular perspective*. Med Res Rev, 2011. **31**(3): p. 443-81.
430. Deftereos, S., et al., *Colchicine and the Heart: Pushing the Envelope*. Journal of the American College of Cardiology, 2013. **62**(20): p. 1817-1825.
431. Ehrenfeld, M., et al., *Effect of colchicine on polymorphonuclear leucocyte chemotaxis in human volunteers*. British journal of clinical pharmacology, 1980. **10**(3): p. 297-300.
432. Matsukawa, A., et al., *Analysis of the cytokine network among tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta, interleukin-8, and interleukin-1 receptor antagonist in monosodium urate crystal-induced rabbit arthritis*. Lab Invest, 1998. **78**(5): p. 559-69.
433. Cronstein, B.N., et al., *Colchicine alters the quantitative and qualitative display of selectins on endothelial cells and neutrophils*. The Journal of clinical investigation, 1995. **96**(2): p. 994-1002.
434. Rich, A.M. and S.T. Hoffstein, *Inverse correlation between neutrophil microtubule numbers and enhanced random migration*. J Cell Sci, 1981. **48**: p. 181-91.
435. Reibman, J., et al., *Differences in signal transduction between Fc gamma receptors (Fc gamma RII, Fc gamma RIII) and FMLP receptors in neutrophils. Effects of colchicine on pertussis toxin sensitivity and diacylglycerol formation*. J Immunol, 1991. **146**(3): p. 988-96.
436. Kuijpers, T.W., et al., *Cytokine-activated endothelial cells internalize E-selectin into a lysosomal compartment of vesiculotubular shape. A tubulin-driven process*. J Immunol, 1994. **152**(10): p. 5060-9.
437. Shah, B., et al., *Effect of Colchicine on Platelet-Platelet and Platelet-Leukocyte Interactions: a Pilot Study in Healthy Subjects*. Inflammation, 2016. **39**(1): p. 182-189.
438. Niggli, V., *Microtubule-disruption-induced and chemotactic-peptide-induced migration of human neutrophils: implications for differential sets of signalling pathways*. J Cell Sci, 2003. **116**(Pt 5): p. 813-22.
439. Gaudry, M., et al., *Crystal-induced neutrophil activation. III. Inflammatory microcrystals induce a distinct pattern of tyrosine phosphorylation in human neutrophils*. J Clin Invest, 1993. **91**(4): p. 1649-55.
440. Roberge, C.J., et al., *Paradoxical effects of colchicine on the activation of human neutrophils by chemotactic factors and inflammatory microcrystal*. J Leukoc Biol, 1996. **59**(6): p. 864-71.
441. Chia, E.W., R. Grainger, and J.L. Harper, *Colchicine suppresses neutrophil superoxide production in a murine model of gouty arthritis: a rationale for use of low-dose colchicine*. Br J Pharmacol, 2008. **153**(6): p. 1288-95.
442. Paschke, S., et al., *Technical advance: Inhibition of neutrophil chemotaxis by colchicine is modulated through viscoelastic properties of subcellular compartments*. J Leukoc Biol, 2013. **94**(5): p. 1091-6.
443. Ding, A.H., et al., *Downregulation of tumor necrosis factor receptors on macrophages and endothelial cells by microtubule depolymerizing agents*. J Exp Med, 1990. **171**(3): p. 715-27.
444. Li, Z., et al., *Inhibition of LPS-induced tumor necrosis factor-alpha production by colchicine and other microtubule disrupting drugs*. Immunobiology, 1996. **195**(4-5): p. 624-39.
445. Jackman, R.W., et al., *Microtubule-mediated NF-kappaB activation in the TNF-alpha signaling pathway*. Experimental cell research, 2009. **315**(19): p. 3242-3249.

446. Gillespie, E., R.J. Levine, and S.E. Malawista, *Histamine release from rat peritoneal mast cells: inhibition by colchicine and potentiation by deuterium oxide*. J Pharmacol Exp Ther, 1968. **164**(1): p. 158-65.
447. Malkinson, F.D., *Colchicine. New uses of an old, old drug*. Arch Dermatol, 1982. **118**(7): p. 453-7.
448. Smith, A.J., et al., *Microtubule-dependent transport of secretory vesicles in RBL-2H3 cells*. Traffic, 2003. **4**(5): p. 302-12.
449. Oka, T., M. Hori, and H. Ozaki, *Microtubule disruption suppresses allergic response through the inhibition of calcium influx in the mast cell degranulation pathway*. J Immunol, 2005. **174**(8): p. 4584-9.
450. Martinon, F., et al., *Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome*. Nature, 2006. **440**(7081): p. 237-41.
451. Mariathasan, S., et al., *Differential activation of the inflammasome by caspase-1 adaptors ASC and Ipaf*. Nature, 2004. **430**(6996): p. 213-8.
452. Toldo, S. and A. Abbate, *The NLRP3 inflammasome in acute myocardial infarction*. Nat Rev Cardiol, 2018. **15**(4): p. 203-214.
453. Leung, Y.Y., L.L. Yao Hui, and V.B. Kraus, *Colchicine--Update on mechanisms of action and therapeutic uses*. Seminars in arthritis and rheumatism, 2015. **45**(3): p. 341-350.
454. Marques-da-Silva, C., et al., *Colchicine inhibits cationic dye uptake induced by ATP in P2X2 and P2X7 receptor-expressing cells: implications for its therapeutic action*. Br J Pharmacol, 2011. **163**(5): p. 912-26.
455. Misawa, T., et al., *Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome*. Nat Immunol, 2013. **14**(5): p. 454-60.
456. Martinez, G.J., et al., *Colchicine Acutely Suppresses Local Cardiac Production of Inflammatory Cytokines in Patients With an Acute Coronary Syndrome*. J Am Heart Assoc, 2015. **4**(8): p. e002128.
457. Robertson, S., et al., *Colchicine therapy in acute coronary syndrome patients acts on caspase-1 to suppress NLRP3 inflammasome monocyte activation*. Clin Sci (Lond), 2016. **130**(14): p. 1237-46.
458. Ben-Chetrit, E., S. Bergmann, and R. Sood, *Mechanism of the anti-inflammatory effect of colchicine in rheumatic diseases: a possible new outlook through microarray analysis*. Rheumatology (Oxford), 2006. **45**(3): p. 274-82.
459. Zhang, C., et al., *Microtubule-mediated defects in junctophilin-2 trafficking contribute to myocyte transverse-tubule remodeling and Ca²⁺ handling dysfunction in heart failure*. Circulation, 2014. **129**(17): p. 1742-50.
460. Gonano, L.A., et al., *Hypotonic swelling promotes nitric oxide release in cardiac ventricular myocytes: impact on swelling-induced negative inotropic effect*. Cardiovascular research, 2014. **104**(3): p. 456-466.
461. Rodriguez-Sinovas, A., et al., *Microtubule stabilization with paclitaxel does not protect against infarction in isolated rat hearts*. Exp Physiol, 2015. **100**(1): p. 23-34.
462. Wojcicki, J., et al., *The effect of colchicine on the development of experimental atherosclerosis in rabbits*. Pol J Pharmacol Pharm, 1986. **38**(4): p. 343-8.
463. Langevitz, P., et al., *Prevalence of ischemic heart disease in patients with familial Mediterranean fever*. Isr Med Assoc J, 2001. **3**(1): p. 9-12.
464. Yuksel, S., L. Ayvazyan, and A.Y. Gasparyan, *Familial mediterranean Fever as an emerging clinical model of atherogenesis associated with low-grade inflammation*. Open Cardiovasc Med J, 2010. **4**: p. 51-6.
465. Crittenden, D.B., et al., *Colchicine use is associated with decreased prevalence of myocardial infarction in patients with gout*. J Rheumatol, 2012. **39**(7): p. 1458-64.

466. Solomon, D.H., et al., *Effects of colchicine on risk of cardiovascular events and mortality among patients with gout: a cohort study using electronic medical records linked with Medicare claims*. Ann Rheum Dis, 2016. **75**(9): p. 1674-9.
467. Nidorf, S.M., et al., *Low-dose colchicine for secondary prevention of cardiovascular disease*. J Am Coll Cardiol, 2013. **61**(4): p. 404-410.
468. Nidorf, M. and P.L. Thompson, *Effect of colchicine (0.5 mg twice daily) on high-sensitivity C-reactive protein independent of aspirin and atorvastatin in patients with stable coronary artery disease*. Am J Cardiol, 2007. **99**(6): p. 805-7.
469. Ridker, P.M., et al., *Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein*. N Engl J Med, 2008. **359**(21): p. 2195-207.
470. *Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients*. Bmj, 2002. **324**(7329): p. 71-86.
471. Vaidya, K., et al., *Colchicine Therapy and Plaque Stabilization in Patients With Acute Coronary Syndrome: A CT Coronary Angiography Study*. JACC Cardiovasc Imaging, 2018. **11**(2 Pt 2): p. 305-316.
472. Tardif, J.-C., et al., *Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction*. New England Journal of Medicine, 2019. **381**(26): p. 2497-2505.
473. Forrat, R., et al., *Effect of colchicine on circulating and myocardial neutrophils and on infarct size in a canine model of ischemia and reperfusion*. J Cardiovasc Pharmacol, 1996. **27**(6): p. 876-83.
474. Fujisue, K., et al., *Colchicine Improves Survival, Left Ventricular Remodeling, and Chronic Cardiac Function After Acute Myocardial Infarction*. Circ J, 2017. **81**(8): p. 1174-1182.
475. Raju, N.C., et al., *Effect of colchicine compared with placebo on high sensitivity C-reactive protein in patients with acute coronary syndrome or acute stroke: a pilot randomized controlled trial*. J Thromb Thrombolysis, 2012. **33**(1): p. 88-94.
476. Akodad, M., et al., *COLIN trial: Value of colchicine in the treatment of patients with acute myocardial infarction and inflammatory response*. Arch Cardiovasc Dis, 2017. **110**(6-7): p. 395-402.
477. Giannopoulos, G., et al., *Usefulness of colchicine to reduce perioperative myocardial damage in patients who underwent on-pump coronary artery bypass grafting*. Am J Cardiol, 2015. **115**(10): p. 1376-81.
478. Buse, G.A.L.L., et al., *Troponin T and B-Type Natriuretic Peptide After On-Pump Cardiac Surgery*. Circulation, 2014. **130**(12): p. 948-957.
479. Croal, B.L., et al., *Relationship Between Postoperative Cardiac Troponin I Levels and Outcome of Cardiac Surgery*. Circulation, 2006. **114**(14): p. 1468-1475.
480. Lim, C.C.S., et al., *Early Diagnosis of Perioperative Myocardial Infarction After Coronary Bypass Grafting: A Study Using Biomarkers and Cardiac Magnetic Resonance Imaging*. The Annals of Thoracic Surgery, 2011. **92**(6): p. 2046-2053.
481. O'Keefe, J.H., et al., *Ineffectiveness of colchicine for the prevention of restenosis after coronary angioplasty*. Journal of the American College of Cardiology, 1992. **19**(7): p. 1597-1600.
482. Deftereos, S., et al., *Colchicine treatment for the prevention of bare-metal stent restenosis in diabetic patients*. J Am Coll Cardiol, 2013. **61**(16): p. 1679-85.
483. Rauchhaus, M., et al., *Plasma Cytokine Parameters and Mortality in Patients With Chronic Heart Failure*. Circulation, 2000. **102**(25): p. 3060-3067.
484. Hofmann, U. and S. Frantz, *How can we cure a heart "in flame"? A translational view on inflammation in heart failure*. Basic research in cardiology, 2013. **108**(4): p. 356-356.
485. Heymans, S., et al., *Inflammation as a therapeutic target in heart failure? A scientific statement from the Translational Research Committee of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology*. Eur J Heart Fail, 2009. **11**(2): p. 119-29.

486. Gullestad, L. and P. Aukrust, *Review of Trials in Chronic Heart Failure Showing Broad-Spectrum Anti-Inflammatory Approaches*. American Journal of Cardiology, 2005. **95**(11): p. 17-23.
487. Heling, A., et al., *Increased expression of cytoskeletal, linkage, and extracellular proteins in failing human myocardium*. Circ Res, 2000. **86**(8): p. 846-53.
488. Koide, M., et al., *Microtubule depolymerization normalizes in vivo myocardial contractile function in dogs with pressure-overload left ventricular hypertrophy*. Circulation, 2000. **102**(9): p. 1045-52.
489. Scopacasa, B.S., V.P. Teixeira, and K.G. Franchini, *Colchicine attenuates left ventricular hypertrophy but preserves cardiac function of aortic-constricted rats*. J Appl Physiol (1985), 2003. **94**(4): p. 1627-33.
490. Tsutsui, H., et al., *Chronic Colchicine Administration Attenuates Cardiac Hypertrophy in Spontaneously Hypertensive Rats*. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 1999. **31**(6): p. 1203-1213.
491. Roos, K.P., R.E. Palmer, and T.W. Miller, *The role of microtubules in structural remodeling and the progression to heart failure*. J Card Fail, 2002. **8**(6 Suppl): p. S300-10.
492. Deftereos, S., et al., *Anti-inflammatory treatment with colchicine in stable chronic heart failure: a prospective, randomized study*. JACC Heart Fail, 2014. **2**(2): p. 131-7.
493. Hemkens, L.G., et al., *Colchicine for prevention of cardiovascular events*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2016(1).
494. Verma, S., et al., *Colchicine in cardiac disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*. BMC Cardiovasc Disord, 2015. **15**: p. 96.
495. Burns, R.J., et al., *The relationships of left ventricular ejection fraction, end-systolic volume index and infarct size to six-month mortality after hospital discharge following myocardial infarction treated by thrombolysis*. J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(1): p. 30-6.
496. Aydin, S., et al., *Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives*. Vascular health and risk management, 2019. **15**: p. 1-10.
497. Bagai, A., et al., *Prognostic implications of creatine kinase-MB measurements in ST-segment elevation myocardial infarction patients treated with primary percutaneous coronary intervention*. Am Heart J, 2014. **168**(4): p. 503-511.e2.
498. Hueb, W., et al., *Accuracy of Myocardial Biomarkers in the Diagnosis of Myocardial Infarction After Revascularization as Assessed by Cardiac Resonance: The Medicine, Angioplasty, Surgery Study V (MASS-V) Trial*. Ann Thorac Surg, 2016. **101**(6): p. 2202-8.
499. Ternant, D., et al., *Revisiting myocardial necrosis biomarkers: assessment of the effect of conditioning therapies on infarct size by kinetic modelling*. Sci Rep, 2017. **7**(1): p. 10709.
500. Hartman, M.H.T., et al., *The contemporary value of peak creatine kinase-MB after ST-segment elevation myocardial infarction above other clinical and angiographic characteristics in predicting infarct size, left ventricular ejection fraction, and mortality*. Clin Cardiol, 2017. **40**(5): p. 322-328.
501. Tzivoni, D., et al., *Comparison of Troponin T to Creatine Kinase and to Radionuclide Cardiac Imaging Infarct Size in Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary Angioplasty*. The American Journal of Cardiology, 2008. **101**(6): p. 753-757.
502. Hallén, J., *Troponin for the Estimation of Infarct Size: What Have We Learned?* Cardiology, 2012. **121**(3): p. 204-212.
503. Katus, H.A., et al., *Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction*. Am J Cardiol, 1991. **67**(16): p. 1360-7.
504. Bleier, J., et al., *Different intracellular compartmentations of cardiac troponins and myosin heavy chains: a causal connection to their different early release after myocardial damage*. Clin Chem, 1998. **44**(9): p. 1912-8.

505. White, H.D., *Pathobiology of Troponin Elevations: Do Elevations Occur With Myocardial Ischemia as Well as Necrosis?* Journal of the American College of Cardiology, 2011. **57**(24): p. 2406-2408.
506. Bergmann, O., et al., *Evidence for Cardiomyocyte Renewal in Humans*. Science, 2009. **324**(5923): p. 98-102.
507. Larue, C., et al., *Cardiac-specific immunoenzymometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction*. Clinical Chemistry, 1993. **39**(6): p. 972-979.
508. Chia, S., et al., *Utility of cardiac biomarkers in predicting infarct size, left ventricular function, and clinical outcome after primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction*. JACC Cardiovasc Interv, 2008. **1**(4): p. 415-23.
509. Swaanenburg, J.C., et al., *The content and distribution of troponin I, troponin T, myoglobin, and alpha-hydroxybutyric acid dehydrogenase in the human heart*. Am J Clin Pathol, 2001. **115**(5): p. 770-7.
510. Chenevier-Gobeaux, C., et al., *High-sensitivity cardiac troponin assays: answers to frequently asked questions*. Arch Cardiovasc Dis, 2015. **108**(2): p. 132-49.
511. Tzivoni, D., et al., *Comparison of Troponin T to creatine kinase and to radionuclide cardiac imaging infarct size in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary angioplasty*. Am J Cardiol, 2008. **101**(6): p. 753-7.
512. Bulluck, H., et al., *Myocardial Infarct Size by CMR in Clinical Cardioprotection Studies: Insights From Randomized Controlled Trials*. JACC Cardiovasc Imaging, 2017. **10**(3): p. 230-240.
513. Schulz-Menger, J., et al., *Standardized image interpretation and post processing in cardiovascular magnetic resonance: Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) board of trustees task force on standardized post processing*. J Cardiovasc Magn Reson, 2013. **15**: p. 35.
514. Kim, H.W., A. Farzaneh-Far, and R.J. Kim, *Cardiovascular magnetic resonance in patients with myocardial infarction: current and emerging applications*. J Am Coll Cardiol, 2009. **55**(1): p. 1-16.
515. Wagner, A., et al., *Contrast-enhanced MRI and routine single photon emission computed tomography (SPECT) perfusion imaging for detection of subendocardial myocardial infarcts: an imaging study*. Lancet, 2003. **361**(9355): p. 374-9.
516. Kim, R.J., et al., *Relationship of MRI delayed contrast enhancement to irreversible injury, infarct age, and contractile function*. Circulation, 1999. **100**(19): p. 1992-2002.
517. Hammer-Hansen, S., et al., *Mechanisms for overestimating acute myocardial infarct size with gadolinium-enhanced cardiovascular magnetic resonance imaging in humans: a quantitative and kinetic study*. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2016. **17**(1): p. 76-84.
518. Rodriguez-Palomares, J.F., et al., *Time elapsed after contrast injection is crucial to determine infarct transmural and myocardial functional recovery after an acute myocardial infarction*. J Cardiovasc Magn Reson, 2015. **17**: p. 43.
519. Orn, S., et al., *Microvascular obstruction is a major determinant of infarct healing and subsequent left ventricular remodelling following primary percutaneous coronary intervention*. Eur Heart J, 2009. **30**(16): p. 1978-85.
520. Mather, A.N., et al., *Timing of cardiovascular MR imaging after acute myocardial infarction: effect on estimates of infarct characteristics and prediction of late ventricular remodeling*. Radiology, 2011. **261**(1): p. 116-26.
521. Engblom, H., et al., *Rapid initial reduction of hyperenhanced myocardium after reperfused first myocardial infarction suggests recovery of the peri-infarction zone: one-year follow-up by MRI*. Circ Cardiovasc Imaging, 2009. **2**(1): p. 47-55.
522. Lonborg, J., et al., *Final infarct size measured by cardiovascular magnetic resonance in patients with ST elevation myocardial infarction predicts long-term clinical outcome: an observational study*. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2013. **14**(4): p. 387-95.

523. Wu, E., et al., *Infarct size by contrast enhanced cardiac magnetic resonance is a stronger predictor of outcomes than left ventricular ejection fraction or end-systolic volume index: prospective cohort study*. Heart, 2008. **94**(6): p. 730-6.
524. Stone, G.W., et al., *Relationship Between Infarct Size and Outcomes Following Primary PCI: Patient-Level Analysis From 10 Randomized Trials*. J Am Coll Cardiol, 2016. **67**(14): p. 1674-83.
525. Adler, Y., et al., *2015 ESC Guidelines for the diagnosis and management of pericardial diseases: The Task Force for the Diagnosis and Management of Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: The European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS)*. Eur Heart J, 2015. **36**(42): p. 2921-2964.
526. Imazio, M., et al., *Colchicine reduces postoperative atrial fibrillation: results of the Colchicine for the Prevention of the Postpericardiotomy Syndrome (COPPS) atrial fibrillation substudy*. Circulation, 2011. **124**(21): p. 2290-5.
527. Deftereos, S., et al., *Colchicine for prevention of early atrial fibrillation recurrence after pulmonary vein isolation: a randomized controlled study*. J Am Coll Cardiol, 2012. **60**(18): p. 1790-6.
528. Heiberg, E., et al., *Automated quantification of myocardial infarction from MR images by accounting for partial volume effects: animal, phantom, and human study*. Radiology, 2008. **246**(2): p. 581-8.
529. Sadowski, M., M. Zabczyk, and A. Undas, *Coronary thrombus composition: links with inflammation, platelet and endothelial markers*. Atherosclerosis, 2014. **237**(2): p. 555-61.
530. Gomaschi, M., et al., *Inflammation impairs eNOS activation by HDL in patients with acute coronary syndrome*. Cardiovasc Res, 2013. **100**(1): p. 36-43.
531. Mayyas, F.A., et al., *Level and significance of plasma myeloperoxidase and the neutrophil to lymphocyte ratio in patients with coronary artery disease*. Exp Ther Med, 2014. **8**(6): p. 1951-1957.
532. van Diepen, S., et al., *Prognostic relevance of baseline pro- and anti-inflammatory markers in STEMI: an APEX AMI substudy*. Int J Cardiol, 2013. **168**(3): p. 2127-33.
533. Guerchicoff, A., et al., *Analysis of biomarkers for risk of acute kidney injury after primary angioplasty for acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of the HORIZONS-AMI trial*. Catheter Cardiovasc Interv, 2015. **85**(3): p. 335-42.
534. Brunetti, N.D., et al., *Blunted inflammatory response in STEMI patients timely reperfused*. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2014. **15**(1): p. 48-52.
535. Urbano-Moral, J.A., et al., *Prognostic value of different serum biomarkers for left ventricular remodelling after ST-elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention*. Heart, 2012. **98**(15): p. 1153-9.
536. van Diepen, S., et al., *Baseline NT-proBNP and biomarkers of inflammation and necrosis in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: insights from the APEX-AMI trial*. J Thromb Thrombolysis, 2012. **34**(1): p. 106-13.
537. van der Laan, A.M., et al., *A proinflammatory monocyte response is associated with myocardial injury and impaired functional outcome in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: monocytes and myocardial infarction*. Am Heart J, 2012. **163**(1): p. 57-65.e2.
538. Husser, O., et al., *White blood cell subtypes after STEMI: temporal evolution, association with cardiovascular magnetic resonance--derived infarct size and impact on outcome*. Inflammation, 2011. **34**(2): p. 73-84.
539. Giugliano, G.R., et al., *Meta-analysis of corticosteroid treatment in acute myocardial infarction*. The American Journal of Cardiology, 2003. **91**(9): p. 1055-1059.
540. Vogel, R.A. and J.S. Forrester, *Cooling Off Hot Hearts: A Specific Therapy for Vulnerable Plaque? **Editorials published in the Journal of the American College of Cardiology reflect the views of the authors and do not necessarily represent the views of JACC or the American College of Cardiology*. Journal of the American College of Cardiology, 2013. **61**(4): p. 411-412.

541. Olsen, A.-M.S., et al., *Long-Term Cardiovascular Risk of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Use According to Time Passed After First-Time Myocardial Infarction*. *Circulation*, 2012. **126**(16): p. 1955-1963.
542. Nicholls, S.J., et al., *Varespladib and Cardiovascular Events in Patients With an Acute Coronary Syndrome: The VISTA-16 Randomized Clinical Trial* Varespladib and Cardiovascular Events. *JAMA*, 2014. **311**(3): p. 252-262.
543. *Darapladib for Preventing Ischemic Events in Stable Coronary Heart Disease*. *New England Journal of Medicine*, 2014. **370**(18): p. 1702-1711.
544. O'Donoghue, M.L., et al., *Effect of Darapladib on Major Coronary Events After an Acute Coronary Syndrome: The SOLID-TIMI 52 Randomized Clinical Trial* Darapladib and Major Coronary Events After ACS. *JAMA*, 2014. **312**(10): p. 1006-1015.
545. Tardif, J.-C., et al., *Effects of the P-Selectin Antagonist Inclacumab on Myocardial Damage After Percutaneous Coronary Intervention for Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: Results of the SELECT-ACS Trial*. *Journal of the American College of Cardiology*, 2013. **61**(20): p. 2048-2055.
546. Newby, L.K., et al., *Losmapimod, a novel p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor, in non-ST-segment elevation myocardial infarction: a randomised phase 2 trial*. *The Lancet*, 2014. **384**(9949): p. 1187-1195.
547. Abbate, A., et al., *Effects of interleukin-1 blockade with anakinra on adverse cardiac remodeling and heart failure after acute myocardial infarction [from the Virginia Commonwealth University-Anakinra Remodeling Trial (2) (VCU-ART2) pilot study]*. *Am J Cardiol*, 2013. **111**(10): p. 1394-400.
548. Abbate, A., et al., *Interleukin-1 blockade with anakinra to prevent adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction (Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial [VCU-ART] Pilot study)*. *Am J Cardiol*, 2010. **105**(10): p. 1371-1377.e1.
549. Morton, A.C., et al., *The effect of interleukin-1 receptor antagonist therapy on markers of inflammation in non-ST elevation acute coronary syndromes: the MRC-ILA Heart Study*. *Eur Heart J*, 2015. **36**(6): p. 377-84.
550. Ridker, P.M., et al., *Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease*. *New England Journal of Medicine*, 2017. **377**(12): p. 1119-1131.
551. Ridker, P.M., et al., *Low-Dose Methotrexate for the Prevention of Atherosclerotic Events*. *New England Journal of Medicine*, 2018. **380**(8): p. 752-762.