

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ-ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Φ.ΤΡΥΠΟΣΚΙΑΔΗΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΟΥΙΝΑΠΡΙΛΗΣ ΣΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΤΗΣ
ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ**

**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΧΑΜΑΪΔΗ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

ΛΑΡΙΣΑ 2007

Στον πατέρα μου και τη μητέρα μου,

στους Ιατρούς Δημήτρη Καψαλά και Λιάνα Καραγιάννη

Τριμελής Συμβουλευτική επιτροπή

Γ.Κουκούλης.....Αναπλ.Καθηγητής Ενδοκρινιολογίας/Παθολογίας

Ι.Σκουλαρίγκης.....Επικ.Καθηγητής Καρδιολογίας

Φ.Τρυποσκιάδης.....Καθηγητής Καρδιολογίας

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Γ. Κουκούλης.....Αναπλ.Καθηγητής Ενδοκρινιολογίας/Παθολογίας

Ι.Σκουλαρίγκης.....Επικ.Καθηγητής Καρδιολογίας

Ν.Σταθάκης.....Καθηγητής Παθολογίας

Ι.Στεφανίδης.....Αναπλ.Καθηγητής Νεφρολογίας/Παθολογίας

Φ.Τρυποσκιάδης.....Καθηγητής Καρδιολογίας

Ν.Τσιλιμίγκας.....Αναπλ.Καθηγητής Θώρακος/Καρδιάς/Αγγείων

Δ.Χατζούλης.....Καθηγητής Οφθαλμολογίας

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Καθώς η στεφανιαία νόσος αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου στον Δυτικό κόσμο, οι θεραπευτικές παρεμβάσεις για την ελαχιστοποίηση των επιδράσεων της μυοκαρδιακής ισχαιμίας και νέκρωσης, συνεχίζουν να αποτελούν το αντικείμενο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος. Παρά το γεγονός ότι οι θεραπείες επαναιμάτωσης του μυοκαρδίου, μετά από απόφραξη των στεφανιαίων αρτηριών, αποτελούν τη μέθοδο αναφοράς για την αποκατάσταση της στεφανιαίας κυκλοφορίας, υπάρχει ακόμα ανάγκη για την ανεύρεση παρεμβάσεων που θα μπορούν να «προστατεύουν» και να διατηρούν τη βιωσιμότητα του μυοκαρδίου, μέχρις ότου η ροή του αίματος αποκατασταθεί.

Η ισχαιμική προετοιμασία του μυοκαρδίου αποτελεί το φαινόμενο κατά το οποίο βραχεία επεισόδια ισχαιμίας/επαναιμάτωσης, εφαρμοζόμενα πριν από μια παρατεταμένη περίοδο ισχαιμικής βλάβης, αυξάνουν την αντοχή του μυοκαρδίου στην ισχαιμία, προκαλώντας ελάττωση του μεγέθους του εμφράγματος. Κατά τη διάρκεια των βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας, απελευθερώνονται ποικίλες ουσίες, μεταξύ των οποίων και η βραδυκινίνη, που ενεργοποιούν πολύπλοκα ενδοκυττάρια σηματοδοτικά συστήματα που καταλήγουν στην επίτευξη της ισχαιμικής προετοιμασίας του μυοκαρδίου, κατά το επόμενο παρατεταμένο επεισόδιο ισχαιμίας.

Η ισχαιμική προετοιμασία αποδείχτηκε ότι ισχύει σε όλα τα είδη στα οποία μελετήθηκε, φαίνεται δε ότι και το ανθρώπινο μυοκάρδιο είναι επιδεκτικό στο να προπονηθεί ισχαιμικά, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Ένα από τα πιθανά κλινικά μοντέλα της ισχαιμικής προετοιμασίας αποτελεί η στηθάγχη προθέρμανσης, που αναφέρεται στη βελτίωση της απόδοσης και στην ικανότητα που επιδεικνύουν πολλοί ασθενείς με στηθάγχη προσπαθείας, να μπορούν να συνεχίζουν, μετά από μια ενδιάμεση περίοδο ανάπαυσης, την άσκηση στο ίδιο επίπεδο, αλλά χωρίς συμπτώματα.

Η πειραματική έρευνα για την αποκάλυψη του μοριακού μηχανισμού της ισχαιμικής προετοιμασίας έχει παράσχει διάφορους στόχους φαρμακολογικής παρέμβασης και έχει συσχετιστεί με τη προσδοκία, ότι η φαρμακολογική προετοιμασία μπορεί σύντομα να εφαρμοστεί στην κλινική πράξη, καθώς διάφοροι φαρμακευτικοί παράγοντες έχουν δείξει να μιμούνται, αλλά και να ενδυναμώνουν την ισχαιμική προετοιμασία. Έτσι, έχει καταδειχτεί σε πειραματικό επίπεδο, ότι οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης, μέσω αύξησης της συγκέντρωσης της ενδογενούς βραδυκινίνης, μπορούν να ενδυναμώσουν την δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας, όταν χορηγηθούν πριν από το ισχαιμικό ερέθισμα.

Στη παρούσα μελέτη εξετάστηκε το κατά πόσο τα ευρήματα για την ευνοϊκή δράση των αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης στην ισχαιμική προετοιμασία από το πειραματικό εργαστήριο, μπορούν να εφαρμοστούν σε ένα μοντέλο στηθάγχης προθέρμανσης, που περιλάμβανε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης. Αυτό πραγματοποιήθηκε με τη χορήγηση κουιναπρίλης, σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, που είχαν ήδη εμφανίσει στοιχεία ισχαιμικής προπόνησης σε δύο προηγούμενες διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, για να μελετηθεί η επίδραση της σε δύο επόμενες δοκιμασίες κόπωσης, αν δηλαδή ενδυναμώνει ή όχι την ισχαιμική προετοιμασία.

Η παρούσα διατριβή αποτελείται από το γενικό και το ειδικό μέρος. Στο γενικό μέρος αναπτύσσεται η ισχαιμική προετοιμασία του μυοκαρδίου, τα χαρακτηριστικά της, οι κυτταρικοί μηχανισμοί της κλασικής ισχαιμικής προετοιμασίας που οδηγούν στη μυοκαρδιακή προστασία, τα μοντέλα της ισχαιμικής προετοιμασίας στον άνθρωπο και οι θεραπευτικές εφαρμογές της ισχαιμικής προετοιμασίας που αποτελούν την φαρμακολογική προετοιμασία του μυοκαρδίου. Στο ειδικό μέρος αναπτύσσεται η μελέτη που πραγματοποιήθηκε και παραθέτονται και συζητούνται τα ευρήματα της.

Η μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Δοκιμασιών Κοπώσεως της Καρδιολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θα ήθελα εδώ, να εκφράσω την βαθιά ευγνωμοσύνη και το σεβασμό μου στον Καθηγητή κ. Φίλιππο Τρυποσκιάδη, για την ανάθεση και για την επίβλεψη της παρούσας διατριβής, καθώς και για όλη την πολύτιμη προσφορά του σε μένα, κατά τη διάρκεια της ειδίκευσης μου στην Καρδιολογία, αλλά και μετά το πέρας αυτής.

Ευχαριστώ θερμότατα, τον κ. Γλαύκο Κελεπέση, Επιμελητή της Καρδιολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, για την πολύτιμη βοήθεια και πρόθυμη καθοδήγηση του, σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης θερμά, το νοσηλευτικό προσωπικό των Εξωτερικών Ιατρείων της Καρδιολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, για την βοήθεια και τις τεχνικές διευκολύνσεις που μου προσέφερε.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
ΕΙΣΑΓΩΓΗ:ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ	12
Ι.ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ	14
ΙΙ.ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ	17
A. Διασπαστική κατανομή και ερεθίσματα της ισχαιμικής προετοιμασίας.....	17
B. Διάρκεια και ένταση του ερεθίσματος της ισχαιμικής προετοιμασίας.....	18
Γ. Η μνήμη της ισχαιμικής προετοιμασίας.....	19
Δ. Τελικά σημεία για την εκτίμηση της επίδρασης της ισχαιμικής προετοιμασίας.....	20
ΙΙΙ.ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΚΛΑΣΙΚΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ	23
A. Ουσίες που πυροδοτούν την ισχαιμική προετοιμασία.....	23
1. Αδενosίνη.....	23
2. Βραδυκίνη.....	24
3. Οπιοειδή.....	26
4. Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.....	28
5. Ασβέστιο και Οξείδιο του Αζώτου.....	28
B. Διαμεσολαβητές-σηματοδοτικά συστήματα της ισχαιμικής προετοιμασίας.....	29
1. Πρωτεϊνική κινάση C(PKC).....	29
2. 5-Νουκλεοτιδάση.....	31
3. Κινάσες της τυροσίνης.....	32
4. MAPK.....	32
Γ. Τελικοί εκτελεστές της ισχαιμικής προετοιμασίας.....	34
1. Οι δίαυλοι K^+ οι ευαίσθητοι στο ATP (K^+_{ATP}) και ο διττός τους ρόλος στον σηματοδοτικό καταρράκτη της ισχαιμικής προετοιμασίας.....	34

2. Ενεργειακές, μεταβολικές και ιοντικές μεταβολές.....	40
3. Ο ανταλλάκτης Na^+/H^+	40
4. Οσμωτικό οίδημα.....	41
5. Ελάττωση της ευθραυστότητας του κυτταροσκελετού.....	42
6. Μιτοχονδριακός πόρος διαπερατότητας.....	43
IV. Η ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ.....	47
Α. Στηθάγχη προθέρμανσης.....	48
Β. Προεμφραγματική στηθάγχη.....	51
Γ. Ισχαιμική προετοιμασία στη στεφανιαία αγγειοπλαστική.....	52
Δ. Ισχαιμική προετοιμασία στην αορτοστεφανιαία παράκαμψη.....	54
V. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ: ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ.....	56
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	62
I. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	
Α. Σκοπός της μελέτης.....	63
Β. Πληθυσμός της μελέτης.....	64
Γ. Πρωτόκολλο της μελέτης.....	64
Δ. Δοκιμασίες κόπωσης.....	66
Ε. Στατιστική ανάλυση.....	68
II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	69
Α. Αρτηριακή πίεση, καρδιακή συχνότητα και διπλό γινόμενο.....	73
Β. Συνολικός χρόνος άσκησης.....	75
Γ. Μέγιστη κατάσπαση του ST διαστήματος.....	76
Δ. Συνολικός χρόνος ισχαιμίας.....	77
Ε. Διάρκεια στηθάγχης.....	79
ΣΤ. Athens QRS score.....	79

III. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

A. Ευρήματα της μελέτης.....	80
B. Στηθάγγη προθέρμανσης και ισχαιμική προετοιμασία: μια αμφιλεγόμενη σχέση.....	81
Γ. α-MEA και ισχαιμική προετοιμασία.....	85
Δ. Βελτίωση της ικανότητας για άσκηση: ευνοϊκή επίδραση των α-MEA.....	87
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	89
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	91
SUMMARY.....	93
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	95

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ : ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ

Παρά τις τεράστιες προόδους στη πρόληψη και τη θεραπεία της, η στεφανιαία νόσος και ειδικότερα το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με τις απώτερες επιπλοκές του, αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου στο Δυτικό κόσμο, ενώ σύμφωνα με το Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, το 2020 θα αποτελεί τη κύρια αιτία θανάτου σε όλο τον κόσμο ¹. Έτσι είναι σαφές, ότι η συνεχής βελτίωση των στρατηγικών που στοχεύουν τόσο στη πρωτογενή, όσο και στη δευτερογενή πρόληψη, είναι ουσιώδους σημασίας.

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελεί ένα «τελικό καταστροφικό» γεγονός, καθώς τα νεκρά μυοκύτταρα δεν αντικαθίστανται από διαίρεση των επιζώντων μυοκυττάρων, και έτσι, η διατήρηση της βιωσιμότητας του ισχαιμικού μυοκαρδίου, έχει αναγνωριστεί ως μείζων θεραπευτικός στόχος. Στη κατεύθυνση αυτή, συμπληρωματικά της πρωτογενούς πρόληψης, υπάρχει επείγουσα ανάγκη αποτελεσματικών μορφών δευτερογενούς πρόληψης και ειδικά θεραπευτικών μεθόδων, που θα μειώσουν το μέγεθος ενός εξελισσόμενου εμφράγματος του μυοκαρδίου, κατά την οξεία φάση της στεφανιαίας απόφραξης. Ως αποτέλεσμα, η «μυοκαρδιακή προστασία» από τις επιπτώσεις της στένωσης και απόφραξης των στεφανιαίων αρτηριών, συνεχίζει να αποτελεί το αντικείμενο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος.

Η ιδέα της μυοκαρδιακής προστασίας φαρμακολογικά, είχε προταθεί σε πειραματικό επίπεδο, πριν από δύο δεκαετίες, από τους Braunwald και συν.² που πρότειναν ότι κάποιες παρεμβάσεις μπορεί να μειώσουν το μέγεθος του επερχόμενου εμφράγματος, κατά το χρόνο της οξείας στεφανιαίας απόφραξης. Την εποχή εκείνη, οι τρόποι εκτίμησης του μεγέθους του εμφράγματος ήταν πολύ στοιχειώδεις, και καμία από τις προταθείσες παρεμβάσεις, όπως οι β-αναστολείς, η γλυκόζη-ινσουλίνη-κάλιο ³, ή η υαλορουινιάση ⁴ δεν αποδείχτηκαν πάντα αποτελεσματικές. Παρόλα αυτά, οι πρώτες αυτές μελέτες, άνοιξαν την έρευνα για παρεμβάσεις που θα μπορούσαν να μειώσουν το μέγεθος του εμφράγματος σε κλινικό επίπεδο.

Αργότερα, οι Jennings και Reimer ⁵ με την πρωτοποριακή τους μελέτη, κατέδειξαν ότι η επαναιμάτωση είναι ζωτικής σημασίας για τη προστασία του ισχαιμικού μυοκαρδίου σε κίνδυνο κατά την οξεία φάση της στεφανιαίας απόφραξης, και σύντομα μετά, η θρομβόλυση έγινε ευρύτατα διαθέσιμη και αποδεκτή.

Μέχρι και σήμερα, ο μοναδικός αποδεδειγμένα αποτελεσματικός τρόπος για τη διάσωση του ισχαιμικού μυοκαρδίου σε κίνδυνο, σε ασθενείς με οξεία στεφανιαία απόφραξη, είναι η επείγουσα επαναιμάτωση, είτε με φαρμακολογικό παράγοντα με στόχο τη λύση του αποφρακτικού ενδοστεφανιαίου θρόμβου (για παράδειγμα, τους ενεργοποιητές του ιστικού πλασμινογόνου), είτε με διαδερμικές με καθετήρα επεμβάσεις με αγγειοπλαστική, τοποθέτηση ενδοπρόσθεσης και αθηρεκτομή με σκοπό τη μηχανική αφαίρεση ή μετατόπιση της αποφρακτικής αθηροσκληρυντικής πλάκας, είτε με χειρουργική αορτοστεφανιαία παράκαμψη, που εκτρέπει το αρτηριακό αίμα γύρω από την απόφραξη.

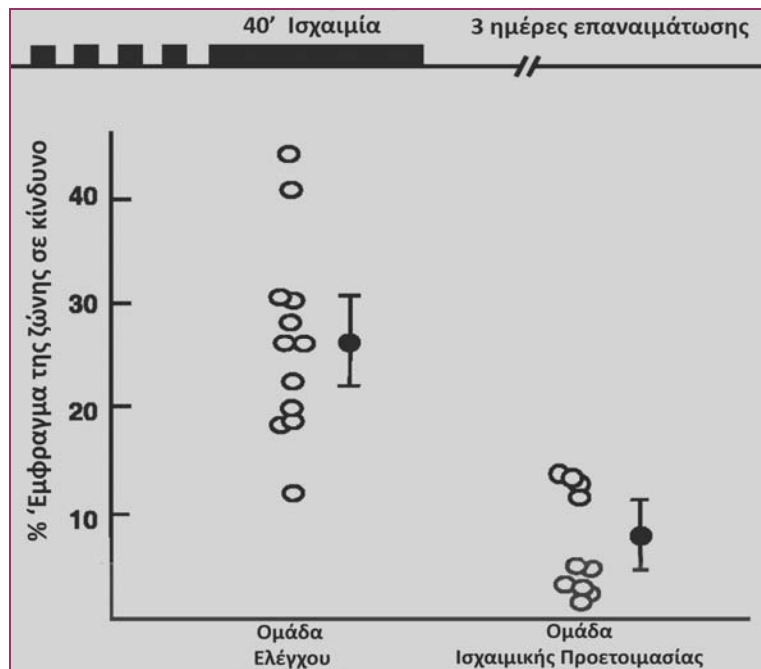
Παρόλα αυτά., όλα τα νοσοκομεία δεν είναι σε θέση να παρέχουν όλες αυτές τις υπηρεσίες, αλλά ακόμη και όταν αυτές είναι διαθέσιμες, η αναπόφευκτο χρονική καθυστέρηση μεταξύ της παρουσίασης του ασθενή στο νοσοκομείο και της επιτυχούς επαναιμάτωσης, είναι πολλές φορές πολύ μεγάλη, για να αποφευχθεί το σημαντικό έμφραγμα. Είναι γνωστό, ότι η έκταση της νέκρωσης είναι ανάλογη της διάρκειας του διαστήματος μεταξύ της στεφανιαίας απόφραξης και της επανεγκατάστασης της στεφανιαίας ροής, με την αναμενομένη διάσωση του μυοκαρδίου να είναι μικρή, αν η επαναιμάτωση δεν επιτευχθεί μέσα στις πρώτες 6 ώρες, μετά τη στεφανιαία απόφραξη.

Η ανάγκη συνεπώς ενός φαρμακολογικού παράγοντα, ικανού να «προστατεύει» το μυοκάρδιο από το έμφραγμα πριν την επαναιμάτωση, είναι ζωτικής σημασίας, όμως παρά το γεγονός ότι έχει αποτελέσει το αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας, δεν έχουμε στη διάθεση μας ακόμη και σήμερα, ένα τέτοιο φαρμακευτικό παράγοντα, που να μπορεί να χορηγηθεί πριν ή κατά τη διάρκεια της οξείας στεφανιαίας απόφραξης.

I. ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

Μεγάλη πρόοδος στο πεδίο της μυοκαρδιακής προστασίας ήταν η ανακάλυψη από του Murry και συν.⁶ το 1986, ενός ενδογενούς μηχανισμού προστασίας, την οποία και όρισαν ως ισχαιμική προετοιμασία.

Στο άρθρο που δημοσίευσαν, έδειξαν ότι σε πειραματικό μοντέλο σκύλου, η εφαρμογή 5-λεπτων κύκλων ισχαιμίας και ενδιάμεσης επαναιμάτωσης, που προηγήθηκαν μιας μακρύτερης διάρκειας 40 λεπτών στεφανιαίας απόφραξης, συσχετίστηκαν με ελάττωση του μεγέθους του εμφράγματος του μυοκαρδίου κατά 75%, ένα ποσοστό προστασίας ανήκουστο μέχρι τότε (**Εικόνα 1**)⁷. Αυτή ήταν η πρώτη παρέμβαση σε πειραματικό μοντέλο, που έδειξε ξεκάθαρα ότι η ελάττωση του μεγέθους του εμφράγματος του μυοκαρδίου, ήταν θεωρητικά δυνατή.



Εικόνα 1. Τα αποτελέσματα της πρωτοποριακής μελέτης των Murry και συν.⁶ σε πειραματικό μοντέλο σκύλου. Τέσσερις κύκλοι 5 λεπτών στεφανιαίας απόφραξης, ελάττωσαν το μέγεθος του εμφράγματος, που προκλήθηκε από μια επόμενη παρατεταμένη στεφανιαία απόφραξη 40 λεπτών και που αξιολογήθηκε ιστολογικά τέσσερις μέρες μετά την επαναιμάτωση, κατά 75%.

Στα μεταγενέστερα χρόνια, η αντιεμφραγματική δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας αναπαράχθηκε και αποδείχτηκε ότι ισχύει σε όλα τα είδη στα οποία μελετήθηκε. Έτσι, η «προστασία» της ισχαιμικής προετοιμασίας ανακοινώθηκε ότι ισχύει σε ποντικούς⁸, σε κουνέλια⁹, σε χοίρους¹⁰, αλλά και σε απομονωμένα ανθρώπινα μυοκύτταρα¹¹. Επιπλέον, και σημαντικότερο, ανακοινώθηκε ότι μπορεί να ισχύει και στο ανθρώπινο μυοκάρδιο in vivo^{12 13}.

Η παρατηρηθείσα προστασία ήταν τόσο ισχυρή, που το φαινόμενο αναγνωρίστηκε ως «η ισχυρότερη μορφή in vivo προστασίας απέναντι στη μυοκαρδιακή ισχαιμική βλάβη, εκτός από τη πρόιμη επαναιμάτωση»¹⁴. Φάνηκε συνεπώς, ότι το μόνο που απομένει είναι να διερευνηθεί και να κατανοηθεί ο υπεύθυνος μηχανισμός, με σκοπό την ανάπτυξη φαρμακολογικών μιμητών, που θα μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν στην κλινική πράξη, πριν ή και κατά τη διάρκεια του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Για ηθικούς λόγους όμως, ήταν δύσκολο να καταδειχτεί το εάν μπορεί η ισχαιμική προετοιμασία να προστατέψει το ανθρώπινο μυοκάρδιο από το έμφραγμα. Στοιχεία για την αντιεμφραγματική δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας στο ανθρώπινο μυοκάρδιο προέρχονται από «φυσικά» εμφανιζόμενα μοντέλα ισχαιμικής προετοιμασίας, αλλά και από μελέτες με ενεργείς παρεμβάσεις, όπου η εφαρμογή βραχέων περιόδων ισχαιμίας, μπορεί να προγραμματιστεί:

- Η προεμφραγματική στηθάγχη συσχετίστηκε με ελάττωση του μεγέθους του εμφράγματος, μικρότερη επίπτωση καρδιακής ανεπάρκειας, κοιλιακών αρρυθμιών, καρδιογενούς καταπληξίας^{15 16}.
- Στη διαδερμική αγγειοπλαστική με μπαλόνι, παρατηρήθηκε μείωση της ανάσπασης του ST διαστήματος στις διαδοχικές διαστολές του μπαλονιού, δεικνύοντας ότι η κάθε διαστολή-απόφραξη παρέχει ερέθισμα ισχαιμικής προετοιμασίας για κάθε επόμενη^{17 18}.
- Σε διάφορα πρωτόκολλα ισχαιμικής προετοιμασίας προ της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, παρατηρήθηκε διατήρηση των επιπέδων του μυοκαρδιακού ATP και της τροπονίνης T του ορού κατά τη διάρκεια της καθολικής ισχαιμίας, δηλωτικά μικρότερου εμφράγματος^{19 20}.

- Παρατηρήθηκε προοδευτική ελάττωση του μεγέθους της ισχαιμίας σε διαδοχικές δοκιμασίες κοπώσεως, σε ασθενείς με στηθάγχη προσπαθείας -στηθάγχη προθέρμανσης- προτείνοντας ότι η κάθε προηγούμενη δοκιμασία δρα ως ισχαιμική προετοιμασία για την επόμενη²¹.

Στην προσπάθεια θεραπευτικής εφαρμογής της ισχαιμικής προετοιμασίας, αναπτύχθηκαν φαρμακολογικοί μιμητές της, που μπορούν να αναπαράγουν την προστατευτική της δράση, αποφεύγοντας με το τρόπο αυτό την ανάγκη ισχαιμικών περιόδων για να την προκαλέσουν και φάνηκε, ότι η «φαρμακολογική προετοιμασία» αποτελεί δυνητικά, ένα ισχυρό θεραπευτικό μέσο. Για παράδειγμα, προτάθηκε μεταξύ άλλων, η χορήγηση της αδενοσίνης, της βραδυκινίνης, των διανοικτών των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} , που αποδεδειγμένα έχουν δείξει να μιμούνται την ισχαιμική προετοιμασία σε πειραματικό επίπεδο, πριν από προγραμματισμένες επεμβάσεις - όπως αορτοστεφανιαία παράκαμψη ή αγγειοπλαστική σε οξύ στεφανιαίο σύνδρομο χωρίς ανάρταση του ST διαστήματος - με σκοπό την εξοικονόμηση χρόνου και την προστασία του μυοκαρδίου πριν την διενέργεια της επαναιμάτωσης²².

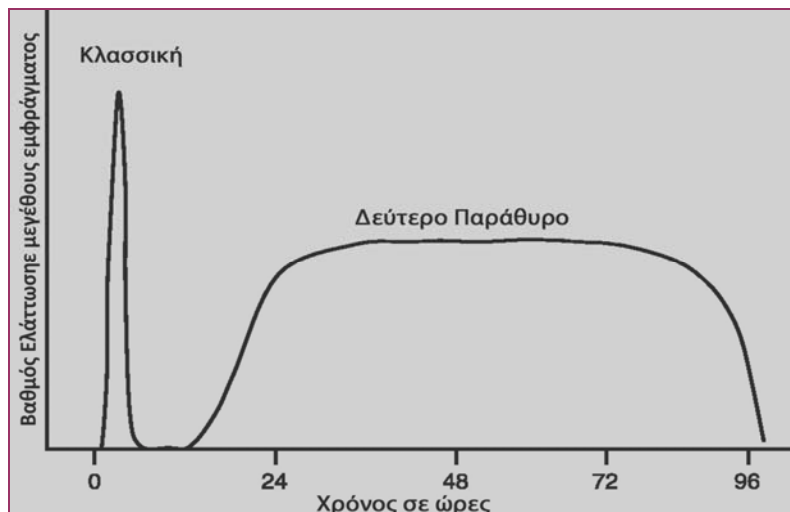
Εντούτοις, η εφαρμογή της φαρμακολογικής προετοιμασίας στην κλινική πράξη, εξαρτάται πρωταρχικά από την απόδειξη της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της, σε σχέση με τις καθιερωμένες στρατηγικές μυοκαρδιακής προστασίας. Έτσι, αν και τα τελευταία χρόνια, ένας μεγάλος αριθμός μελετών απευθύνθηκε στην αξιοποίηση της στο κλινικό πεδίο, αντικρουόμενα αποτελέσματα και μεθοδολογικοί περιορισμοί τους, κάνουν ακόμη και σήμερα, περιορισμένη την εφαρμογή της φαρμακολογικής προετοιμασίας στο στεφανιαίο ασθενή.

II. ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ

A. Διφασική κατανομή και ερεθίσματα της ισχαιμικής προετοιμασίας

Όπως αναφέρθηκε, η ισχαιμική προετοιμασία του μυοκαρδίου περιγράφεται ως το φαινόμενο κατά το οποίο, σύντομα επεισόδια ισχαιμίας/επαναιμάτωσης, εφαρμοζόμενα πριν μια μεγαλύτερης διάρκειας περίοδο ισχαιμικής βλάβης, αυξάνουν την αντοχή του μυοκαρδίου, προκαλώντας ελάττωση του μεγέθους του μυοκαρδιακού εμφράγματος. Η προκληθείσα «προστασία» ορίζεται τόσο από την άποψη της πορείας του εμφράγματος, όσο και από ποικίλα τελικά σημεία της κυτταρικής βλάβης.

Φαίνεται ότι υπάρχει μια διφασική κατανομή της προστασίας, που εκδηλώνεται σε δύο διαφορετικά χρονικά παράθυρα(Εικόνα 2)⁷ : η «κλασική» ισχαιμική προετοιμασία, που πρωτοπεριγράφηκε από το Murry και εμφανίζεται λίγα λεπτά μετά την έναρξη του προαπαιτούμενου ισχαιμικού επεισοδίου, είναι παροδική και διαρκεί για 1 έως 2 ώρες, και το «δεύτερο παράθυρο της ισχαιμικής προετοιμασίας», που πρωτοπεριγράφηκε το 1993 και εμφανίζεται περίπου 24 ώρες μετά την αρχική ισχαιμική προσβολή, διαρκεί έως και 72 ώρες και είναι λιγότερο ισχυρό²³.



Εικόνα 2. Σχηματική παράσταση της χρονικής κατανομής της «κλασικής» και του «δεύτερου παραθύρου» της ισχαιμικής προετοιμασίας .

Κλασικά, το ερεθίσμα για την ισχαιμική προετοιμασία αποτελεί μια κριτική ελάττωση της στεφανιαίας αιματικής ροής. Έχει επίσης δειχτεί σε πειραματόζωα, ότι και άλλα ερεθίσματα, πλην της πλήρους ισχαιμίας, μπορούν να φέρουν το μυοκάρδιο σε κατάσταση ισχαιμικής προπόνησης. Έτσι, μια βραχεία περίοδος οξείας υπερφόρτισης όγκου που οδηγεί σε διάταση του μυοκαρδίου ²⁴, μια βραχεία περίοδος ταχείας βηματοδότησης ²⁵, η παροδική υπερθερμία ²⁶, που προηγούνται μιας παρατεταμένης περιόδου μυοκαρδιακής ισχαιμίας, έχουν δείξει να ελαττώνουν το μέγεθος του εμφράγματος, μοιραζόμενα κοινούς παθογενετικούς μηχανισμούς με την κλασική ισχαιμική προπόνηση. Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε, τη καρδιοπροστατευτική δράση των βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας μπορεί να μιμηθούν ποικίλοι φαρμακευτικοί παράγοντες, που μπορούν να παρέχουν παρόμοιο βαθμό προστασίας με την ισχαιμική προετοιμασία²⁷.

B. Διάρκεια και ένταση του ερεθίσματος της ισχαιμικής προετοιμασίας

Οι διάρκειες της περιόδου ισχαιμικής προετοιμασίας, της περιόδου επαναιμάτωσης και του παρατεταμένου επεισοδίου ισχαιμίας εμφανίζουν αρκετά αυστηρά χρονικά περιθώρια, για να προσφέρουν πλήρη προστασία καθώς όλοι οι συνδυασμοί ισχαιμίας/επαναιμάτωσης, δε μπορούν να πυροδοτήσουν την ισχαιμική προπόνηση. Έτσι, η ισχαιμική προετοιμασία μπορεί να προκληθεί από μια περίοδο ισχαιμίας διάρκειας 3-5 λεπτών, που ακολουθείται από τουλάχιστον 5 λεπτά επαναιμάτωσης⁶, καθώς βραχύτερες περιόδους ισχαιμικής προπόνησης/επαναιμάτωσης δεν έχουν δείξει να είναι καρδιοπροστατευτικές ^{28 29}.

Η ισχαιμική προπόνηση μπορεί να προκληθεί από ένα μοναδικό επεισόδιο ισχαιμίας, αλλά και επαναλαμβανόμενα βραχέα επεισόδια ισχαιμίας είναι αποτελεσματικά ³⁰. Είχε αρχικά ανακοινωθεί, ότι η ισχαιμική προπόνηση αποτελεί ένα «όλον ή ουδέν» φαινόμενο, αλλά μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι υπάρχει μια διαβαθμισμένη απάντηση, ανάλογα με την ένταση του ερεθίσματος της ισχαιμικής προστασίας. Φαίνεται μάλλον, ότι η ισχαιμική προετοιμασία ακολουθεί μια πολύ υπερβολική

καμπύλη δόσης/απάντησης και άπαξ και επιτευχθεί η μέγιστη απάντηση, περαιτέρω διέγερση δεν έχει κανένα επιπρόσθετο αποτέλεσμα, δίνοντας την εντύπωση ενός «όλου ή ουδενός» φαινομένου⁷. Είναι επίσης σημαντικό να τονιστεί, ότι η φύση του ερεθίσματος της ισχαιμικής προπόνησης (αριθμός και διάρκεια των ισχαιμικών επεισοδίων) επηρεάζει όχι μόνο το βαθμό της προστασίας, αλλά και τα εμπλεκόμενα σηματοδοτικά συστήματα³¹, όπως και το ότι πολλά επαναλαμβανόμενα ισχαιμικά ερεθίσματα μπορεί να αποβούν αναποτελεσματικά³².

Πλην όμως του αριθμού και της διάρκειας των κύκλων της ισχαιμικής προπόνησης, η διάρκεια της ενδιάμεσης επαναιμάτωσης, είναι ουσιώδους σημασίας. Η ελάχιστη διάρκεια βρίσκεται μεταξύ των 30 δευτερολέπτων και του 1 λεπτού, αλλά για να επιτευχθεί προστασία συνήθως απαιτούνται μέχρι και 60 λεπτά επαναιμάτωσης πριν το παρατεταμένο ισχαιμικό επεισόδιο· όταν η διάρκεια της επαναιμάτωσης επεκτείνεται πέραν των 2 ωρών, η αντιεμφραγματική δράση δεν είναι πλέον παρούσα και 4 ώρες μετά, η μυοκαρδιακή προστασία δεν είναι πλέον εφικτή³³. Παρόλα αυτά, όπως έχει ήδη αναφερθεί, και αποτελεί το δεύτερο παράθυρο της ισχαιμικής προετοιμασίας, αν το διάστημα μεταξύ της αρχικής και του επαναλαμβανόμενου επεισοδίου ισχαιμίας παραταθεί στις 24–72 ώρες, μπορεί να επανεμφανιστεί η προστατευτική επίδραση, αν και όχι στο ίδιο μέγεθος με αυτό που λαμβάνει χώρα στη κλασική ισχαιμική προετοιμασία³⁴.

Γ. Η μνήμη της ισχαιμικής προετοιμασίας

Ένα από τα μεγάλα μυστήρια της ισχαιμικής προετοιμασίας, που έχει αντισταθεί στην εργαστηριακή έρευνα, είναι η «μνήμη» της, το πώς δηλαδή το μυοκάρδιο «θυμάται» ότι έχει προπονηθεί ισχαιμικά. Οι Thornton και οι συν.³⁵ ανέφεραν, ότι η αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης είτε με ακτινομυκίνη D είτε με κυκλοεξαμίδη, δεν εμπόδιζε την προστασία της ισχαιμικής προετοιμασίας, ανατρέποντας την γονιδιακή έκφραση ως πιθανό μηχανισμό της ισχαιμικής μνήμης.

Το ίδιο επιβεβαίωσαν και οι Matsuyama και συν.³⁶, που πρότειναν ότι καθώς η κυκλοεξαμίδη μπλοκάρει μόνο την μετάφραση του μηνύματος, η πληροφορία της ισχαιμικής μνήμης μάλλον φέρεται ως μια αντιστρεπτή «μετα-μεταφραστική» τροποποίηση κάποιου προϋπάρχοντα γονιδίου -όπως φωσφορυλίωση ή μετάθεση- αλλά η ακριβής θέση της τροποποίησης δεν είναι γνωστή. Επίσης, καθώς φαίνεται ότι η κατάσταση της ισχαιμικής προετοιμασίας μπορεί να επιτευχθεί μέσα σε 10 λεπτά, είναι απίθανο η όποια πρωτεΐνη, να μπορεί να εκφραστεί σε τόσο σύντομο χρονικό διάστημα.

Δ. Τελικά σημεία για την εκτίμηση της επίδρασης της ισχαιμικής προετοιμασίας

Ποικίλα τελικά σημεία έχουν χρησιμοποιηθεί στην έρευνα της αποτελεσματικότητας της ισχαιμικής προετοιμασίας για τη προστασία του μυοκαρδίου.

Το μέγεθος του εμφράγματος υπήρξε το αρχικό τελικό σημείο που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της προστασίας της «κλασσικής» ισχαιμικής προετοιμασίας σε πειραματικό επίπεδο, εκφρασμένο ως ποσοστό της ζώνης σε κίνδυνο, και έχει καταδειχτεί να περιορίζεται σε κάθε είδος στο οποίο μελετήθηκε. Παρόλα αυτά, για ηθικούς λόγους, υπήρξε αδυναμία χρησιμοποίησης του ως τελικού σημείου, στον άνθρωπο³⁷.

Το κατά πόσο η ισχαιμική προετοιμασία έχει επίδραση στο απόπληκτο μυοκάρδιο, δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Το απόπληκτο μυοκάρδιο χαρακτηρίζεται από απώλεια της συσταλτικότητας που ακολουθεί μια σχεδόν θανατηφόρο ισχαιμική προσβολή, διάρκειας 15 ή λιγότερο λεπτών, και σε αντίθεση με το μυοκάρδιο που έχει υποστεί έμφραγμα, το απόπληκτο μυοκάρδιο ανακάμπτει πλήρως σε μία ως δύο ημέρες³⁸. Μεταξύ άλλων δείχτηκε, ότι η άρση της συστολικής δυσλειτουργίας του απόπληκτου μυοκαρδίου με δοβουταμίνη, δεν ελάττωσε την προστασία που παράχθηκε από την ισχαιμική προετοιμασία και η γενικότερη ως τώρα πεποίθηση είναι, ότι αν η ισχαιμική προετοιμασία έχει την όποια δράση έναντι του απόπληκτου μυοκαρδίου, αυτή πρέπει να είναι μικρή³⁹.

Η μετιστασιμική ανάνηψη της συστολικής λειτουργικότητας αποτελεί ένα κοινά χρησιμοποιημένο τελικό σημείο, καθώς το κύριο στόχο της μυοκαρδιακής διάσωσης αποτελεί η βελτίωση της κοιλιακής λειτουργίας. Οι Cohen και συν.⁴⁰ μελέτησαν την κοιλιακή τοιχωματική κινητικότητα σε κουνέλια που είχαν υποβληθεί σε περιοχική ισχαιμία/επαναιμάτωση και έδειξαν, ότι η ισχαιμική προετοιμασία οδήγησε τόσο στην ελάττωση του μεγέθους του εμφράγματος, όσο και στη βελτίωση της τοιχωματικής κινητικότητας στη ζώνη της ισχαιμίας · χρειάστηκε βέβαια τουλάχιστον μία ημέρα για να υποχωρήσει η μυοκαρδιακή αποπληξία, πριν το όφελος μπορέσει να εκτιμηθεί. Στον άνθρωπο δείχτηκε ότι η προεμφραγματική στηθάγχη συνοδεύτηκε, μεταξύ άλλων, από βελτίωση της μετιστασιμικής ανάνηψης της συστολικής λειτουργίας, μετά από τη θρομβόλυση⁴¹.

Όσον αφορά την επίδραση της ισχαιμικής προπόνησης στην επίπτωση των κοιλιακών αρρυθμιών, μελέτες σε ζώα έδειξαν διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς σε άλλα είδη καταδείχτηκε μια ελάττωση των αρρυθμιών, ενώ σε άλλα υπήρχε είτε μικρή επίδραση, είτε επιδείνωση των αρρυθμιών^{42 43}. Στον άνθρωπο, σε μελέτη των Wu και συν.⁴⁴ που εξέτασαν την επίδραση ενός πρωτοκόλλου ισχαιμικής προετοιμασίας στις μετεγχειρητικές αρρυθμίες σε ασθενείς με νόσο 3 αγγείων που υποβλήθηκαν σε επέμβαση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, ανακοινώθηκε σημαντική ελάττωση της κοιλιακής ταχυκαρδίας και κοιλιακής μαρμαρυγής μετά την επέμβαση. Οι Edwards και συν.⁴⁵, που εξέτασαν την αντιαρρυθμική και αντιστασιμική δράση της στηθάγχης σε 40 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε 3 διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης και σε 28 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε δύο διαδοχικές ενδοστεφανιαίες αποφράξεις με μπαλόνι, ανακοίνωσαν σημαντική μείωση της κοιλιακής έκτοπης δραστηριότητας μετά τη δεύτερη δοκιμασία κόπωσης και της κοιλιακής ταχυκαρδίας μετά τη δεύτερη στεφανιαία απόφραξη. Επίσης, οι Gheeraert και συν.⁴⁶, που εξέτασαν την επίδραση της προεμφραγματικής στηθάγχης στην, μετά τη νοσηλεία στο νοσοκομείο, επίπτωση της κοιλιακής ταχυκαρδίας, έδειξαν σημαντική ελάττωση της.

Ένα άλλο τελικό σημείο που έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της ισχαιμικής προετοιμασίας, είναι οι ηλεκτροκαρδιογραφικές μεταβολές. Οι Gribier και συν.⁴⁷ έδειξαν, ότι οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αγγειοπλαστική των στεφανιαίων αρτηριών, εμφάνισαν μικρότερη ανάρσταση του ST

διαστήματος, κατά τη δεύτερη στεφανιαία απόφραξη από ότι στη πρώτη. Παρόλα αυτά, είναι αμφισβητήσιμο το εάν οι μεταβολές του ST διαστήματος αποτελούν αξιόπιστο τελικό σημείο, καθώς φαίνεται ότι επηρεάζονται από τους διαύλους K^+_{ATP} του σαρκελήμματος, ενώ η προστασία απέναντι στην ισχαιμία φαίνεται ότι διαμεσολαβείται κυρίως από τους μιτοχονδριακούς διαύλους K^+_{ATP} ⁴⁸. Επίσης, το φαινόμενο της στηθάγχης προθέρμανσης, συνοδεύεται από αντικειμενικές μετρήσεις βελτίωσης της ισχαιμίας σε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, όπου οι ασθενείς εμφάνιζαν μικρότερη κατάσπαση του ST διαστήματος, σε παρόμοια φόρτιση έργου, στη δεύτερη από τις δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, που πραγματοποιούνται μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα η μία από την άλλη⁴⁹.

Επίσης, τόσο στις μελέτες της ισχαιμικής προετοιμασίας στη στεφανιαία αγγειοπλαστική, όσο και στη στηθάγχη προθέρμανσης, ο χρόνος εμφάνισης της στηθάγχης και η διάρκεια της αποτελούν ένα από τα χρησιμοποιούμενα τελικά σημεία, καθώς έχουν δείξει να επηρεάζονται σημαντικά από την επίδραση της ισχαιμικής προετοιμασίας⁵⁰.

Τέλος, η μέτρηση της συνολικής μυοκαρδιακής περιεκτικότητας σε ATP χρησιμοποιήθηκε ως τελικό σημείο σε μελέτες αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, αλλά δεν είναι ευρέως αποδεκτή ως ευαίσθητος δείκτης της κυτταρικής βιωσιμότητας⁵¹. Σήμερα είναι διαθέσιμοι πιο ευαίσθητοι και ειδικοί δείκτες της μυοκαρδιακής νέκρωσης, και το ενδιαφέρον έχει στραφεί προς τη μέτρηση των επιπέδων της τροπονίνης T του ορού⁵².

Παρόλα αυτά, αν και όλοι οι παραπάνω δείκτες της μυοκαρδιακής βλάβης, έχουν χρησιμοποιηθεί για την υποστήριξη της υπόθεσης της ισχαιμικής προετοιμασίας στο ανθρώπινο μυοκάρδιο ή για την απόδειξη της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας των φαρμακολογικών μιμητών της, δεν αποτελούν με κανένα τρόπο υποκατάστατα των σκληρών τελικών σημείων της κλινικής έκβασης και φαίνεται, ότι μόνο με την άμεση απόδειξη της κλινικής βελτίωσης, η ισχαιμική και η φαρμακολογική προετοιμασία θα αποτελέσουν μια κλινική πραγματικότητα.

III.ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΚΛΑΣΙΚΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ

Στους μηχανισμούς και το σηματοδοτικό καταρράκτη της ισχαιμική προετοιμασίας, υπάρχουν ουσίες που πυροδοτούν, ουσίες που διαμεσολαβούν και οι τελικοί εκτελεστές της ισχαιμικής προπόνησης.

Γνωρίζουμε σήμερα ότι διάφορες σηματοδοτικές οδοί μεταφέρουν το μήνυμα της προστασίας, και πιθανώς τερματίζουν σε ένα ή περισσότερους τελικούς εκτελεστές. Οι ουσίες που πυροδοτούν την προστασία απελευθερώνονται κατά τη βραχεία περίοδο της ισχαιμικής προετοιμασίας και ασκούν τη δράση τους μόνο κατά τη περίοδο αυτή, ενεργοποιούν τους διαμεσολαβητές, που τελικά συγκλίνουν στους τελικούς εκτελεστές, οι οποίοι δρουν αποκλειστικά κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης περιόδου ισχαιμίας ή/και της περιόδου επαναιμάτωσης. Κάπου στη σηματοδοτική οδό, ανάμεσα στο πυροδοτικό σήμα και στους τελικούς εκτελεστές υπάρχει η «μνήμη», που διατηρεί το μυοκάρδιο σε κατάσταση ισχαιμικής προετοιμασίας.

A. Ουσίες που πυροδοτούν την ισχαιμική προετοιμασία

Γνωρίζουμε σήμερα ότι οποιοσδήποτε υποδοχέας συζευγμένος με την πρωτεΐνη Gi, μπορεί να πυροδοτήσει την ισχαιμική προετοιμασία. Κατά τη διάρκεια της βραχείας περιόδου ισχαιμίας απελευθερώνονται αδενοσίνη, βραδυκίνη, νορεπινεφρίνη, οπιοειδή και η κατάληψη των αντίστοιχων υποδοχέων τους διεγείρει την ισχαιμική προετοιμασία, μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης Gi· πολλαπλοί υποδοχείς δε, ενεργούν παράλληλα, για να παρέχουν ικανή προστασία στο ερέθισμα της ισχαιμικής προετοιμασίας.

1. Αδενοσίνη

Η πρώτη αναγνωρισμένη, και πιθανώς πιο σημαντική ουσία, που πυροδοτεί την ισχαιμική προετοιμασία, είναι το ενδογενές νουκλεοτίδιο, αδενοσίνη. Μετά την έναρξη

της ισχαιμίας, η αδενοσίνη απελευθερώνεται τάχιστα στον ενδιάμεσο χώρο από τη διάσπαση του ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη) και δρα στους υποδοχείς της στα καρδιακά μυοκύτταρα, των οποίων η πυκνότητα αυξάνει κατά την ισχαιμία. Κατά τη διάρκεια της μυοκαρδιακής υποαιμάτωσης αυξάνει την μεταφορά οξυγόνου, μέσω της διάτασης των αγγείων αντιστάσεως και ελαττώνει την ινοτροπία, μειώνοντας έτσι τις μυοκαρδιακές ανάγκες σε οξυγόνο.

Το 1991, οι Downey και συν.⁵³ ανακάλυψαν ότι οι A_1 υποδοχείς της είναι αυτοί που έχουν σημασία για την ισχαιμική προετοιμασία και κατέδειξαν ότι η ενδοφλέβια χορήγηση ενός εκλεκτικού αγωνιστή των A_1 υποδοχέων προσφέρει παρόμοια προστασία με αυτή της ισχαιμικής προετοιμασίας, ενώ αντίθετα ο αποκλεισμός των A_1 υποδοχέων, αποδυναμώνει την προστασία της ισχαιμικής προετοιμασίας. Τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν και στο ανθρώπινο μυοκάρδιο, *in vitro* και *in vivo*, ενώ δείχτηκε ότι και η διέγερση των A_3 υποδοχέων της αδενοσίνης συμμετέχει στην ισχαιμική προετοιμασία⁵⁴. Ως ουσία που πυροδοτεί την ισχαιμική προετοιμασία, η χορήγηση εξωγενούς αδενοσίνης θα πρέπει να γίνεται πριν από το επεισόδιο της ισχαιμίας, καθώς όταν χορηγείται κατά τη διάρκεια του, φαίνεται ότι είναι μερικώς προστατευτική.

2. Βραδυκινίνη

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι κατά τη διάρκεια βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας, τα επίπεδα της βραδυκινίνης αυξάνονται σημαντικά⁵⁵. Τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα αποτελούν την πρωταρχική πηγή της βραδυκινίνης στο μυοκάρδιο, αλλά έχει προταθεί ότι και τα ισχαιμικά μυοκύτταρα μπορούν να συνθέτουν κινίνες⁵⁶.

Η ενζυματική διάσπαση της προκαλκικρεΐνης, μέσω της ενεργοποίησης της από τον παράγοντα XII, δημιουργεί την καλκικρεΐνη στην επιφάνεια του ενδοθηλιακού κυττάρου. Στη συνέχεια, τα κυκλοφορόντα κινογόνα διασπώνται από την καλκικρεΐνη με αποτέλεσμα την παραγωγή της βραδυκινίνης.

Οι κιννάσες είναι τα ένζυμα που διασπών τη βραδυκινίνη και το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης (MEA) θεωρείται το σημαντικότερο αυτών, καθώς διαθέτει πολύ υψηλότερη συγγένεια προς τη βραδυκινίνη από ότι στην αγγειοτασίνη I.

έτσι μπορεί να θεωρείται περισσότερο σαν κινινάση, παρά σαν αγγειοτασινάση ⁵⁷. Η δράση των κινινών διαμεσολαβείται μέσω δύο υποτύπων υποδοχέων, αλλά σημαντικότεροι είναι συνήθως οι B₂ υποδοχείς, που ανήκουν στους, με τη πρωτεΐνη Gi, συζευγμένους υποδοχείς ⁵⁸.

Οι Schoelkens και συν. ⁵⁹ ήταν οι πρώτοι που ανακοίνωσαν τις καρδιοπροστατευτικές δράσεις της βραδυκινίνης, καταδεικνύοντας σε πειραματική τους μελέτη, ελάττωση της απελευθέρωσης των δεικτών της μυοκαρδιακής βλάβης, ελάττωση των αρρυθμιών της ισχαιμίας/επαναιμάτωσης και καλύτερη ανάνηψη της μετσχαιμικής λειτουργικότητας και της στεφανιαίας ροής μετά από ενδοστεφανιαία χορήγηση βραδυκινίνης. Η δυνατότητα της εξωγενώς χορηγούμενης βραδυκινίνης να μιμείται την ισχαιμική προετοιμασία, επιβεβαιώθηκε από μελέτες σε ποικίλα πειραματικά μοντέλα ⁶⁰, αλλά και στον άνθρωπο, όπου όταν χορηγήθηκε σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε διαδοχικές διαστολές του μπαλονιού σε μελέτες στεφανιαίας αγγειοπλαστικής, παρατηρήθηκε ελάττωση της μετατόπισης του ST διαστήματος ⁶¹.

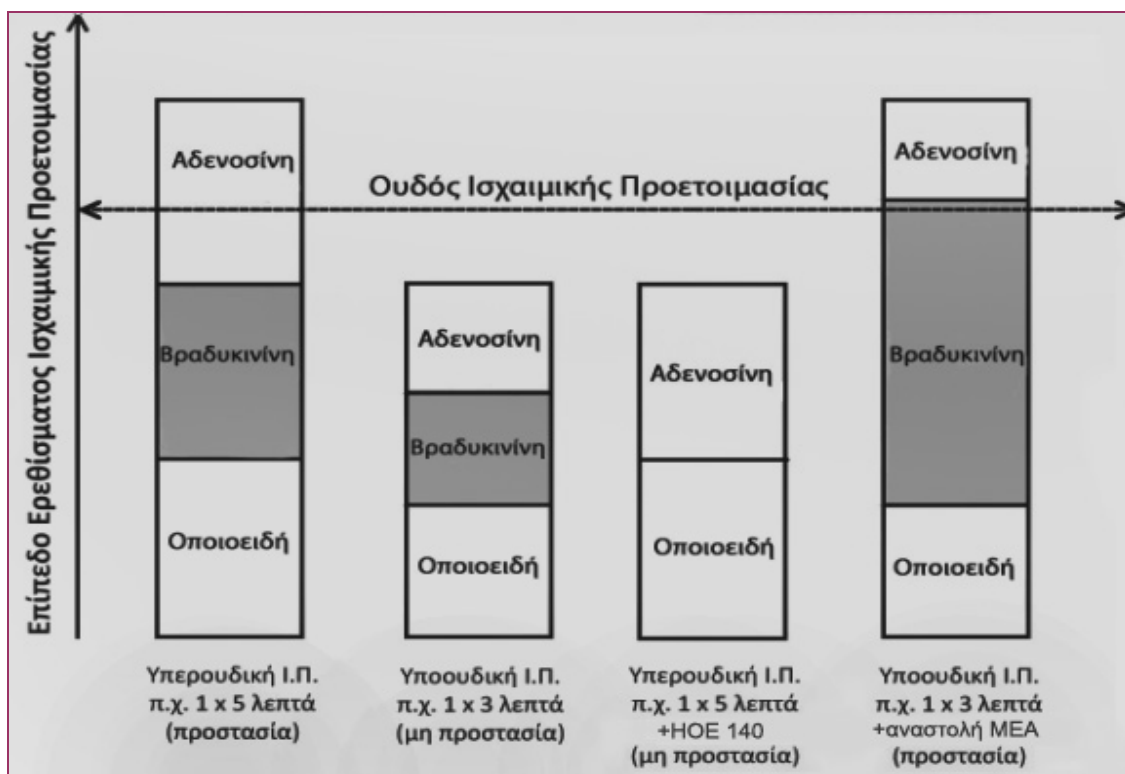
Αργότερα, ένας αριθμός μελετών κατέδειξε τον σημαντικό ρόλο της ενδογενούς βραδυκινίνης στην ισχαιμική προπόνηση, καθώς δείχτηκε σε πειραματικό επίπεδο, σε μοντέλο διαδοχικών στεφανιαίων αποφράξεων σε σκύλους και κουνέλια, ότι η ικατιμπάνη, ένας ανταγωνιστής των B₂ υποδοχέων της βραδυκινίνης, ανέστειλε την αντιεμφραγματική και αντιαρρυθμική προστατευτική δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας ⁶². Οι Yang και συν. ⁶³ έδειξαν επίσης, σε ποντικούς στους οποίους είχαν αδρανοποιηθεί οι B₂ υποδοχείς της βραδυκινίνης αλλά και σε ποντικούς που είχαν ανεπάρκεια του υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνου, ότι η ισχαιμική προετοιμασία δεν προσέφερε προστασία.

Μια σημαντική παρατήρηση που έγινε από τους Goto και συν. ⁶⁴ ήταν η παράλληλη δράση των πυροδοτικών ουσιών στην ισχαιμική προετοιμασία, αλλά και η δοσοεξαρτώμενη δράση της βραδυκινίνης. Καταδείχτηκε ότι, εάν εφαρμόζονταν σε ανοικτή καρδιά κουνελιών 3 κύκλοι ισχαιμίας/επαναιμάτωσης για τη πρόκληση ισχαιμικής προπόνησης, η χορήγηση ικατιμπάνης δεν απέκλειε την προστασία. Αντίθετα, εάν εφαρμοζόταν μόνο ένας κύκλος 5 λεπτών ισχαιμίας /επαναιμάτωσης, η προστασία καταργούταν μετά τη χορήγηση ικατιμπάνης. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι πρέπει να επιτευχθεί ένας «ουδός», ώστε να λάβει χώρα η πλήρης προστατευτική

απάντηση της ισχαιμικής προετοιμασίας. Ένας αριθμός αυτοκρινών και παρακρινών ουσιών, συμπεριλαμβανομένης της αδενοσίνης, της βραδυκινίνης, των οπιοειδών δρα συντονισμένα για την πρόκληση της καρδιοπροστατευτικής δράσης της ισχαιμικής προετοιμασίας και υπάρχει αρκετός πλεονασμός στο σύστημα, που επιτρέπει την καρδιοπροστασία από άλλες ουσίες, όταν μια μεμονωμένη ουσία που πυροδοτεί την ισχαιμική προπόνηση αποκλείεται. Προτάθηκε έτσι, ότι όταν εφαρμόζεται μόνο ένας κύκλος ισχαιμίας/επαναιμάτωσης, η βραδυκινίνη παίζει το πρωταρχικό ρόλο, αφού ο αποκλεισμός των B₂ υποδοχέων καταργεί τη προστασία Εντούτοις, όταν εφαρμοστούν τρεις κύκλοι, άλλες ουσίες που πυροδοτούν την ισχαιμική προετοιμασία δημιουργούνται σε ικανοποιητική ποσότητα, έτσι ώστε ο «ουδός» επιτυγχάνεται, ακόμη και παρουσία του ανταγωνιστή των B₂ υποδοχέων της βραδυκινίνης. Ο αποκλεισμός εξάλλου, ενός τύπου υποδοχέα αυξάνει μόνο τον ισχαιμικό ουδό για την πυροδότηση της προστασίας, παρά την αποκλείει πλήρως. Παρουσία δε, παρεμβάσεων που ενδυναμώνουν την πυροδότηση της ισχαιμικής προετοιμασίας, όπως της χορήγησης αναστολέων του MEA, που αυξάνουν τα επίπεδα της ενδογενούς βραδυκινίνης - μέσω αναστολής της διάσπασης της - ή παραγόντων που αυξάνουν τα επίπεδα της αδενοσίνης, ένα υπο-ουδικό ερέθισμα, είναι ικανό να προπονήσει ισχαιμικά το μυοκάρδιο (**Εικόνα 3**)⁷.

3. Οπιοειδή

Για το ρόλο των ενδογενών οπιοειδών στην ισχαιμική προετοιμασία, υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν το σημαντικό ρόλο των εγκεφαλινών και πιθανώς των δυνορφινών στη καρδιοπροστασία, καθώς η μυοκαρδιακή ισχαιμία έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση τόσο μετ- και λευ-εγκεφαλίνης, όσο και δυνορφινών. Τρεις τύποι υποδοχέων των οπιοειδών έχουν κλωνοποιηθεί, οι μ, κ και δ, αλλά τα έως τώρα δεδομένα υποστηρίζουν την σημασία των υποδοχέων τύπου δ για την ισχαιμική προετοιμασία, με το ρόλο των κ και μ υποδοχέων να αναμένεται να διευκρινιστεί⁶⁵. Έτσι καταδείχτηκε, ότι η χορήγηση μορφίνης προ της περιόδου επαναιμάτωσης αλλά και αγωνιστών των δ υποδοχέων προ και μετά την επαναιμάτωση, υπήρξε καρδιοπροστατευτική σε ποντικούς, αλλά και στο ανθρώπινο μυοκάρδιο, ελαττώνοντας το μέγεθος του εμφράγματος⁶⁶.



Εικόνα 3. Αρχικά τα 5 λεπτά ισχαιμίας επιτυγχάνουν τον ουδό για την προστασία, όχι όμως και τα 3 λεπτά. Κατόπιν, ο αποκλεισμός των B₂ υποδοχέων της βραδυκινίνης από το HOE 140, οδηγεί στο να μην είναι προστατευτική η 5-λεπτη περίοδος ισχαιμίας, καθώς δε μπορεί να αγγίξει τον ουδό της προστασίας. Αντίθετα, αυξάνοντας την συμβολή της βραδυκινίνης με ένα αναστολέα του MEA, που αναστέλλει την αποδόμηση της βραδυκινίνης, επιτρέπεται στην 3-λεπτη περίοδο ισχαιμίας να φτάσει τον ουδό πρόκλησης της προστασίας. (Ι.Π.Ισχαιμική Προετοιμασία)

Τα καρδιακά μυοκύτταρα εκφράζουν επίσης και άλλους συνδεδεμένους με τη πρωτεΐνη Gi υποδοχείς, όπως της αγγειοτασίνης AT₁ και της ενδοθηλίνης ET₁, και μουσκαρινικούς υποδοχείς και υποδοχείς των προσταγλανδινών, αλλά τα ως τώρα δεδομένα δεν υποστηρίζουν το σημαντικό ρόλο τους στην ισχαιμική προετοιμασία⁶⁷.

4. Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορεί να πυροδοτήσουν την ισχαιμική προετοιμασία, καθώς δείχτηκε ότι η χορήγηση εκκαθαριστών των ελευθέρων ριζών αυξάνει τον ουδό πρόκλησης της, ενώ η χορήγηση ουσιών που απελευθερώνουν ελεύθερες ρίζες μπορεί να την πυροδοτήσει ⁶⁸ - αν και το τελευταίο φαίνεται παράδοξο, καθώς οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου θεωρούνται ότι συμμετέχουν στη βλάβη της ισχαιμίας/επαναιμάτωσης – («παράδοξο των ελευθέρων ριζών»). Θεωρείται ότι οι ελεύθερες ρίζες δρουν σαν ουσίες που πυροδοτούν τη προστασία κατά τη περίοδο της ισχαιμικής προετοιμασίας, ενώ κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης ισχαιμίας και της μετέπειτα επαναιμάτωσης, συμμετέχουν στη βλάβη · ο μηχανισμός με τον οποίο συμμετέχουν στη προστασία δεν είναι απολύτως ξεκαθαρισμένος, αλλά φαίνεται ότι μπορούν να ενεργοποιήσουν το σύστημα των πρωτεϊνών G ⁶⁹ (βλέπε Μιτοχονδριακός Πόρος Διαπερατότητας).

5. Ασβέστιο και Οξειδίο του Αζώτου

Μια παροδική, βραχείας διάρκειας άνοδος των επιπέδων του ασβεστίου κατά τη περίοδο της ισχαιμίας, μπορεί να θέσει το μυοκάρδιο σε κατάσταση ισχαιμικής προετοιμασίας ⁷⁰, που φαίνεται ότι εξαρτάται από τη πρωτεϊνική κινάση C(PKC). Ο ρόλος του ασβεστίου βέβαια δεν είναι ξεκαθαρισμένος, καθώς δείχτηκε ότι ο αποκλεισμός των διαύλων ασβεστίου τύπου-1 προλαμβάνει την ισχαιμική προετοιμασία στο ανθρώπινο μυοκάρδιο ⁷¹, ενώ δεν παρατηρήθηκε ανάλογη επίδραση μετά τη χορήγηση του ανταγωνιστή ασβεστίου νισολδιπίνη ⁷².

Αν και έχει καταδειχτεί ότι το οξειδίο του αζώτου (NO) παίζει σημαντικό ρόλο στο δεύτερο παράθυρο της ισχαιμικής προετοιμασίας, ο ρόλος του στη κλασσική ισχαιμική προπόνηση είναι περιορισμένος, αν όχι αμφιλεγόμενος ^{73 74}. Η εξωγενής χορήγηση δοτών NO πριν από την ισχαιμία μπορεί να ελαττώσει το μέγεθος του εμφράγματος, αλλά το ενδογενές NO δεν εμπλέκεται στην κλασσική ισχαιμική προπόνηση ⁷⁵ · φαίνεται ότι το NO ελαττώνει τον ουδό της προστασίας, αν και δεν αποτελεί από μόνο του ουσία που πυροδοτεί την κλασσική ισχαιμική προπόνηση ⁷⁶.

B. Διαμεσολαβητές - σηματοδοτικά συστήματα της ισχαιμικής προετοιμασίας

1. Πρωτεϊνική κινάση C(PKC)

Ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχουν καταδείξει το σημαντικό ρόλο της PKC στην ισχαιμική προετοιμασία ⁷⁷. Η PKC είναι μια σερίνη/θρεονίνη κινάση που ενεργοποιείται από λιπιδικούς συμπαράγοντες, που παράγονται μέσω της διάσπασης λιπιδίων της μεμβράνης από τη φωσφολιπάση C (PLC).

Η κατάληψη των υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης από τους αγωνιστές τους που απελευθερώνονται κατά την ισχαιμία και η επακόλουθη ενεργοποίηση της πρωτεΐνης Gi, οδηγεί στη σύνδεση της με τη PLC και τη φωσφολιπάση D (PLD) και στην ενεργοποίησή τους. Η ενεργοποίηση της PLC καταλύει την υδρόλυση της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PIP₂), η οποία αποτελεί τμήμα των φωσφολιπιδικού συστήματος της μεμβράνης, σε δύο δεύτερους αγγελιοφόρους την τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP₃) και την 1,2 διακυλογλυκερόλη (DAG). Η PLD, μέσω της διάσπασης άλλων φωσφολιπιδίων της μεμβράνης, καταλήγει επίσης στη παραγωγή DAG. Η IP₃ ελευθερώνει Ca⁺⁺ από το σαρκοπλασματικό δίκτυο, που προάγει τη μετατόπιση της PKC από τη κυτοσόλη στο σαρκείλημα. Αφού μετατοπιστεί στο σαρκείλημα, η PKC ενεργοποιείται από τη DAG, που παραμένει συνδεδεμένη με τη μεμβράνη ⁷⁸.

Υπάρχουν διάφορες ισομορφές της PKC που συνδέονται με ειδικούς υποδοχείς για την ενεργοποιημένη PKC (RACK, receptor for activated C kinase) και οι οποίοι βρίσκονται τοποθετημένοι σε ειδικά οργανίλλια μέσα στο κύτταρο· η δέσμευση της PKC με τους υποδοχείς RACK ολοκληρώνει την ενεργοποίησή της και μπορεί έτσι, να φωσφορυλιώσει κάθε γειτονικό της πρωτεϊνικό υπόστρωμα. Από όλες τις ισομορφές της PKC που έχουν μελετηθεί, φαίνεται ότι οι ε, δ ⁷⁹ και α ισομορφές μπορούν να συμμετέχουν στην προστασία, αλλά τα έως τώρα δεδομένα υποστηρίζουν μόνο το ρόλο της εPKC στην ισχαιμική προετοιμασία ⁸⁰.

Παρόλα αυτά, μελέτες σε πειραματόζωα προκάλεσαν κάποιες αμφιβολίες για τη σημασία της PKC στην προστασία, καθώς η χορήγηση αναστολέων της PKC δεν απέκλεισε πάντα την προστασία, αλλά μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι σε μερικά είδη ζώων, υπάρχει ένα σηματοδοτικό σύστημα για την ισχαιμική προετοιμασία

που περιλαμβάνει τουλάχιστον μια τυροσινική κινάση, που δρα παράλληλα με τη PKC και έτσι, απαιτείται αποκλεισμός και των δύο οδών για να ανασταλεί η ισχαιμική προπόνηση⁸¹. Φαίνεται δε, ότι η PKC δρα κυρίως σαν μεσολαβητής παρά σαν ουσία που πυροδοτεί την προστασία, καθώς η χορήγηση σταυροσπορίνης, ενός ειδικού αναστολέα της PKC, κατά τη διάρκεια του παρατεταμένου επεισοδίου ισχαιμίας, κατήργησε πλήρως την ισχαιμική προετοιμασία, ενώ καταδείχτηκε ότι παρά τη χορήγηση σταυροσπορίνης κατά τη περίοδο της ισχαιμικής προετοιμασίας και τη πλήρη αναστολή της δραστηριότητας της PKC, το μυοκάρδιο μπορούσε να προπονηθεί ισχαιμικά⁸².

Όπως αναφέρθηκε ήδη, ένα από τα μεγαλύτερα μυστήρια της ισχαιμικής προετοιμασίας, είναι η μνήμη της. Η πιο πιθανή εξήγηση σε ένα σύστημα που περιλαμβάνει κινάσες θα ήταν η φωσφορυλίωση μιας κριτικής ουσίας, που όσο παραμένει φωσφορυλιωμένη, το μυοκάρδιο βρίσκεται σε κατάσταση ισχαιμικής προετοιμασίας. Η παραμονή όμως της ισχαιμικής προετοιμασίας παρά την αναστολή της φωσφορυλίωσης από τη σταυροσπορίνη στη προηγούμενη μελέτη, αμφισβητεί την υπόθεση της φωσφορυλίωσης. Μια θεωρία που θα μπορούσε να βοηθήσει στην εξήγηση της μνήμης είναι η *υπόθεση της μετατόπισης της PKC*. Όπως αναφέρθηκε, η ενεργοποίηση της PKC απαιτεί τη μετατόπιση της στο σαρκείλημα και σε κυτταροσκελετικές δομές. Οι Liu και οι συν.⁸³ πρότειναν, ότι η μετακίνηση της PKC εξηγεί την χρονική ανακολουθία μεταξύ της διέγερσης των υποδοχέων και της ενεργοποίησης της PKC και είναι αυτή που μπορεί να αντιπροσωπεύει την μνήμη της ισχαιμικής προετοιμασίας. Πρότειναν ότι αγωνιστές που απελευθερώνονται κατά τη φάση της ισχαιμικής προετοιμασίας μπορούν να επάγουν την βραδεία μετακίνηση της PKC στη θέση-στόχο · με την εισαγωγή του παρατεταμένου επεισοδίου ισχαιμίας η PKC μπορεί τάχιστα να επανενεργοποιηθεί προστατεύοντας το κύτταρο. Συνεπώς, όσο διαρκεί η μετατόπιση της PKC, η καρδιά βρίσκεται σε κατάσταση ισχαιμικής προετοιμασίας και μόνο όταν η κινάση επιστρέφει στη κυτοσόλη, χάνεται η προστασία.

Τα δεδομένα που υποστηρίζουν την υπόθεση της μετακίνησης είναι αμφιλεγόμενα, και τα πιο πειστικά από αυτά που υποστηρίζουν την υπόθεση ανακοινώθηκαν από τον Ping και συν.⁸⁴, που έδειξαν εκλεκτική μετακίνηση της ePKC στο σαρκείλημα.

Το κατά πόσο το όλο συμβάν δεν αποτελεί επιφανόμενο δεν έχει ακόμη διασαφηνιστεί, καθώς η διάρκεια της μετατόπισης θα πρέπει να συσχετίζεται με το παράθυρο της προστασίας · η κινάση επιστρέφει σχετικά γρήγορα στη κυτοσόλη, αλλά οι Wilson και συν.⁸⁵ ανακοίνωσαν μετατόπιση της PKC-ε που διήρκησε μέχρι και 4 ώρες.

2. 5-Νουκλεοτιδάση

Μια ελκυστική θεωρία για το μηχανισμό της ισχαιμικής προετοιμασίας βασίζεται στην ενεργοποίηση της 5-νουκλεοτιδάσης. Το ένζυμο αυτό καταλύει την αποφωσφορυλίωση της AMP (5-μονοφωσφορική αδενοσίνη) σε αδενοσίνη. Κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας, όταν στα μυοκαρδιακά κύτταρα εξαντληθούν τα αποθέματα υψηλής ενέργειας, το ATP μεταβολίζεται σε AMP και κατόπιν το ποσό της παραγόμενης αδενοσίνης ελέγχεται από την 5-νουκλεοτιδάση.

Οι Kitakaze και συν.⁸⁶ πρότειναν ότι η PKC ενεργοποιεί τη 5-νουκλεοτιδάση, η οποία απελευθερώνει αδενοσίνη που στη συνέχεια προστατεύει το μυοκάρδιο· έδειξαν ότι το μυοκάρδιο που έχει προπονηθεί ισχαιμικά, παράγει περισσότερη αδενοσίνη και ότι για όσο χρονικό διάστημα η 5-νουκλεοτιδάση είναι ενεργοποιημένη, το μυοκάρδιο βρίσκεται σε κατάσταση προστασίας.

Παρόλα αυτά, η θεωρία αμφισβητήθηκε, καθώς δείχτηκε ξεκάθαρα ότι ο ρόλος της αδενοσίνης βρίσκεται ένα στάδιο πριν από αυτό της ενεργοποίησης της PKC· όταν απομονωμένο μυοκάρδιο εκτέθηκε σε συνδυασμό PMA (ενεργοποιητή τη PKC) και SPT (αποκλειστή των υποδοχέων της αδενοσίνης) ή σε συνδυασμό χελερυθρίνης (ανταγωνιστή της PKC) και rPIA (εκλεκτικό αγωνιστή των υποδοχέων A₁ της αδενοσίνης), ο συνδυασμός χελερυθρίνης και rPIA απέκλεισε εντελώς τη προστασία, ενώ αντίθετα με το συνδυασμό PMA και SPT η προστασία διατηρήθηκε ⁸⁷. Φαίνεται ότι, η PKC αυξάνει τη δραστηριότητα της 5-νουκλεοτιδάσης, η οποία δρα μάλλον μέσω μηχανισμού θετικής ανατροφοδότησης, παράγοντας περισσότερη αδενοσίνη, που ενισχύει το σήμα για την ισχαιμική προετοιμασία.

3. Κινάσες της τυροσίνης

Οι κινάσες της τυροσίνης, που φωσφορυλιώνουν πρωτεΐνες στο τυροσινικό τους άκρο, αποτέλεσαν το αντικείμενο έρευνας, αναφορικά με το ρόλο τους στη σηματοδοτική οδό της ισχαιμικής προετοιμασίας, μετά την ενεργοποίηση της PKC.

Ο Maulik και συν.⁸⁸ έδειξαν ότι η χορήγηση γενιστεΐνης, ενός αναστολέα των κινασών της τυροσίνης, απέκλεισε την ισχαιμική προετοιμασία και πρότειναν ότι, τουλάχιστον μια τυροσινική κινάση εμπλέκεται στην όλη σηματοδοτική οδό.

Υπάρχουν δύο μεγάλες ομάδες των κινασών της τυροσίνης : οι κινάσες της τυροσίνης των υποδοχέων και αυτές του κυτταροπλασματικού υγρού. Οι των υποδοχέων μπορεί να διεγείρουν τη φωσφολιπάση D, η οποία κατόπιν μπορεί να ενεργοποιήσει την PKC, αλλά γενικώς φαίνεται ότι οι κινάσες της τυροσίνης που εμπλέκονται στην ισχαιμική προετοιμασία, βρίσκονται ένα στάδιο μετά ή δρουν παράλληλα με την PKC⁸⁹. Έτσι, όταν δόθηκε ένα ήπιο ερέθισμα (όπως στεφανιαία απόφραξη 5 λεπτών) για την ισχαιμική προετοιμασία, η χορήγηση ξεχωριστά είτε ενός αναστολέα της PKC είτε ενός αναστολέα της κινάσης της τυροσίνης δεν κατήργησε τη προστασία, αλλά όταν χορηγήθηκε ένα πιο ισχυρό ερέθισμα, η χορήγηση είτε του ενός είτε του άλλου αναστολέα κατήργησε τη προστασία, υποδηλώνοντας την ύπαρξη της σηματοδοτικής οδού της κινάσης της τυροσίνης, που δρα παράλληλα με αυτή της PKC και μπορεί να είναι αποτελεσματική αν ενεργοποιηθεί κατάλληλα⁹⁰.

4. MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases: πρωτεϊνικές κινάσες ενεργοποιημένες από μιτογόνα)

Μια από τις μεγαλύτερες ομάδες κινασών είναι οι MAPK, οι κυριότερες υποομάδες των οποίων που ανευρίσκονται στο μυοκαρδιακό ιστό είναι οι ERK1/2, οι JNK p46 και οι p54 και p38 MAPK.

Ο καταρράκτης των MAPK κινασών μπορεί να ενεργοποιηθεί από κινάσες της τυροσίνης των υποδοχέων, τη PLC, το σύμπλεγμα των G πρωτεϊνικών υποδοχέων. Αν και αρχικά οι MAPK είχαν ανευρεθεί να σχετίζονται στενά με τη γονιδιακή έκφραση,

οι Maulik και οι συν.⁹¹ ήταν οι πρώτοι που ανακοίνωσαν ότι οι p38 MAPK μπορεί να δράσουν προστατευτικά, ένα στάδιο μετά την ενεργοποίηση της PKC.

Όλες οι MAPK ενεργοποιούνται κατά τον ίδιο τρόπο: οι MAPK κινάσες κινάσες ενεργοποιούνται από φωσφορυλίωση και στη συνέχεια φωσφορυλιώνουν τις MEK, οι οποίες στη συνέχεια φωσφορυλιώνουν τις MAPK, οι οποίες μπορούν και φωσφορυλιώνουν τα υποστρώματα-πρωτεΐνες στις θέσεις της θρεονίνης και της τυροσίνης⁹². Είναι γνωστό, ότι οι p38 MAPK μπορούν να ενεργοποιήσουν άμεσα την MAPKAPK2 (MAPK activated protein kinase 2) η οποία στη συνέχεια φωσφορυλιώνει την χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνη της θερμοπληξίας HSP27, η οποία όταν ενεργοποιηθεί οδηγεί στο πολυμερισμό της κυτταροσκελετικής ακτίνης, που αυξάνει την αντοχή του κυτταροσκελετού⁹³.

Αν και η σχέση της PKC και των MAPK δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί, υπάρχουν δεδομένα που δεικνύουν ότι η ενεργοποίηση της PKC οδηγεί στην ενεργοποίηση των MAPK⁹⁴, ενώ παρατηρήθηκε ότι ο βαθμός της φωσφορυλίωσης της p38 MAPK είναι αυξημένος κατά την ισχαιμία, μόνο όταν το μυοκάρδιο έχει προετοιμαστεί ισχαιμικά⁹⁵. Έχει επίσης καταδειχτεί, ότι η p38 MAPK φωσφορυλιώνεται μέσα σε λίγα λεπτά ισχαιμίας, ενώ με τη παράταση της ισχαιμίας, η φωσφορυλίωση της επιστρέφει στα προ-ισχαιμικά επίπεδα, για να αυξηθεί και πάλι κατά την επαναιμάτωση.

Παρόλα αυτά, όλα τα δεδομένα δεν υποστηρίζουν το ρόλο των p38MAPK στην ισχαιμική προετοιμασία⁹⁶, ενώ σε κάποια είδη δείχτηκε ότι οι JNK είναι αυτές που έχουν σημασία για την ισχαιμική προπόνηση⁹⁷. Επίσης, δείχτηκε ότι και οι ERK μπορεί να ενεργοποιήσουν την MAPKAPK2, που οδηγεί στη φωσφορυλίωση της HSP27, αν και ο ρόλος τους στην ισχαιμική προετοιμασία παραμένει αμφιλεγόμενος.

Γ. Τελικοί εκτελεστές της ισχαιμικής προετοιμασίας

1. Οι διάλυτοι K^+ οι ευαίσθητοι στο ATP (K^+_{ATP}) και ο διττός τους ρόλος στον σηματοδοτικό καταρράκτη της ισχαιμικής προετοιμασίας

Οι Gross and Auchampach, ήταν οι πρώτοι που πρότειναν το 1992, ότι οι διάλυτοι K^+_{ATP} είναι υπεύθυνοι για την καρδιοπροστασία της ισχαιμικής προετοιμασίας ⁹⁸ και τα τελευταία 15 χρόνια, πληθώρα δεδομένων υποστηρίζει το κεντρικό ρόλο τους στην ισχαιμική προετοιμασία, είτε ως ουσίες που τη πυροδοτούν, είτε ως τελικοί εκτελεστές της.

Οι διάλυτοι αυτοί του K^+ αναστέλλονται σε φυσιολογικά επίπεδα ATP και διανοίγουν όταν τα επίπεδα του ATP πέφτουν, ενώ η λειτουργία τους ρυθμίζεται από το pH, την οξειδοαναγωγική κατάσταση, τα λιπαρά οξέα, το NO, τις πρωτεΐνες G και ποικίλα νουκλεοτίδια και συνδέτες.

Για την εξήγηση της καρδιοπροστατευτικής δράσης των διαύλων K^+_{ATP} , είχε αρχικά προταθεί, ότι είναι οι διάλυτοι K^+_{ATP} του σαρκειλήμματος που παίζουν σημαντικό ρόλο στη προσαρμογή της διάρκειας του δυναμικού ενεργείας, στη πρόληψη της υπερφόρτισης με Ca^{++} και στη ρύθμιση των κυτταρικών ενεργειακών αναγκών. Έτσι δείχτηκε, ότι η διάνοιξη των διαύλων K^+_{ATP} του σαρκειλήμματος προκαλεί βράχυνση της διάρκειας του μυοκαρδιακού δυναμικού ενεργείας, που έχει καρδιοπληγικό αποτέλεσμα, περιορίζοντας την είσοδο Ca^{++} ⁹⁹. Οι διάλυτοι αυτοί έχουν μικρό ρόλο σε φυσιολογική καρδιακή λειτουργία, αλλά γίνονται ιδιαίτερα σημαντικοί στις διαταραχές της ενεργειακής ομοιόστασης κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση.

Την εποχή αυτών των πρώιμων παρατηρήσεων, δεν είχε εκτιμηθεί ότι τα καρδιομυοκύτταρα διαθέτουν πλην των διαύλων K^+_{ATP} του σαρκειλήμματος και αυτούς των μιτοχονδρίων που έχουν διαφορετικό φαρμακολογικό προφίλ ¹⁰⁰. μετέπειτα μελέτες έδειξαν ότι είναι οι μιτοχονδριακοί διάλυτοι K^+_{ATP} που διαμεσολαβούν για την ισχαιμική προετοιμασία ¹⁰¹ και η προστασία αυτή συμβαίνει ανεξάρτητα από τη διάρκεια του δυναμικού ενεργείας · συγκεκριμένα η διάνοιξη των διαύλων K^+_{ATP} με βιμακαλίνη ή χρωμακαλίνη προκαλούσε ελάττωση του εμφράγματος του μυοκαρδίου, παρόλο που δεν είχε καμιά επίδραση στο δυναμικό ενεργείας ^{102 103}. Επιπλέον, η θεραπεία με

δοφειλίδη, αντιαρρυθμικό της κατηγορίας III, που αποτρέπει την βράχυνση του δυναμικού ενεργείας, απέτυχε να αποτρέψει τη προστασία της ισχαιμικής προστασίας¹⁰⁴, ενώ οι Armstrong και συν.¹⁰⁵ έδειξαν ότι η διάνοιξη των διαύλων K^+_{ATP} σε μεμονωμένα μυοκύτταρα που δεν παρήγαν κανένα δυναμικό ενεργείας, οδήγησε σε προστασία.

Οι Baines και συν.¹⁰⁶ έδειξαν πρώτοι ότι η διαζοξίδη (εκλεκτικός διανοίκτης των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP}) μπορεί να μειώσει το μέγεθος του εμφράγματος και ότι το 5-HD (εκλεκτικός αναστολέας των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP}) μπορούσε να αποκλείσει την αντιεμφραγματική δράση τόσο της διαζοξίδης, όσο και της ισχαιμικής προετοιμασίας, ενώ η προστασία από την ανισομυκίνη, τον ενεργοποιητή της p38 MAPK, αναστελλόταν από το 5-HD, υποδεικνύοντας ότι ο καταρράκτης των κινασών ολοκληρώνεται με τη διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} . Τα ευρήματα του επιβεβαιώθηκαν και από άλλους ερευνητές, που έδειξαν ότι οι εκλεκτικοί διανοίκτες των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} νικορανδίλη¹⁰⁷ και διαζοξίδη¹⁰⁸, παρείχαν προστασία σε μεμονωμένα κυτταρικά μοντέλα σε ισχαιμία · ο αποκλειστής μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} 5-HD ανέστειλε αυτή τη προστασία, ενώ ο εκλεκτικός αγωνιστής των επιφανειακών διαύλων K^+_{ATP} HMR1883 δεν είχε καμία επίδραση στην ισχαιμική προετοιμασία¹⁰⁹.

Θα πρέπει βέβαια να αναφερθεί, ότι όλα τα δεδομένα δεν υποστηρίζουν το ρόλο των μιτοχονδριακών K^+_{ATP} στην ισχαιμική προετοιμασία : σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη, δείχτηκε ότι ποντικοί που στερούνταν λειτουργικά διαύλους K^+_{ATP} του σαρκελήμματος, δεν μπορούσαν να προπονηθούν ισχαιμικά, παρά το γεγονός ότι οι μιτοχονδριακοί τους διάυλοι K^+_{ATP} ήταν ανέπαφοι¹¹⁰ · παρόλα αυτά, η πλειοψηφία των δεδομένων είναι υπέρ της υπόθεσης των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} .

Υπάρχουν διάφορες θεωρίες για την εξήγηση της υπόθεσης των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} στην ισχαιμική προετοιμασία:

- Η ισχαιμία/επαναιμάτωση επιβαρύνει τη μιτοχονδριακή λειτουργία μέσω μεταβολών του δυναμικού της μεμβράνης και διαταραχής της ισορροπίας των κυτοσολικών ιόντων. Έτσι, η ισχαιμία/επαναιμάτωση μπορεί να οδηγήσει σε υπερπόλωση της μεμβράνης των μιτοχονδρίων, που ευνοεί την είσοδο Ca^{++} στα μιτοχόνδρια και στην υπερφόρτιση με Ca^{++} . Οι Xu και συν.¹¹¹ κατέδειξαν, ότι η θεραπεία με διαζοξίδη σταθεροποιεί το δυναμικό της μεμβράνης των

μιτοχονδρίων μέσω αναστολής της υπερπόλωσης. Έτσι, αν και δεν έχει καμία επίδραση στο ενδοκυτταρικό Ca^{++} , η ισχαιμική προπόνηση αναστέλλει την, επαγόμενη από την ισχαιμία, άνοδο της συγκέντρωσης του Ca^{++} στα μιτοχόνδρια και στη διατήρηση της ακεραιότητάς τους, μια δράση που αποδίδεται στη διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} .

- Τα μιτοχόνδρια δημιουργούν ATP επιτρέποντας τα H^+ , να επανεισέλθουν κατά μήκος μιας ισχυρής ηλεκτροχημικής κλίσης μέσω της συσκευής F_1F_0 με τον τρόπο αυτό, το ADP φωσφορυλιώνεται σε ATP. Η διάνοιξη των διαύλων K^+_{ATP} προκαλεί την είσοδο του K^+ στα μιτοχόνδρια κατά μήκος της ευνοϊκής ηλεκτροχημικής κλίσης. Ο ανταλλάκτης K^+/H^+ στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων, επιτρέπει το K^+ που βρίσκεται εντός των μιτοχονδρίων να ανταλλάγει με το H^+ που βρίσκεται εκτός των μιτοχονδρίων. Η είσοδος H^+ οδηγεί έτσι στην ελάττωση της άσκοπης υδρόλυσης του ATP, το οποίο είναι ευνοϊκό κατά την ισχαιμία και έχει καταδειχτεί, ότι η διαζοξίδη διατηρεί κατά τον τρόπο αυτό, τη δεξαμενή των νουκλεοτιδίων της αδενοσίνης κατά την ισχαιμία¹¹². Η πρόληψη της υδρόλυσης του ATP διατηρεί τις εξαρτώμενες από το ATP αντλίες ιόντων, όπως την αντλία Na^+/K^+ και την αντλία Ca^{++} και κατά συνέπεια, συμβάλλει στη διατήρηση της ομοιόστασης του Ca^{++} .
- Το K^+ που εισέρχεται στα μιτοχόνδρια μετά τη διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} είναι οσμωτικά ενεργό, προκαλώντας αύξηση του όγκου της ενδομιτοχονδριακής ουσίας και οίδημα των μιτοχονδρίων. Πιο πρόσφατες μελέτες των Garlid και συν.¹¹³, πρότειναν ότι οι αναφερόμενες μεταβολές στο δυναμικό της μεμβράνης των μιτοχονδρίων και στη συσσώρευση Ca^{++} , αποτελούν απλά ένα «επιφαινόμενο», που παράγεται από τις υψηλές συγκεντρώσεις των διανοικτών των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} και πρότειναν ότι η μόνη επίδραση της διάνοιξης των διαύλων K^+_{ATP} , είναι η ρύθμιση του όγκου των μιτοχονδρίων. Ο μιτοχονδριακός όγκος ρυθμίζει την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και διατηρεί την αρχιτεκτονική του διαμεμβρανικού χώρου, επιτρέποντας την ενεργειακή μεταφορά μεταξύ των μιτοχονδρίων και των κυτταρικών ATPασών. Οι Garlid και συν.¹¹⁴ πρότειναν, ότι το οίδημα των μιτοχονδρίων προκαλεί συντήρηση της λειτουργικής σύζευξης μεταξύ της

μιτοχονδριακής κινάσης της κρεατίνης και της τρανσλοκάσης της νουκλεοτιδικής αδενοσίνης στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων, μέσω του οποίου το ADP εισέρχεται στο διαμεμβρανικό χώρο. Η παράθεση αυτή, κρατάει αποτελεσματικά το ADP έξω από το διαμεμβρανικό χώρο και ωθεί τα μιτοχόνδρια να φωσφορυλιώνουν μόνο την κρεατίνη, το οποίο αποτελεί το πιο αποτελεσματικό τρόπο μεταφοράς ενέργειας στο κυτταρόπλασμα .

Τα παραπάνω στοιχεία υποστηρίζουν την συμμετοχή των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} στην ισχαιμική προετοιμασία, αλλά αν και η διάνοιξη αυτών φαίνεται ότι είναι σημαντική για τη προστασία, πιο πρόσφατες μελέτες επανεξέτασαν το ρόλο τους ως «τελικοί εκτελεστές», καθώς δεδομένα δεικνύουν ότι μπορεί να δρουν και σε ένα άλλο στάδιο της σηματοδοτικής οδού, πυροδοτώντας ή διαμεσολαβώντας για την ισχαιμική προπόνηση. Έτσι οι Pain και συν.¹¹⁵ έδειξαν, ότι η 5 λεπτών έκθεση σε διαζοξίδη, έφερνε τις απομονωμένες καρδιές κουνελιών σε κατάσταση προστασίας για τουλάχιστον 30 λεπτά αφού το φάρμακο είχε εκπλυθεί, συμπεριφορά παρόμοια με αυτή των βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας, της αδενοσίνης, ή άλλων αγωνιστών που πυροδοτούν την ισχαιμική προπόνηση. Επιπλέον, οι Wang και συν.¹¹⁶ κατέδειξαν, ότι η 5-HD μπορούσε να αναστείλει την προστασία από τη διαζοξίδη / βραχύ επεισόδιο ισχαιμίας, μόνο όταν χορηγούνταν κατά τη διάρκεια της ισχαιμικής προετοιμασίας και όχι κατά τη διάρκεια του παρατεταμένου επεισοδίου της ισχαιμίας· θεωρήθηκε έτσι, ότι οι διάυλοι K^+_{ATP} μάλλον πυροδοτούν την ισχαιμική προετοιμασία, παρά δρουν ως τελικοί εκτελεστές της, αν και ο διττός τους ρόλος δεν μπορεί να αποκλειστεί. Σε μια άλλη μελέτη επίσης έδειξαν, ότι η προστασία από τη διαζοξίδη μπορούσε να αποκλειστεί από έναν ανταγωνιστή της PKC, γεγονός που τοποθετεί τους διαύλους K^+_{ATP} ψηλά στο καταρράκτη της ισχαιμικής προετοιμασίας¹¹⁷. Σχετικά τελευταία, οι Schulz και συν.¹¹⁸ έδειξαν, ότι η γλιβενκλαμίδα ανέστειλε την ισχαιμική προστασία σε χοίρους, μόνο όταν χορηγήθηκε πριν από το βραχύ επεισόδιο ισχαιμίας, και όχι 10 λεπτά αργότερα.

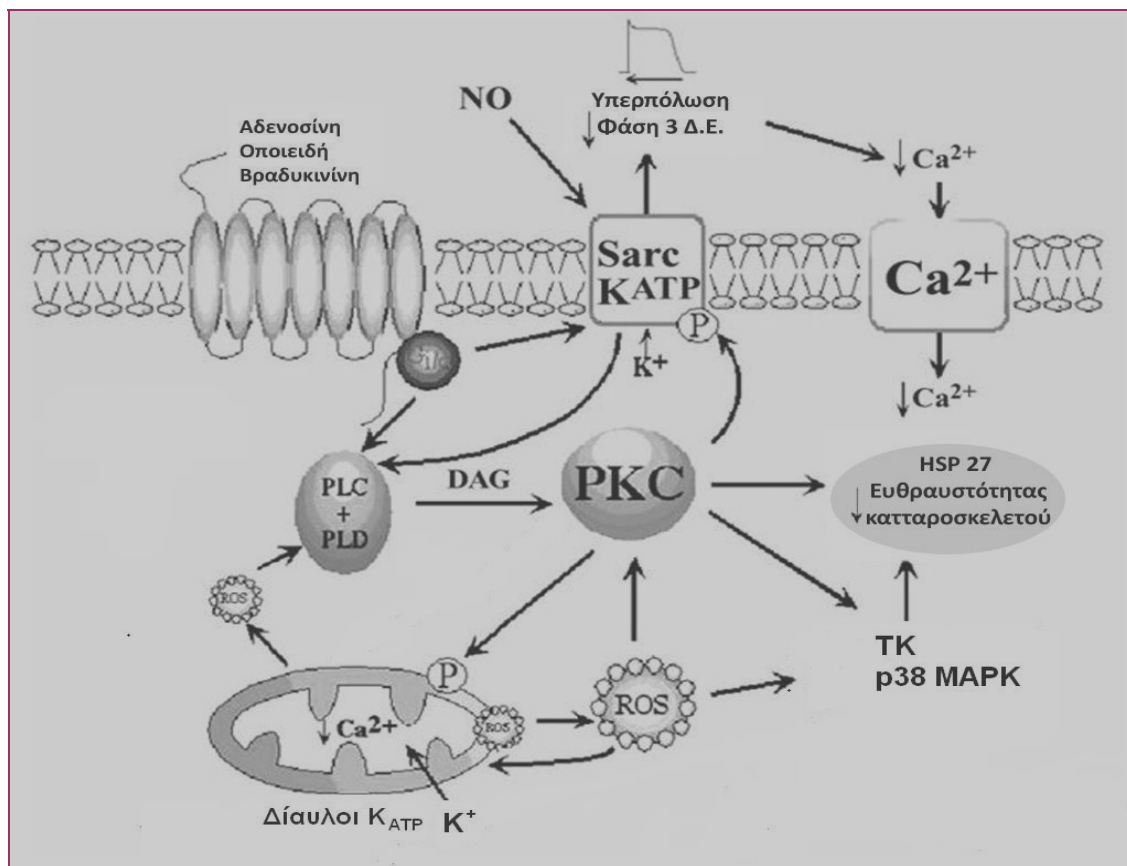
Οι Forbes και συν.¹¹⁹ έδειξαν ότι η διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} μπορεί να βρίσκεται ψηλά στη σηματοδοτική οδό που οδηγεί στην ενεργοποίηση των κινασών, δεικνύοντας ότι η επαγόμενη από τη διαζοξίδη προστασία μπορούσε να ανασταλεί από ένα εκκαθαριστή ελευθέρων ριζών, την N-ακετυλοκυστεΐνη.

Τα ευρήματα επιβεβαιωθήκαν και από άλλους ερευνητές^{120 121}, που πρότειναν ένα νέο παράδειγμα που περιλάμβανε τους διαύλους K^+_{ATP} και τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου στη σηματοδοτική οδό της ισχαιμικής προετοιμασίας. Στο μοντέλο αυτό, η κατάληψη των υποδοχέων οδηγεί στη διάνοιξη των διαύλων K^+_{ATP} , που προκαλεί τα μιτοχόνδρια να παράγουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου · οι ελεύθερες ρίζες στη συνέχεια ενεργοποιούν τις κινάσες, που βρίσκονται πιο κάτω στο σηματοδοτικό καταρράκτη, που τελικά ρυθμίζουν το τελικό εκτελεστή (βλέπε Μιτοχονδριακός πόρος διαπερατότητας).

Η παραπάνω υπόθεση, ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμμετέχουν στο πυροδοτικό σήμα της ισχαιμικής προπόνησης, μπορεί να εξηγήσει το γιατί η διέγερση των υποδοχέων κατά τη διάρκεια μιας μόνο απόφραξης, δεν προστατεύει το μυοκάρδιο. Η πιθανότερη εξήγηση είναι, ότι κατά τη διάρκεια μιας απόφραξης απελευθερώνονται αγωνιστές των υποδοχέων που διανοίγουν τους μιτοχονδριακούς διαύλους K^+_{ATP} · παρά όλα αυτά λείπει το απαραίτητο οξυγόνο, για τη δημιουργία των ελευθέρων ριζών και απαιτείται βραχεία επαναιμάτωση που το παρέχει, με αποτέλεσμα τη δημιουργία τους, που στη συνέχεια οδηγεί στην ενεργοποίηση της PKC. Σε υποστήριξη αυτής της παρατήρησης, αρκετοί ερευνητές έδειξαν ότι μια περίοδο πλήρους απόφραξης, προστατεύει τις καρδιές χοίρων και κουνελιών από μία επακόλουθη περίοδο ισχαιμίας χαμηλής ροής¹²² : η, διαμεσολαβούμενη από τους υποδοχείς, διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} , οδήγησε στη δημιουργία ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της περιόδου χαμηλής ροής, όταν το οξυγόνο ήταν και πάλι διαθέσιμο.

Εξάλλου, οι Fryer και συν.¹²³ ανέστειλαν την προστασία της ισχαιμικής προετοιμασίας, χορηγώντας τη 5-HD τόσο κατά την περίοδο της ισχαιμικής προετοιμασίας, όσο και κατά τη διάρκεια του παρατεταμένου επεισοδίου ισχαιμίας, προτείνοντας ότι η διάνοιξη των διαύλων K^+_{ATP} μπορεί τόσο να πυροδοτήσει την προστασία, όσο και να είναι ο «τελικός εκτελεστής» της.

Έτσι, το βάρος των δεδομένων υποστηρίζει τόσο ένα πυροδοτικό, όσο και ένα ρόλο τελικού εκτελεστή για τους μιτοχονδριακούς διαύλους K^+_{ATP} . Μια ελκυστική εξήγηση του διττού ρόλου τους θα ήταν μια υπόθεση σύμφωνα με την οποία, η διάνοιξη του διαύλου πυροδοτεί ένα καταρράκτη κινασών που ανατροφοδοτεί με θετικό τρόπο και κρατά το διάυλο ανοικτό, κατά τη διάρκεια του παρατεταμένου επεισοδίου ισχαιμίας (Εικόνα 4)¹²⁴.



Εικόνα 4. Η σχηματική παράσταση του προτεινόμενου σηματοδοτικού συστήματος της ισχαιμικής προετοιμασίας

Η ισχαιμία οδηγεί σε απελευθέρωση αδενοσίνης, βραδυκινίνης, οπιοειδών, που, μέσω της κατάληψης των, με την πρωτεΐνη G, συζευγμένων υποδοχέων και της διέγερσης της PLC, οδηγεί στην ενεργοποίηση και τη μετακίνηση της PKC. Η ενεργοποίηση της PKC μπορεί να οδηγήσει στην καρδιοπροστασία μέσω: (1) της ενεργοποίησης του καταρράκτη των κινασών, που καταλήγει στην φωσφορυλίωση της HSP27, (2) του περιορισμού της εισόδου Ca⁺⁺ και της βράχυνσης του δυναμικού ενεργείας, αλλά κυρίως (3) μέσω της διάνοιξης των μιτοχondριακών διαύλων K⁺_{ATP}, που μπορεί να αποτελούν και τους τελικούς εκτελεστές της ισχαιμικής προετοιμασίας. Εξάλλου, η διάνοιξη των μιτοχondριακών διαύλων K⁺_{ATP} μπορεί και να πυροδοτήσει την ισχαιμική προπόνηση, καθώς η είσοδος K⁺ στα μιτοχόνδρια προκαλεί μια μικρή ώση ελευθέρων ριζών οξυγόνου, που μπορεί να ενεργοποιήσει την PKC και να βάλει το μυοκάρδιο σε κατάσταση προστασίας. Η βραχεία περίοδος επαναϊμάτωσης είναι απαραίτητη, καθώς παρέχει το απαραίτητο οξυγόνο για τη δημιουργία των ελευθέρων ριζών οξυγόνου. (Sarc K⁺_{ATP} διάυλοι K⁺_{ATP} του σαρκειλήμματος, PLC φωσφολιπάση C, PLD φωσφολιπάση D, NO οξείδιο του αζώτου, DAG διακυλογλυκερόλη, PKC πρωτεϊνική κινάση C, ROS ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, p38 MAPK p38 πρωτεϊνικές κινάσες ενεργοποιημένες από μιτογόνα, TK κινάσες της τυροσίνης, HSP27 πρωτεΐνες οξείας φάσης, Δ.Ε. δυναμικό ενεργείας)

2. Ενεργειακές, μεταβολικές και ιοντικές μεταβολές

Η παλαιότερη θεωρία για τον τελικό εκτελεστή της ισχαιμικής προετοιμασίας προέρχεται από τους Murry και συν.¹²⁵, που πρότειναν ως τελικό εκτελεστή τη βελτίωση του ενεργειακού ισοζυγίου στο μυοκάρδιο που είχε υποστεί ισχαιμική προετοιμασία, πιθανώς λόγω αναστολής της μιτοχονδριακής ΑΤΡάσης. Αν και το ενεργειακό του κυττάρου βελτιώνεται με την ισχαιμική προετοιμασία, δεν υπάρχουν αρκετά πειστικά δεδομένα που να υποστηρίζουν ότι αυτός είναι ο μηχανισμός που οδηγεί στην προστασία, καθώς ο ευνοϊκότερος ενεργειακός μεταβολισμός μπορεί να μην είναι αρκετός για να αντιπαρέλθει το έλλειμμα από την αρχική προσβολή της ισχαιμικής προετοιμασίας. Οι Kolocassides και συν.¹²⁶ βρήκαν, ότι το ισχαιμικά προετοιμασμένο μυοκάρδιο του ποντικού συστελλόταν πρωιμότερα και είχε χαμηλότερα επίπεδα ΑΤΡ κατά τη διάρκεια του παρατεταμένου επεισοδίου ισχαιμίας, παρά την προφανή προστασία.

Παρόλο επίσης που καταδείχτηκε μια ελαττωμένη συσσώρευση καταβολιτών της ισχαιμίας, όπως του γαλακτικού στο ισχαιμικά προετοιμασμένο μυοκάρδιο ¹²⁷, και αν αρχικά θεωρήθηκε ότι η μείωση του γλυκογόνου συμμετέχει στη καρδιοπροστασία ¹²⁸, μεταγενέστερες μελέτες δεν επιβεβαίωσαν αυτή τη θεωρία ¹²⁹.

Εξάλλου, η ισχαιμική προετοιμασία οδηγεί σε ελαττωμένη ενδοκυττάρια οξειδωση, ενώ καθυστερεί τη καταστρεπτική αύξηση του ενδοκυττάρου Na^{++} και του ελεύθερου Ca^{++} κατά τη διάρκεια του παρατεταμένου επεισοδίου ισχαιμίας· και τα δύο μπορεί να συμμετέχουν στην ισχαιμική προετοιμασία, καθώς η ενεργοποίηση πολλών δυνητικά καταστρεπτικών ενζύμων εξαρτάται από το ενδοκυττάριο pH και τη συγκέντρωση του ασβεστίου, ενώ παρατηρήθηκε επιτάχυνση της άρσης των ιοντικών διαταραχών κατά την επαναιμάτωση (μετά το παρατεταμένο επεισόδιο ισχαιμίας) στο μυοκάρδιο που είχε προετοιμαστεί ισχαιμικά ¹³⁰.

3. Ο ανταλλάκτης Na^+/H^+

Οι Xaio και Allen ¹³¹ είχαν προτείνει, ότι η αναστολή του ανταλλάκτη Na^+/H^+ μπορεί να αποτελεί το «τελικό εκτελεστή» της ισχαιμικής προετοιμασίας, καθώς

παρατήρησαν ότι ο ανταλλάκτης Na^+/H^+ φαίνεται να αποκλείεται κατά την επαναιμάτωση, μόνο σε μυοκάρδια που έχουν προετοιμαστεί ισχαιμικά. Η προσθήκη του HOE 642, ενός ιδιαίτερα εκλεκτικού αναστολέα του εναλλάκτη Na^+/H^+ , λίγο πριν την επαναιμάτωση, σε μυοκάρδιο που δεν είχε προετοιμαστεί ισχαιμικά, διατήρησε τη μετσχαιμική λειτουργικότητα σε ποσοστό παρόμοιο με αυτό που είχε επιτευχθεί με την ισχαιμική προετοιμασία. το HOE 642 δεν είχε καμιά επιπρόσθετη επίδραση όταν συνδυάστηκε με ισχαιμική προετοιμασία, γεγονός που υπαινίσσεται κοινό μηχανισμό. Παρόμοια δράση έδειξε να έχει και η 5-αμιλορίδη, ένας άλλος αναστολέας του εναλλάκτη Na^+/H^+ · ούτε οι αναστολείς των κινασών, ούτε το 5-HD μπορούσε να αναστείλει την προστασία από την αμιλορίδη, προτείνοντας ότι ο ανταλλάκτης Na^+/H^+ πρέπει να δρα προστατευτικά στο τελικό στάδιο της βηματοδοτικής οδού, πιθανότατα ως τελικός εκτελεστής.

Πιθανότατα, η πιο σοβαρή κριτική της υπόθεσης του ανταλλάκτη Na^+/H^+ , είναι ότι φαίνεται, ότι η PKC, που αποδεδειγμένα παίζει κεντρικό ρόλο στην ισχαιμική προετοιμασία, μάλλον ενεργοποιεί, παρά αναστέλλει τον ανταλλάκτη¹³².

4. Οσμωτικό οίδημα

Τα κύτταρα βρίσκονται σε οσμωτικό ισοζύγιο και δεν υφίστανται μεταβολές της οσμωτικής πίεσης, υπό φυσιολογικές συνθήκες. Το οσμωτικό ισοζύγιο διατηρείται από το συνδυασμό της οσμωτικής έλξης των πρωτεϊνών και των νουκλεοτιδίων μέσα στο κύτταρο, με την έξοδο Na^{++} έξω αυτό.

Κατά την ισχαιμία, το ATP διασπάται σε AMP και δύο ανόργανα φωσφορικά, τριπλασιάζοντας έτσι την οσμωτική έλξη των νουκλεοτιδίων. Παρομοίως κατά την ισχαιμία, η ανεπάρκεια των αντλιών $\text{Na}^{++}/\text{Ca}^{++}$ οδηγεί στην συγκέντρωση Na^{++} μέσα στο κύτταρο, και έτσι σε κατάρρευση της ζωτικής σημασίας κλίσης του Na^{++} . Κάθε αύξηση της οσμωτικής συγκέντρωσης 1mM, ασκεί μια επιπρόσθετη διαμεμβρανική πίεση της τάξης των 19 mmHg (για παράδειγμα, μετά από 30 λεπτά ισχαιμίας, τα μυοκαρδιακά κύτταρα του ποντικίου συσσωρεύουν περίπου 20mM Na^{++} και αυτό μεταφράζεται σε μια αύξηση της διαμεμβρανικής οσμωτικής πίεσης, μόνο από το Na^{++} ,

της τάξης του 380mmHg)¹³³. Οι Jennings και συν.¹³⁴ το 1974, είχαν προτείνει ότι το οσμωτικό οίδημα αποτελεί την αιτία της ανεπάρκειας της μεμβράνης, της ρήξης της και του κυτταρικού θανάτου κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση.

Η ισχαιμική προπόνηση καθιστά τα καρδιομυοκύτταρα πολύ ανθεκτικά στην ανεπάρκεια της μεμβράνης, όταν προκαλούνται σε υποτονικό περιβάλλον · σε ισχαιμικά προπονημένα μυοκάρδια ποντικών και χοίρων, δείχτηκε ότι ο βαθμός του σχηματιζόμενου μυοκαρδιακού οιδήματος, μαζί με το μέγεθος του εμφράγματος ελαττώθηκαν ¹³⁵. Οι διάλυτοι Cl⁻ εμπλέκονται στην ρύθμιση του κυτταρικού όγκου, και ο Diaz και οι συν.¹³⁶ υπέθεσαν από πειράματα σε καρδιομυοκύτταρα κουνελιών, ότι η διάνοιξη των διαύλων Cl⁻ είναι υπεύθυνη για τη προστασία της ισχαιμικής προετοιμασίας · παρόλα αυτά, τα ηλεκτροφυσιολογικά τους δεδομένα, όπως και τα δεδομένα για τη μείωση του εμφράγματος δεν επιβεβαιώθηκαν ¹³⁷. Επίσης, ο ανταλλάκτης Na⁺/H⁺ παρέχει μία οδό για την είσοδο Na⁺ στο ισχαιμικό κύτταρο, με σημαντικές οσμωτικές επιδράσεις, και αν αυτός αποτελεί το τελικό εκτελεστή της ισχαιμικής προετοιμασίας, τότε η κύρια επίδραση της αναστολής του μπορεί να είναι, η πρόληψη του κυτταρικού οιδήματος. Παρόλα τα προηγούμενα, η σημασία του οσμωτικού φορτίου για την ισχαιμική προετοιμασία, παραμένει να καθοριστεί.

5. Ελάττωση της ευθραυστότητας του κυτταροσκελετού

Οι VanderHeide και Ganote ¹³⁸ ήταν οι πρώτοι, που απέδωσαν την επιρρέπεια των ισχαιμικών κυττάρων στην οσμωτική ρήξη, στις βλάβες του κυτταροσκελετού που συνοδεύουν την ισχαιμία, πιθανώς λόγω της έλλειψης φωσφορυλίωσης βασικών κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών.

Είναι γνωστό, ότι η παρατεταμένη ισχαιμία προκαλεί διάσπαση του κυτταροσκελετού, ενώ φαίνεται ότι τα μυοκύτταρα που έχουν προπονηθεί ισχαιμικά, προστατεύονται από την ανάπτυξη οσμωτικής ευθραυστότητας. Η θεωρία αυτή ταιριάζει με την υπόθεση της p38 MAPK, καθώς η ενεργοποίηση της p38 από τη MAPKAPK2 προκαλεί τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης οξείας φάσης HSP27(και της μικρότερης ισομορφής

της α,β-κρυσταλλίνης), η οποία με τη σειρά της προκαλεί τη συνάθροιση των ινιδίων της ακτίνης στο κυτταροσκελετό, και σταθεροποιεί τα ινίδια της ακτίνης κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού στρες¹³⁹.

Οι Eaton και συν¹⁴⁰ έδειξαν, ότι η ισχαιμική προετοιμασία σε μυοκάρδιο ποντικών, προκάλεσε ανακατανομή της HSP27 από τη κυτοσόλη στα σαρκομερίδια, που συνδυάστηκε με σημαντική αύξηση της ανάνηψης της συνολικής συστολικής λειτουργίας, μετά από 40 λεπτά ισχαιμίας. Ανάλογα ήταν και ευρήματα από τους Holly και συν.¹⁴¹, που περιέγραψαν επίσης τη μετακίνηση της HSP27 από τη κυτοσόλη στα σαρκομερίδια, μετά από ισχαιμική προετοιμασία. Επιπλέον, δείχτηκε ότι σε μεμονωμένα μυοκύτταρα που είχαν υποβληθεί σε οσμωτικό στρες και υποξία, η κυτοχλασίνη D, ένα φάρμακο που είναι γνωστό ότι αποδιοργανώνει τον κυτταροσκελετό, απέκλεισε την προστατευτική δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας¹⁴². Εντούτοις, οι Armstrong και συν.¹⁴³ δεν κατάφεραν να συσχετίσουν τη φωσφορυλίωση της HSP27 με τη προστασία, σε ισχαιμικά προετοιμασμένα μυοκύτταρα κουνελιών.

6. Μιτοχονδριακός πόρος διαπερατότητας (Mitochondrial Permeability Transition Pore, MPTP)

Αν και η επαναιμάτωση θεωρείται σημαντική για την επιβίωση των καρδιομυοκυττάρων μετά από μια περίοδο ισχαιμίας, είναι πλέον γνωστό ότι από μόνη της μπορεί να επισπεύσει τον κυτταρικό θάνατο, κατάσταση που είναι γνωστή ως βλάβη επαναιμάτωσης, και αποδίδεται καλύτερα από το ρόλο της απόπτωσης. Η επαναιμάτωση, όπως ήδη έχει αναφερθεί, συνοδεύεται από μια αύξηση της απελευθέρωσης των ελεύθερων ριζών που θεωρούνται σημαντικοί διαμεσολαβητές της βλάβης επαναιμάτωσης, καθώς έχει δείχτει ότι τα αντιοξειδωτικά, όταν χορηγούνται κατά την περίοδο αυτή, περιορίζουν τον κυτταρικό θάνατο¹⁴⁴.

Τα μιτοχόνδρια παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην επαναιμάτωση. Η πιο σημαντική λειτουργία τους είναι η παραγωγή του ATP, που πραγματοποιείται με τη μεταφορά ηλεκτρονίων στο οξυγόνο. Η μεταφορά αυτή, όπως αναφέρθηκε, συνδέεται με τη μεταφορά ιόντων H⁺ από το εσωτερικό στο εξωτερικό της εσωτερικής μεμβράνης

των μιτοχονδρίων, εγκαθιστώντας έτσι το μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό δυναμικό. Ακολούθως, η παθητική προς τα έσω ροή των ιόντων H^+ , δημιουργεί την κατευθυντήρια δύναμη για την παραγωγή του ATP. Κατά τη μεταφορά των ηλεκτρονίων, 1-5% των ιόντων συμμετέχουν στο σχηματισμό των ελευθέρων ριζών.

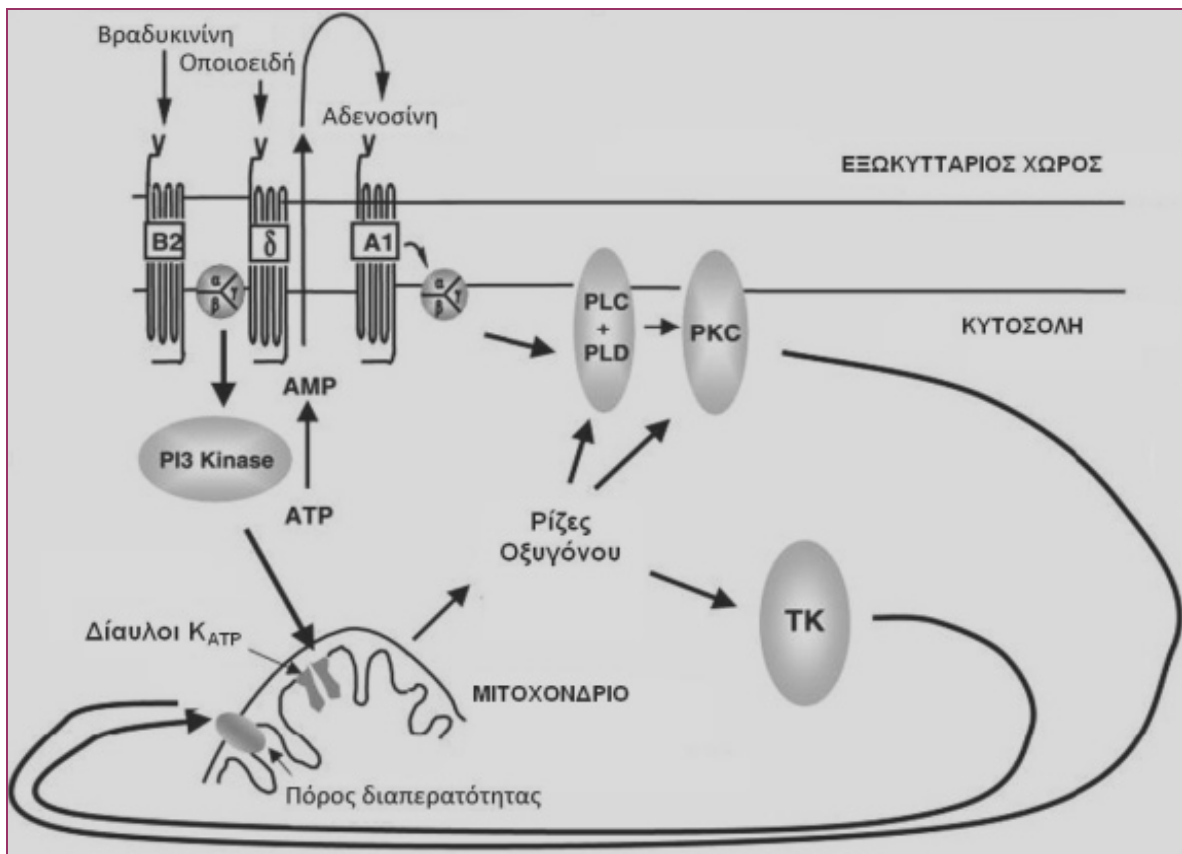
Ο μιτοχονδριακός πόρος διαβατότητας (MPTP) σχηματίζεται από πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα που δημιουργούν ένα μεγάλο, μη εκλεκτικό πόρο στην, κατά τα άλλα, εξαιρετικά αδιαπέραστη εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Ο πόρος αυτός, που είναι κλειστός κατά την ισχαιμία, διανοίγεται κατά την επαναιμάτωση¹⁴⁵ από τις ελεύθερες ρίζες, τις υψηλές συγκεντρώσεις Ca^{++} , την εξάντληση των αποθεμάτων του ATP. Η διάνοιξη του MPTP κατά την επαναιμάτωση οδηγεί στην αποσύζευξη της αναπνευστικής αλυσού των μιτοχονδρίων, που τελικά οδηγεί στην εξάντληση των αποθεμάτων του ATP και σε νέκρωση από τη μια, αλλά και σε οίδημα των μιτοχονδρίων, σε ρήξη της μιτοχονδριακής μεμβράνης και στην απελευθέρωση προαπτωτικών παραγόντων από την άλλη¹⁴⁶. Οι συνθήκες για τη διάνοιξη του πόρου είναι βέλτιστες κατά την επαναιμάτωση μετά από παρατεταμένη ισχαιμία, ενώ έχει καταδειχτεί ότι ο αποκλεισμός του πόρου με την κυκλοσπορίνη-A κατά την επαναιμάτωση, μπορεί να μειώσει τη βλάβη της ισχαιμίας/ επαναιμάτωσης¹⁴⁷.

Υπάρχει πληθώρα δεδομένων που υποστηρίζει το κεντρικό ρόλο του MPTP στην ισχαιμική προετοιμασία, και τα τελευταία χρόνια σημαντικό έδαφος κερδίζει η υπόθεση ότι η αναστολή της διάνοιξης του, αποτελεί το τελικό εκτελεστή της ισχαιμικής προετοιμασίας.

Σε μια εκτενή τους μελέτη οι Juhaszova και συν.¹⁴⁸ έδειξαν, ότι τόσο η ισχαιμική, όσο και η φαρμακολογική προετοιμασία από μια μεγάλη ποικιλία φαρμάκων, δρα μέσω της αναστολής της διάνοιξης του MPTP από τις ελεύθερες ρίζες, και το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε και από άλλους μελετητές¹⁴⁹. Κατέδειξαν ότι η ισχαιμική προετοιμασία (από ισχαιμία, διαζοξίδη, βραδυκινίνη) προκαλεί τη διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} , η οποία οδηγεί σε οίδημα των μιτοχονδρίων, που αυξάνει τη μεταφορά των ηλεκτρονίων και δίνει γένεση σε μικρή ώση ελεύθερων ριζών, η οποία δρα σαν αγγελιοφόρος για την ενεργοποίηση της PKC, που καταλήγει στη φωσφορυλίωση της κινάσης-3b της συνθετάσης του γλυκογόνου (GSK-3b). Η φωσφορυλίωση της GSK-3b αναστέλλει τη δράση της, αυξάνει τον ουδό και

αναστέλλει τη διάνοιξη του MPTP από τις ελεύθερες ρίζες, κατά την επαναιμάτωση. Εξάλλου, φαίνεται ότι η κινάση της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης-3 (PI3K) εμπλέκεται στην καρδιοπροστασία, και μεταξύ των άλλων διαμεσολαβητών που ακολουθούν την ενεργοποίηση της, περιλαμβάνεται και η GSK-3b¹⁵⁰. Επιπλέον, οι Baines και συν.¹⁵¹ έδειξαν, ότι η μετακίνηση της PKCε στα μιτοχόνδρια, που θεωρείται κριτικής σημασίας για την ισχαιμική προετοιμασία, προκαλεί αναστολή της διάνοιξης του MPTP.

Οι Hausenloy και συν.¹⁵² επιπρόσθετα, παρείχαν κάποια στοιχεία για το ότι ο MPTP μπορεί να διανοιχτεί παροδικά μετά τη φάση της ισχαιμικής προετοιμασίας και ότι το γεγονός αυτό, μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στην ενίσχυση της κυτταρικής επιβίωσης. Πιστεύεται ότι η αποσύζευξη των μιτοχονδρίων και μια αύξηση του pH, μπορεί να επάγει την παροδική διάνοιξη του πόρου, που στην συνέχεια προάγει την απελευθέρωση των ελεύθερων ριζών κατά τη φάση της επαναιμάτωσης, που οδηγούν στην ενεργοποίηση της PKC και πιθανώς άλλων κινασών. Η επακόλουθη προσαρμοστική απάντηση περιλαμβάνει τη διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} που μπορεί να διαρκέσει 1 ώρα ή και περισσότερο. Η διάνοιξη των μιτοχονδριακών K^+_{ATP} είναι καρδιοπροστατευτική, καθώς προκαλεί ήπια αποσύζευξη, που μετριάξει την υπερπόλωση και ελάττωση της απελευθέρωσης των ελευθέρων ριζών κατά το επόμενο παρατεταμένο επεισόδιο ισχαιμίας · η δημιουργία των ελευθέρων ριζών δηλαδή, ενεργοποιεί μια προσαρμοστική απάντηση, η οποία ελαττώνει την γένεση ελευθέρων ριζών στις αμέσως επόμενες ώρες. Εξάλλου, με τον τρόπο που αναπτύχθηκε προηγούμενα , η διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} οδηγεί σε οίδημα των μιτοχονδρίων και πιθανώς σε παροδική απελευθέρωση ελευθέρων ριζών, που αναστέλλουν τη διάνοιξη του MPTP κατά το παρατεταμένο επεισόδιο ισχαιμίας, ελαττώνοντας έτσι τη μυοκυτταρική βλάβη και θάνατο (**Εικόνα 5**)¹⁵³.



Εικόνα 5. Σχηματική παράσταση για την υπόθεση του MPTP, του επικρατέστερου τελικού εκτελεστή της κλασσικής ισχαιμικής προετοιμασίας.

Η διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} μέσω της ενεργοποίησης των, με την πρωτεΐνη G συζευγμένων, υποδοχέων και της PI3, οδηγεί στη γένεση μιας μικρής ώσης ελεύθερων ριζών οξυγόνου κατά την επαναιμάτωση, που οδηγεί στην ενεργοποίηση της PKC και των άλλων κινασών (TK), που αναστέλλουν τη διάνοιξη του MPTP κατά το παρατεταμένο επεισόδιο ισχαιμίας, ελαττώνοντας έτσι τη μυοκυτταρική βλάβη. Εξάλλου, μπορεί το πρωταρχικό σύμβαμα να αποτελεί η διάνοιξη του MPTP, που προκαλεί απελευθέρωση των ελεύθερων ριζών κατά τη φάση της επαναιμάτωσης, που οδηγεί στην ενεργοποίηση της PKC και στην επακόλουθη διάνοιξη των μιτοχονδριακών διαύλων K^+_{ATP} , η οποία είναι καρδιοπροστατευτική, καθώς προκαλεί ελάττωση της απελευθέρωσης των ελεύθερων ριζών κατά το επόμενο επεισόδιο ισχαιμίας. (MPTP μιτοχονδριακός πόρος διαπερατότητας, PLC φωσφολιπάση C, PLD φωσφολιπάση D, PKC πρωτεϊνική κινάση C, ATP τριφωσφορική αδενοσίνη, AMP 5-μονοφωσφορική αδενοσίνη, PI3 Kinase κινάση της φωσφατιδυλοϊνσιτόλης-3, TK κινάσες της τυροσίνης)

IV. Η ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

Στοιχεία για την υποστήριξη του ρόλου της ισχαιμικής προετοιμασίας στον άνθρωπο προέρχονται τόσο από το εργαστήριο, όσο και από κλινικές μελέτες.

Για προφανείς ηθικούς λόγους, καμιά κλινική μελέτη της ισχαιμικής προετοιμασίας στον άνθρωπο δεν πληρεί τα αυστηρά κριτήρια των μελετών στο πειραματικό εργαστήριο, όπου το μέγεθος του εμφράγματος αποτελεί το τελικό σημείο. Έτσι, για την εκτίμηση της επίδρασης της ισχαιμικής προετοιμασίας, έχουν χρησιμοποιηθεί η βελτίωση της συστολικής λειτουργίας, των ηλεκτροκαρδιογραφικών ευρημάτων ισχαιμίας, της βαρύτητας της στηθάγχης και των βιοχημικών δεικτών της κυτταρικής βλάβης, και αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στην εκτίμηση των αποτελεσμάτων, καθώς οι μηχανισμοί τους μπορεί να διαφέρουν από τον κλασικό μηχανισμό που εμπλέκεται στη μείωση του εμφράγματος, που αναπαράγεται στο πειραματικό εργαστήριο. Ένας άλλος σημαντικός περιορισμός πολλών κλινικών μελετών, αφορά την αδυναμία ποσοτικοποίησης επακριβώς της έκτασης της παράπλευρης κυκλοφορίας, που στον άνθρωπο αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της σοβαρότητας της ισχαιμίας, κατά τη φάση της στεφανιαίας απόφραξης.

In vitro, η παρουσία της ισχαιμικής προετοιμασίας στον άνθρωπο καταδείχτηκε σε καλλιέργειες καρδιομυοκυττάρων¹⁵⁴ και σε απομονωμένες δεσμίδες ανθρώπινου κολπικού ιστού¹⁵⁵, από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε εγχείρηση ανοικτής καρδιάς.

Τα *in vivo* μοντέλα ισχαιμικής προετοιμασίας στον άνθρωπο περιλαμβάνουν:

- τη **στηθάγχη προθέρμανσης**, που αποτελεί το κλινικό μοντέλο ισχαιμικής προετοιμασίας, στο οποίο εξετάζεται η δράση των αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης στη παρούσα μελέτη
- την ισχαιμική προετοιμασία της **προεμφραγματικής στηθάγχης**. Τόσο η στηθάγχη προθέρμανσης, όσο και η προεμφραγματική στηθάγχη αποτελούν «φυσικά» εμφανιζόμενες μορφές ισχαιμικής προετοιμασίας
- η ισχαιμική προετοιμασία κατά τη **στεφανιαία αγγειοπλαστική** και την **αορτοστεφανιαία παράκαμψη**, όπου ενεργείς παρεμβάσεις είναι σε θέση να πυροδοτήσουν την ισχαιμική προετοιμασία και αρκετές μελέτες έχουν εξετάσει την επίδραση φαρμακευτικών παραγόντων σε αυτή.

A. Στηθάγχη προθέρμανσης

«Η στηθάγχη ή το φαινόμενο προθέρμανσης», που πρωτοπεριγράφηκε πριν από 50 περίπου χρόνια, αναφέρεται στη βελτίωση της απόδοσης και στην ικανότητα που επιδεικνύουν πολλοί ασθενείς με στηθάγχη προσπαθείας που τους αναγκάζει να διακόπτουν την άσκηση, να μπορούν, μετά από μια ενδιάμεση περίοδο ανάπαυσης, να τη συνεχίζουν στο ίδιο επίπεδο, αλλά χωρίς συμπτώματα ¹⁵⁶. Το φαινόμενο αυτό, συνοδεύτηκε από αντικειμενικές μετρήσεις σε δοκιμασίες κοπώσεως, όπου οι ασθενείς εμφάνιζαν λιγότερο σοβαρή στηθάγχη και μικρότερη κατάσπαση του ST διαστήματος, σε παρόμοια φόρτιση έργου, στη δεύτερη από τις δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, που πραγματοποιούνταν μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα η μία από την άλλη ⁴⁹.

Για την εξήγηση του φαινομένου της στηθάγχης προθέρμανσης, έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί προσαρμογής στην, από την άσκηση, επαγόμενη ισχαιμία:

- η βελτίωση της παροχής οξυγόνου μέσω διαστολής στη περιοχή της στενωτικής βλάβης, η επιστράτευση της παράπλευρης κυκλοφορίας και η ανακατανομή της μυοκαρδιακής αιμάτωσης
- μια προσαρμοστική προς «τα κάτω» ρύθμιση ή αποπληξία της τμηματικής μυοκαρδιακής συστολικής λειτουργίας στην ισχαιμική περιοχή
- μορφή προσαρμογής στην ισχαιμία, ανάλογη με αυτή της ισχαιμικής προετοιμασίας του μυοκαρδίου.

Στην προσπάθεια κατανόησης του παθογενετικού μηχανισμού της στηθάγχης προθέρμανσης, οι Okazaki και συν.¹⁵⁷ πραγματοποίησαν σε ασθενείς με μονήρη βλάβη του πρόσθιου κατιόντα κλάδου της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης με μεσοδιάστημα 15 λεπτών η μία από την άλλη, και βρήκαν ότι η στηθάγχη, η κατάσπαση του ST διαστήματος και η κατανάλωση οξυγόνου ήταν μικρότερες στη δεύτερη δοκιμασία, σε παρόμοια φόρτιση έργου, προτείνοντας ότι το μυοκάρδιο είχε γίνει ανθεκτικότερο στην ισχαιμία και πιο αποδοτικό σε αυτή τη δοκιμασία. Σημαντικότερο, έδειξαν ότι η ροή στη μεγάλη καρδιακή φλέβα παρέμεινε η ίδια και στις δύο δοκιμασίες, προτείνοντας ότι η στηθάγχη προθέρμανσης δεν συνοδεύεται από επιστράτευση της παράπλευρης κυκλοφορίας και αύξηση της συνολικής αιματικής ροής στο μυοκάρδιο. Οι Bogaty και συν.¹⁵⁸ επίσης, έδειξαν ότι η

ελάττωση της μυοκαρδιακής ισχαιμίας που παρατηρήθηκε σε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, δεν συνοδεύτηκε από βελτίωση της μυοκαρδιακής αιμάτωσης, όπως προσδιορίστηκε με τομογραφία μονοφωτονιακής εκπομπής με Θάλλιο-201. Και οι δύο μελέτες βέβαια, δεν απέκλεισαν τη πιθανότητα η στηθάγχη προθέρμανσης να οφείλεται σε ανακατανομή της μυοκαρδιακής αιμάτωσης από το επικάρδιο στο ενδοκάρδιο. Η αδυναμία επίσης, των αγγειοδιασταλτικών ουσιών να αναπαράγουν τη στηθάγχη προθέρμανσης, έρχεται σε αντίθεση με την πεποίθηση ότι η στηθάγχη της προθέρμανσης οφείλεται σε στεφανιαία αγγειοδιαστολή και πιθανή διάνοιξη των στεφανιαίων αρτηριών.

Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός για την εξήγηση του φαινομένου της στηθάγχης προθέρμανσης, είναι μια προστατευτική «προς τα κάτω» ρύθμιση της τμηματικής μυοκαρδιακής συστολικής λειτουργίας στην ισχαιμική περιοχή, που μπορεί να μετριάζει τη σοβαρότητα της ισχαιμίας, μέσω μιας ελάττωσης στη κατανάλωση οξυγόνου. Οι Bogaty και συν.¹⁵⁹ έδειξαν σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο ότι η, επαγομένη από την ισχαιμία, τοιχωματική δυσλειτουργία, κατά τη δεύτερη εν σειρά δοκιμασία κοπώσεως, ήταν σημαντικά ελαττωμένη συγκριτικά με την πρώτη, εύρημα που ήταν σε συνέπεια με την μείωση των ηλεκτροκαρδιογραφικών ευρημάτων ισχαιμίας. Πιο σημαντικό, η τοιχωματική κινητικότητα επέστρεφε στην αρχική βασική κατάσταση πριν από τη δεύτερη δοκιμασία, προτείνοντας ότι η ελάττωση της μυοκαρδιακής ισχαιμίας δε μπορεί να εξηγηθεί με μια «προς τα κάτω» ρύθμιση της μυοκαρδιακής συσταλτικότητας, που επάγεται από το αρχικό ισχαιμικό ερέθισμα. Παρόλα αυτά, η σημαντική διαταραχή της τοιχωματικής λειτουργίας επέμενε πριν από τη δεύτερη δοκιμασία όταν οι ασθενείς υποβάλλονταν σε περισσότερο έντονη άσκηση, αιτιολογώντας μερικώς με τον τρόπο αυτό, την ελάττωση των ηλεκτροκαρδιογραφικών παραμέτρων της ισχαιμίας και της, επαγόμενης από την ισχαιμία, συστολικής δυσλειτουργίας, που παρατηρούνταν στη δεύτερη δοκιμασία. Τα ευρήματα αυτά, επιβεβαιώθηκαν κατόπιν από τους Kelion και συν.¹⁶⁰. Από άλλη μελέτη επίσης, προτάθηκε ότι ο βαθμός της αποπληξίας του μυοκαρδίου μετά από την, επαγόμενη από την άσκηση, ισχαιμία μπορεί να ελαττωθεί αν ο ασθενής είχε υποβληθεί σε προηγούμενη άσκηση, 30 λεπτά νωρίτερα ¹⁶¹.

Η άλλη πιθανή και ιδιαίτερα ελκυστική εξήγηση του φαινομένου, που έχει αποτελέσει το αντικείμενο ερευνητικού ενδιαφέροντος, είναι ότι η στηθάγχη προθέρμανσης αποτελεί μια κλινική έκφραση της ισχαιμικής προετοιμασίας. Έτσι προτάθηκε, ότι το πρώτο επεισόδιο σταθερής στηθάγχης προπονεί ισχαιμικά το μυοκάρδιο, κάνοντας πιο δύσκολη τη πρόκληση ισχαιμίας από ένα επόμενο, παρόμοιας έντασης ερέθισμα ¹⁶².

Τόσο η στηθάγχη προθέρμανσης, όσο και η ισχαιμική προετοιμασία μοιράζονται κοινά χαρακτηριστικά:

- Και τα δύο φαινόμενα απαιτούν ένα βραχύ επεισόδιο ισχαιμίας, που ακολουθείται από ανάπαυση /επαναιμάτωση, για να πυροδοτήσει την προστασία.
- Και τα δύο φαινόμενα έχουν μνήμη, έτσι ώστε το μυοκάρδιο παραμένει σε κατάσταση προστασίας για περίπου 1 ώρα μετά το αρχικό βραχύ επεισόδιο ισχαιμίας, αλλά η προστασία εξαφανίζεται συνολικά μετά από 2 ώρες. Έτσι δείχτηκε, ότι η χρονική πορεία της στηθάγχης προθέρμανσης είναι συναφής με αυτή της ισχαιμικής προετοιμασίας, καθώς σε ασθενείς που υποβάλλονται σε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, η βελτίωση στον ισχαιμικό ουδό στη δεύτερη δοκιμασία που παρατηρείται μέσα σε λεπτά μετά τη πρώτη, χάνεται σε επόμενη κόπωση, που πραγματοποιείται δύο ώρες μετά τη δεύτερη ¹⁶³.
- Κατά τη φάση της προστασίας, το μυοκάρδιο είναι λιγότερο επιδεκτικό στην ισχαιμική βλάβη, όπως αυτό εκτιμάται από την ελάττωση της πτώσης του ST διαστήματος στη δεύτερη από τις δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, που πραγματοποιούνται μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα ή μία από την άλλη στη περίπτωση της στηθάγχης προθέρμανσης και από ελάττωση του μεγέθους του εμφράγματος του μυοκαρδίου στη περίπτωση της κλασικής ισχαιμικής προετοιμασίας ¹⁶⁴.

Εντούτοις, τα αντιφατικά αποτελέσματα μελετών που εξέτασαν τους κυτταρικούς μηχανισμούς που διαμεσολαβούν για τη στηθάγχη προθέρμανσης, με φαρμακευτικούς παράγοντες που αποδεδειγμένα μιμούνται ή αποκλείουν την ισχαιμική προετοιμασία, δεν υποστηρίζουν πλήρως την υπόθεση της ισχαιμικής προετοιμασίας. Για παράδειγμα, η χορήγηση αγωνιστών ¹⁶⁵ ή ο αποκλεισμός των υποδοχέων της αδενοσίνης ¹⁶⁶ - που έχουν δείξει να αναστέλλουν την ισχαιμική προετοιμασία σε μελέτες στεφανιαίας αγγειοπλαστικής ¹⁶⁷-, δεν συνοδεύτηκε πάντα από πυροδότηση

ή κατάργηση της στηθάγχης προθέρμανσης αντίστοιχα, ενώ η μελέτη του ρόλου των διαύλων K^+_{ATP} έδωσε αντικρουόμενα αποτελέσματα, καθώς σε άλλες μελέτες η χορήγηση των κλασσικών αποκλειστών των διαύλων K^+_{ATP} προκαλούσε κατάργηση της στηθάγχης προθέρμανσης¹⁶⁸, ενώ σε άλλες μελέτες δεν συνοδεύονταν από αναστολή της¹⁶⁹.

Επομένως, αν και θεωρητικά τουλάχιστον, φαίνεται ότι το φαινόμενο της στηθάγχης προθέρμανσης μοιράζεται κοινά χαρακτηριστικά με αυτό της ισχαιμικής προετοιμασίας, δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο, εάν αποτελεί ένα κλινικό μοντέλο ισχαιμικής προετοιμασίας, ή αν τελικά άλλοι μηχανισμοί είναι υπεύθυνοι.

B. Προεμφραγματική στηθάγχη

Πολλοί ασθενείς εμφανίζουν βραχεία επεισόδια στηθάγχης, ώρες ή μέρες πριν από το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Έτσι είναι θεωρητικά πιθανό, αυτή η προεμφραγματική στηθάγχη, να έχει τη δυνατότητα να προπονήσει ισχαιμικά το μυοκάρδιο, ελαττώνοντας το μέγεθος του εμφράγματος και βελτιώνοντας την επιβίωση. Εντούτοις, αυτό θα συνέβαινε μόνο αν η αρτηρία η σχετιζόμενη με το έμφραγμα επαναιματοωθεί έγκαιρα, γιατί τα πειραματικά δεδομένα προτείνουν ότι η ισχαιμική προπόνηση δεν έχει καμιά επίδραση στο έμφραγμα σε έδαφος πλήρους αποφραγμένης αρτηρίας, στην οποία δεν έχει λάβει χώρα επαναιμάτωση. Έτσι, δεν είναι παράξενο που όλες οι μελέτες που εκτίμησαν την επίδραση της προεμφραγματικής στηθάγχης πριν από την ευρεία διάδοση της θρομβόλυσης, δεν έδειξαν ευνοϊκή δράση, όσον αφορά τη θνητότητα και τη βελτίωση της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας¹⁷⁰.

Αρκετές πιο πρόσφατες μελέτες που εκτίμησαν την επίδραση της προεμφραγματικής στηθάγχης, έδειξαν ότι η παρουσία της σχετίζεται με μικρότερη έκταση νέκρωσης και μικρότερη απελευθέρωση CK, μικρότερη επίπτωση αρρυθμιών και καρδιακής ανεπάρκειας, μικρότερη ενδονοσοκομειακή θνητότητα και καλύτερη πρόγνωση στον ένα χρόνο^{171 172 173}. Βέβαια, η διάρκεια του μεσοδιαστήματος ανάμεσα στο επεισόδιο της στηθάγχης και στο έμφραγμα είναι πολύ σημαντική, και οι μελέτες έδειξαν ότι η προεμφραγματική στηθάγχη είχε επίδραση μόνο όταν συνέβαινε 24-72 ώρες

πριν από το έμφραγμα, μια χρονική πορεία που ομοιάζει πολύ με τη μυοκαρδιακή προστασία που συνοδεύει το δεύτερο παράθυρο της ισχαιμικής προετοιμασίας¹⁷⁴.

Παρόλα αυτά, εκτός από τη πιθανή προστασία που παρέχεται από την ισχαιμική προετοιμασία, το μέγεθος του εμφράγματος και η μετσχαιμική λειτουργικότητα της αριστερής κοιλίας προσδιορίζονται και από άλλους παράγοντες, όπως την έκταση της παράπλευρης κυκλοφορίας στην ισχαιμική περιοχή, το χρονικό διάστημα από την έναρξη του εμφράγματος μέχρι την επαναιμάτωση και την υπολειπόμενη στένωση μετά την επαναιμάτωση. Μελέτες που εξέτασαν το βαθμό της παράπλευρης κυκλοφορίας της ισχαιμικής περιοχής, δε βρήκαν αύξηση στα αγγειογραφικά ορατά παράπλευρα αγγεία, αλλά πρέπει να τονιστεί ότι η στεφανιογραφική μελέτη πραγματοποιούνταν 90 λεπτά μετά τη θρομβόλυση και έτσι είναι δύσκολο να δώσει ακριβείς πληροφορίες για την έκταση της παράπλευρης κυκλοφορίας, κατά το χρόνο της στεφανιαίας απόφραξης¹⁷¹.

Εξάλλου οι Andreotti και συν.¹⁷⁵ έδειξαν, ότι η προεμφραγματική στηθάγχη σχετίζεται με ταχύτερη επαναιμάτωση μετά τη θρομβόλυση, το οποίο αποτελεί μια ελκυστική εξήγηση για την ευεργετική δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας, στηριζόμενη στις γνωστές ανασταλτικές δράσεις της αδενοσίνης στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων μετά από την ενεργοποίηση των A₂ υποδοχέων της στις μεμβράνες των αιμοπεταλίων, το οποίο τροποποιεί τον σχηματισμό του θρόμβου και προάγει την πρόωρη επαναιμάτωση. Οι Zahn και συν.¹⁷⁶ κατέδειξαν, ότι η προεμφραγματική στηθάγχη δεν είχε όφελος, όταν η εμφραγματική περιοχή αιματώθηκε με αγγειοπλαστική παρά με θρομβόλυση, γεγονός που μπορεί να υποστηρίξει ικανοποιητικά τα ευρήματα των Andreotti και συν.

Γ. Ισχαιμική προετοιμασία στη στεφανιαία αγγειοπλαστική

Η αγγειοπλαστική των στεφανιαίων αρτηριών προσφέρει την δυνατότητα να μελετηθεί η απάντηση του ανθρώπινου μυοκαρδίου σε βραχείες περιόδους ελεγχόμενης ισχαιμίας και επαναιμάτωσης. Η επέμβαση περιλαμβάνει συνήθως, επαναλαμβανόμενες ενδοστεφανιαίες διαστολές μπαλονιού με ενδιάμεσες περιόδους αιμάτωσης και

θεωρητικά η πρώτη διαστολή/ισχαιμία μπορεί να αυξήσει την αντίσταση του μυοκαρδίου στις επόμενες διαστολές του μπαλονιού, μέσω του μηχανισμού της κλασσικής ισχαιμικής προετοιμασίας. Πολλές μελέτες, χρησιμοποιώντας αυτό το μοντέλο, έδειξαν ελάττωση των δεικτών μυοκαρδιακής ισχαιμίας, συμπεριλαμβανομένης της μετατόπισης του ST διαστήματος, της επίπτωσης του στήθαγχικού πόνου, των ανωμαλιών της τοιχωματικής κινητικότητας, της απελευθέρωσης μυοκαρδιακών δεικτών νέκρωσης και της παραγωγής γαλακτικού σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε διαδοχικές διαστολές του μπαλονιού κατά τη στεφανιαία αγγειοπλαστική, προβάλλοντας απόδειξη για μυοκαρδιακή προσαρμογή, που επάγεται από τη αρχική βραχεία περίοδο ισχαιμίας^{17 47}.

Τα ευρήματα δε, ότι ο μη εκλεκτικός ανταγωνιστής των υποδοχέων της αδενοσίνης, αμινοφυλλίνη, μπορούσε να αποκλείσει αυτή τη προστασία¹⁷⁷, και το ότι η ενδοστεφανιαία έγχυση αδενοσίνης¹⁷⁸, όπως και βραδυκινίνης⁶¹, ακολουθούμενες από βραχεία περίοδο έκπλυσης, πριν από τη πρώτη διαστολή του μπαλονιού μπορούσαν να μιμηθούν την ισχαιμική προετοιμασία, ισχυροποίησε την πεποίθηση ότι πράγματι η ισχαιμική προετοιμασία είναι υπεύθυνη για την αυξημένη αντίσταση στην ισχαιμία κατά τη δεύτερη διαστολή του μπαλονιού. Εντούτοις, άλλες μελέτες δεν έδειξαν παρόμοια ευνοϊκά αποτελέσματα¹⁷⁹.

Εντούτοις, τα ευρήματα αυτά πρέπει να ερμηνευτούν με προσοχή, καθώς υπάρχουν διάφοροι περιορισμοί και συγχυτικοί παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη.

Πρώτον, το γεγονός ότι κατά τη διαστολή του μπαλονιού μπορεί να λάβει χώρα επιστράτευση της παράπλευρης κυκλοφορίας, που εξ ορισμού δεν αποτελεί ισχαιμική προετοιμασία, συνιστά μεγάλο συγχυτικό παράγοντα, καθώς μπορεί να είναι από μόνη της υπεύθυνη για τη μείωση της ισχαιμίας. Παρόλα αυτά, μελέτες που έλεγξαν την επίδραση της επιστράτευσης της παράπλευρης κυκλοφορίας - με μέτρηση της ροής στη καρδιακή φλέβα, των μεταβολών της ταχύτητας της αιματικής ροής στην αντίπλευρη στεφανιαία αρτηρία και του δείκτη της ροής στα παράπλευρα, τον παραγόμενο από την ενδοστεφανιαία πίεση - έδειξαν ότι, αν και σε κάποιους ασθενείς λαμβάνει χώρα επιστράτευση της παράπλευρης κυκλοφορίας, δεν μπορεί πλήρως να εξηγήσει την παρατηρούμενη μυοκαρδιακή προσαρμογή στην ισχαιμία¹⁸⁰.

Δεύτερον, το σημαντικότερο τελικό σημείο που χρησιμοποιείται σε αυτό το μοντέλο της ισχαιμικής προετοιμασίας, είναι η ελάττωση της ανάσπασης του ST διαστήματος, το οποίο δε θεωρείται ιδιαίτερα αξιόπιστος δείκτης της παρουσίας της ισχαιμικής προετοιμασίας⁴⁸. Η ανάσπαση του ST διαμεσολαβείται κυρίως από τη διάνοιξη των διαύλων K^+_{ATP} του σαρκειλήμματος, που όπως επισημάνθηκε στην ανάπτυξη του σηματοδοτικού καταρράκτη της ισχαιμικής προετοιμασίας, δεν είναι πιθανώς απαραίτητη για την εμφάνιση της προστασίας¹⁸¹.

Δ. Ισχαιμική προετοιμασία στην αορτοστεφανιαία παράκαμψη

Ένα δεύτερο κλινικό σενάριο κατά τον οποίο η μυοκαρδιακή ισχαιμία μπορεί να προγραμματιστεί, αποτελούν οι επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης. Στη περίπτωση αυτή, η ισχαιμική προετοιμασία μπορεί να μελετηθεί αποφεύγοντας το πιθανό συγχυτικό παράγοντα της επιστράτευσης της παράπλευρης κυκλοφορίας, εφαρμόζοντας καθολική, αντί της τοπικής ισχαιμίας.

Έτσι, η υπόθεση ότι η ισχαιμική προπόνηση προσφέρει επιπρόσθετη προστασία κατά την αορτοστεφανιαία παράκαμψη και η πιθανή χρήση της στην κλινική πράξη έχουν εκτενώς μελετηθεί^{18 182}. Οι Yellon και συν.^{19 183} ήταν οι πρώτοι που έδειξαν ότι η εφαρμογή 2 ή 3-λεπτων περιόδων σύγκλεισης της αορτής με λαβίδες(cross-clamping) και επαναιμάτωσης, προ μιας 10-λεπτης περιόδου ισχαιμίας και κοιλιακής μαρμαρυγής, προκαλούν καλύτερη διατήρηση του ATP των μυοκυττάρων της αριστερής κοιλίας και ελαττώνει την μετεγχειρητική απελευθέρωση της τροπονίνης. Σε πιο πρόσφατη μελέτη, που χρησιμοποιήθηκαν ως τελικό σημείο τα επίπεδα του ορού της τροπονίνης T, παρατηρήθηκε ότι οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε πρωτόκολλο ισχαιμικής προετοιμασίας, εμφάνισαν μικρότερη μυοκαρδιακή νέκρωση κατά τη διάρκεια της 10-λεπτης περιόδου καθολικής ισχαιμίας¹⁸⁴.

Ακόμη, καταδείχτηκε βελτίωση του μετεγχειρητικού καρδιακού δείκτη και της ανάγκης για ινότροπη υποστήριξη με 1 λεπτό σύγκλειση της αορτής με λαβίδες/ 5 λεπτά επαναιμάτωσης, πριν από υποθερμική (cold blood) καρδιοπληγία¹⁸⁵. Παρόλα αυτά, άλλες ομάδες δεν κατέδειξαν την ευεργετική επίδραση της ισχαιμικής προετοιμασίας στα

πλαίσια της καρδιοπληγίας¹⁸⁶- ίσως απαιτούνται συγκεκριμένες θερμοκρασίας καρδιοπληγίας για να μπορέσει να λάβει χώρα η προστασία.

Αναφορικά με τη φαρμακολογική προπόνηση, κάποιες μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση αδενοσίνης αντί βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας/επαναιμάτωσης, προ της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, συσχετίστηκε με καλύτερη μετεγχειρητική απόδοση της αριστερής κοιλίας και μικρότερη απελευθέρωση CK-MB ¹⁸⁷, ενώ άλλες μελέτες δεν έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα ¹⁸⁸. Τα αντιφατικά αυτά αποτελέσματα των μελετών με την ισχαιμική και τη φαρμακολογική προπόνηση μπορεί να οφείλονται σε δύο πιθανούς συγκυτικούς παράγοντες. Πρώτον, τη ταυτόχρονη χρήση αναισθητικών που, όπως έχει περιγραφεί, επηρεάζει την ισχαιμική προετοιμασία, ευοδωτικά ή ανασταλτικά. Δεύτερον, υπάρχουν ενδείξεις ότι το η καρδιοπνευμονική παράκαμψη είναι από μόνη ικανή να αυξήσει την αντίσταση του μυοκαρδίου στην ισχαιμία, αφήνοντας λίγο χώρο για επιπρόσθετη προστασία ¹⁸⁹.

V. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ: ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

Από τα παραπάνω δεδομένα φαίνεται ότι το ανθρώπινο μυοκάρδιο είναι επιδεκτικό στην ισχαιμική προετοιμασία, ενώ η πειραματική έρευνα για την αποκάλυψη του μοριακού μηχανισμού της, έχει παράσχει διάφορους στόχους φαρμακολογικής παρέμβασης και έχει συσχετιστεί με τη προσδοκία, ότι η φαρμακολογική προετοιμασία μπορεί σύντομα να εφαρμοστεί στην κλινική πράξη.

Διάφοροι φαρμακευτικοί παράγοντες έχουν δείξει να μιμούνται ή και να ευοδώνουν την ισχαιμική προετοιμασία, όταν εφαρμόζονται αντί της βραχείας περιόδου ισχαιμίας.

Εντούτοις, η επιλογή του κατάλληλου χρόνου που θα εφαρμοστεί η φαρμακευτική προετοιμασία είναι κρίσιμης σημασίας · λόγω των στενών χρονικών ορίων και της παροδικής φύσης της προστασίας είναι σημαντικό, οι φαρμακολογικοί παράγοντες να χορηγηθούν λίγο πριν από το παρατεταμένο επεισόδιο ισχαιμίας. Παρόλα αυτά, η μυοκαρδιακή ισχαιμία, όπως στη περίπτωση των οξέων ισχαιμικών συνδρόμων, σπάνια είναι προγραμματισμένη και επακριβώς προβλέψιμη.

Η πρόωρη επαναιμάτωση παραμένει πάντα, η πιο αποτελεσματική μέθοδος περιορισμού του εμφράγματος του μυοκαρδίου με ανάσπαση του ST διαστήματος και του καθορισμού της πρόγνωσης, αλλά το όφελος από τη χρησιμοποίησή της, ελαττώνεται σημαντικά, καθώς το διάστημα από την έναρξη των συμπτωμάτων μέχρι την εφαρμογή της, αυξάνεται. Η ισχαιμική προετοιμασία μπορεί να παρατείνει το χρονικό παράθυρο που θα πραγματοποιηθούν οι επεμβάσεις επαναιμάτωσης, αλλά η εφαρμογή βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας για την πρόκληση της προστασίας, δεν είναι τις περισσότερες φορές ούτε επιθυμητή, αλλά ούτε και εφικτή.

Οι ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο χωρίς ανάσπαση του ST διαστήματος, συμπεριλαμβανομένης της ασταθούς στηθάγχης, βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο εξέλιξης της βλάβης σε οξεία στεφανιαία απόφραξη, καθώς ένα περίπου 10% αυτών πεθαίνουν ή θα υποστούν οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (ή επανέμφραγμα) μέσα στους επόμενους 6 μήνες, με το 50% αυτών των συμβαμάτων να λαμβάνει χώρα μετά τη πρώιμη φάση ¹⁹⁰. Οι ασθενείς αυτοί συνιστούν μια ομάδα που μπορεί να ωφεληθεί από

τη φαρμακολογική προετοιμασία, καθώς μπορεί να διατηρεί το μυοκάρδιο σε κατάσταση προστασίας για μια περίοδο ημερών ή εβδομάδων· σε περίπτωση που ο ασθενής υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου θα έχει αυξημένη αντίσταση στη νέκρωση, και θα είναι δυνατό να «εξαγοραστεί χρόνος» για την εφαρμογή της επαναιμάτωσης.

Η φαρμακολογική προετοιμασία μπορεί να εφαρμοστεί και στις προγραμματισμένες επεμβάσεις στεφανιαίας αγγειοπλαστικής και αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, όπου ο χρόνος εφαρμογής της, μπορεί με ακρίβεια να καθοριστεί. Παρά την ανάπτυξη ιδιαίτερα αποτελεσματικών μεθόδων μυοκαρδιακής προστασίας κατά τη διάρκεια της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης -συμπεριλαμβανομένων της χημικής καρδιοπληγίας, της υποθερμίας και της σύγκλεισης της αορτής με λαβίδες/κοιλιακής μαρμαρυγής - οι υψηλού κινδύνου ασθενείς, έχουν ανάγκη αυξημένης προστασίας κατά την επέμβαση. Την ίδια ανάγκη έχουν και οι ασθενείς υψηλού κινδύνου που υποβάλλονται σε αγγειοπλαστική των στεφανιαίων, στους οποίους η χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων που προετοιμάζουν το μυοκάρδιο στην ισχαιμία, μπορεί δυνητικά να την παρέχει.

Παρόλα αυτά, λόγω της παροδικής φύσης της προστασίας, πολλές φορές απαιτούνται επαναλαμβανόμενες δόσεις των φαρμακευτικών παραγόντων που μιμούνται την ισχαιμική προετοιμασία για τη διατήρηση της προστασίας. Πειραματικά δεδομένα έδειξαν, ότι μετά από χρόνια φαρμακευτική προετοιμασία με αγωνιστές των A₁ υποδοχέων της αδενοσίνης, η προστατευτική δράση της χάθηκε, λόγω της προς τα κάτω ρύθμισης των υποδοχέων¹⁹¹. φάνηκε όμως, ότι με τη διαλείπουσα χορήγηση τους, το πρόβλημα μπορούσε να παρακαμφτεί¹⁹².

Η αδενοσίνη θεωρείται από τις πιο σημαντικές ουσίες που πυροδοτούν την ισχαιμική προετοιμασία, και στις μελέτες AMISTAD I και II καταδείχτηκε ότι η προσθήκη της στη θρομβολυτική θεραπεία, σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του ST, ελάττωσε σημαντικά το μέγεθος του εμφράγματος¹⁹³¹⁹⁴. Εξάλλου, από τη μελέτη AMISTAD-II, φάνηκε ότι όταν η αδενοσίνη δόθηκε μαζί με την πρώιμη επαναιμάτωση (θρομβολυτική ή με αγγειοπλαστική), μέσα σε 3 ώρες από την έναρξη του πόνου, η θνητότητα στον 1

και στους 6 μήνες και η καρδιακή ανεπάρκεια, ήταν σημαντικά ελαττωμένες. Βέβαια, καθώς η αδενοσίνη χορηγήθηκε μετά την έναρξη της ισχαιμίας, ο ρόλος της φαρμακολογικής προετοιμασίας στην ευνοϊκή επίδραση της αδενοσίνης παραμένει αμφισβητήσιμος, αφού ως ουσία που πυροδοτεί την ισχαιμική προετοιμασία, θα πρέπει να δρα μόνο κατά την αρχική, βραχεία περίοδο ισχαιμίας ¹⁹⁵. Όπως επίσης αναφέρθηκε, η χορήγηση αδενοσίνης προ της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, συνοδεύτηκε από μείωση της ανάγκης για ινóτροπη υποστήριξη μετεγχειρητικά και μείωση της επίπτωσης του εμφράγματος του μυοκαρδίου ¹⁹⁶, ενώ η ενδοστεφανιαία χορήγηση διπυριδαμόλης - που αυξάνει την εξωκυττάρια συγκέντρωση της αδενοσίνης - προ της διαστολής με μπαλόνι κατά την στεφανιαία αγγειοπλαστική, συσχετίστηκε με ελάττωση της στηθάγχης και της μετατόπισης του ST διαστήματος, κατά το χρόνο της διαστολής/απόφραξης με μπαλόνι ¹⁹⁷.

Η βραδυκινίνη αποτελεί επίσης, μια από τις σημαντικές ουσίες που πυροδοτούν την προστασία, και στον άνθρωπο έχει δείχτει να μιμείται την ισχαιμική προετοιμασία σε ένα μοντέλο διαδοχικών αγγειοπλαστικών, καθώς καταδείχτηκε ότι η χορήγηση ενδοστεφανιαίας βραδυκινίνης πριν από τις επεμβάσεις, ήταν το ίδιο αποτελεσματική με την ισχαιμική προετοιμασία · οι ερευνητές πρότειναν ότι το εύρημα αυτό, μπορεί να χρησιμοποιηθεί προφυλακτικά για το μετριασμό της ισχαιμίας στους ασθενείς που υποβάλλονται σε στεφανιαία αγγειοπλαστική ⁶¹.

Άμεσοι αγωνιστές των υποδοχέων της βραδυκινίνης δεν έχουν όμως ακόμη διατεθεί για κλινική χρήση. Εντούτοις, καθώς είναι γνωστό ότι οι αναστολείς των υποδοχέων της αγγειοτασίνης (α-MEA) μπορούν και αυξάνουν τη συγκέντρωση της ενδογενούς βραδυκινίνης, εμποδίζοντας τη διάσπαση της, μελέτες τόσο σε πειραματόζωα όσο και στο ανθρώπινο μυοκάρδιο, έχουν καταδείξει, ότι οι α-MEA μπορούν να ενδυναμώσουν την δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας, όταν χορηγηθούν πριν από το ισχαιμικό ερέθισμα ^{198 199}. Έτσι μελέτες σε πειραματικά μοντέλα έδειξαν, ότι οι α-MEA μπορούν να ενδυναμώσουν ένα υπο-ουδικό ισχαιμικό ερέθισμα -βραχείας διάρκειας, που οδηγεί στην απελευθέρωση κάποιων ή όλων των ουσιών που εμπλέκονται στην ισχαιμική προετοιμασία, αλλά σε συγκεντρώσεις ανεπαρκείς για να πυροδοτήσουν την ισχαιμική προετοιμασία – προκαλώντας μείωση

του μεγέθους του εμφράγματος και της αποπληξίας του μυοκαρδίου, μείωση των αρρυθμιών επαναιμάτωσης και βελτίωση της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας^{200 201 202}. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι αυτή η προστατευτική δράση των α-MEA καταργούταν από τους ανταγωνιστές των B₂ υποδοχέων της βραδυκινίνης^{199 203}. Επίσης, η ομάδα του Yellon²⁰⁴, έδειξε σε χοίρους, σε ένα μοντέλο του δεύτερου παράθυρου της ισχαιμικής προπόνησης σε στεφανιαία αγγειοπλαστική, ότι οι α-MEA επαυξάνουν ένα ήπιο ισχαιμικό ερέθισμα - που από μόνο του δε μπορεί να επάγει ισχαιμική προετοιμασία - ώστε να προκαλεί κατάσταση προστασίας 24 ώρες αργότερα.

Δείχτηκε επίσης, ότι σε απομονωμένες δεσμίδες κοιλιακού μυοκαρδίου που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, η χορήγηση καπτοπρίλης και εναλαπρίλης σε συνδυασμό με ήπιο ισχαιμικό ερέθισμα, συνοδεύτηκε από σημαντική βελτίωση της μετισταμικής ανάνηψης της συσταλτικότητας, ενώ η ευεργετική επίδραση των ως άνω α-MEA αναστράφηκε πλήρως από τη χορήγηση της ικατιμπάνης, ειδικού ανταγωνιστή των υποδοχέων B₂ της βραδυκινίνης¹⁹⁸. Εξάλλου, η δράση αυτή των α-MEA στην ενίσχυση της ισχαιμικής προετοιμασίας, μπορεί να αποτελεί και έναν από τους υπεύθυνους μηχανισμούς για την ευνοϊκή επίδραση αυτών των φαρμάκων στην επίπτωση του καρδιαγγειακού θανάτου και της καρδιακής ανεπάρκειας στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο, όπως καταδείχτηκε στις διάφορες κλινικές μελέτες, όπως η μελέτη HOPE²⁰⁵.

Η δυνατότητα των α-MEA να προσφέρουν προστασία απουσία ερεθίσματος ισχαιμικής προετοιμασίας, είναι περισσότερο αμφιλεγόμενη²⁰⁶. Στις παραπάνω μελέτες, η χορήγηση μόνης είτε της καπτοπρίλης¹⁹⁹, είτε της λισινοπρίλης¹⁹⁸, πριν από το παρατεταμένο επεισόδιο ισχαιμίας, δεν οδήγησε στη προστασία. Τα ευρήματα αυτά, βρίσκονται σε αντίθεση με αυτά άλλων μελετών, όπου η χορήγηση μόνο των α-MEA έδειξε να προστατεύει από τη βλάβη ισχαιμίας/επαναιμάτωσης^{207 208}.

Όσον αφορά τους ανταγωνιστές των AT₁ υποδοχέων της αγγειοτασίνης, αν και αρχικά θεωρούταν ότι δεν επηρεάζουν το σύστημα της καλδικρεΐνης -κινίνης, εντούτοις δείχτηκε πειραματικά, ότι μπορούν να ελαττώνουν το μέγεθος του εμφράγματος, και η δράση αυτή μπορούσε να αποκλειστεί από τους ανταγωνιστές της βραδυκινίνης²⁰⁹. Μια εξήγηση για την ευνοϊκή δράση των ανταγωνιστών

των AT₁ υποδοχέων θα μπορούσε να είναι ότι κατά τον αποκλεισμό των AT₁ υποδοχέων, αυξάνεται η ενεργοποίηση των AT₂ υποδοχέων από την αγγειοτασίνη II. Έχει δειχτεί πρόσφατα, ότι η διέγερση των AT₂ υποδοχέων της αγγειοτασίνης, οδηγεί σε ενεργοποίηση του συστήματος κινίνης-καλλικρεΐνης, και μέσω αυτού, σε διέγερση της απελευθέρωσης βραδυκινίνης²¹⁰.

Καθώς οι μιτοχονδριακοί διάλυτοι K⁺_{ATP} θεωρούνται από τους πιθανότερους τελικούς εκτελεστές της ισχαιμικής προετοιμασίας, πειραματικές και κλινικές μελέτες έχουν διερευνήσει το προστατευτικό ρόλο κυρίως των εκλεκτικών διανοϊκτών τους, όπως της διαζοξιδής, της νικορανδΐλης (υβριδική ουσία με ιδιότητες νιτρωδών και διανοϊκτη των διαύλων K⁺_{ATP}) που είναι και η μοναδική, μέχρι και σήμερα, ουσία που είναι διαθέσιμη για κλινική χρήση. Έτσι, στη μελέτη CESAR 2, η προσθήκη της νικορανδΐλης σε ασθενείς με ασταθή στηθάγχη που λαμβάνανε αντιστηθαγγκική αγωγή με ακετυλοσαλυκυλικό οξύ, β-αναστολείς, διλτιαζέμη και νιτρώδη, συσχετίστηκε με μικρότερη επίπτωση μυοκαρδιακής ισχαιμίας και κοιλιακών αρρυθμιών στις πρώτες 48 ώρες μετά την εισαγωγή στο νοσοκομείο, γεγονός που αποδόθηκε στη επίδραση της νικορανδΐλης²¹¹. Επίσης, τα ευνοϊκά αποτελέσματα της μελέτης IONA, όπου η χορήγηση νικορανδΐλης σε ασθενείς με χρόνια σταθερή στηθάγχη συσχετίστηκε με σημαντική ελάττωση των μείζονων καρδιακών συμβαμάτων, οι ερευνητές τα απέδωσαν πιθανώς, στη δράση της φαρμακολογικής προετοιμασίας από αυτό το διανοϊκτη των διαύλων K⁺_{ATP}²¹². Επίσης δείχτηκε, ότι η χορήγηση ενδοφλέβιας νικορανδΐλης πριν από την αγγειοπλαστική, σε ασθενείς με σταθερή στηθάγχη, συνοδεύτηκε από ελάττωση της μετατόπισης του ST και από αύξηση της ανοχής στην επακόλουθη διαστολή του μπαλονιού^{213 214}.

Εξάλλου, μια εξήγηση για το αυξημένο ποσοστό θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο στους διαβητικούς ασθενείς που λαμβάνουν σουλφονουλourίες - κυρίως την γλιβενκλαμΐδη - μπορεί να αποτελεί ο αποκλεισμός της ισχαιμικής προετοιμασίας από αυτές, αφού είναι γνωστό ότι αποκλείουν τους μιτοχονδριακούς διαύλους K⁺_{ATP}²¹⁵. Έτσι, η αποφυγή χορήγησης αυτών των φαρμάκων σε ασθενείς με προϊούσα στεφανιαία νόσο, θα μπορούσε να αυξήσει την ανοχή στην ισχαιμία και να ελαττώσει την θνησιμότητα και θνητότητα.

Μια άλλη κατηγορία φαρμακευτικών παραγόντων που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τους διαύλους K^+_{ATP} είναι τα πτητικά αναισθητικά, που λόγω της ευκολίας στη χορήγηση τους, αλλά και της δυνατότητας προγραμματισμού των επεμβάσεων, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για πρόιμη καρδιοπροστασία. Σε πειραματικά μοντέλα, το ισοφλουράνιο, το ενφλουράνιο, το αλοθάνιο, το σεβοφλουράνιο έχουν δείξει να μιμούνται την ισχαιμική προετοιμασία, ενώ αντίθετα η θειοπεντάλη και η φαινοβαρβιτάλη να την αναστέλλουν ²¹⁶. Μελέτες που εξέτασαν την επίδραση τους σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη, έδειξαν ότι η χορήγηση ισοφλουρανίου, ενφλουρανίου και σεβοφλουρανίου συνοδεύτηκε από προστασία - όχι πάντα σημαντική - όπως εκτιμήθηκε από τα μετεγχειρητικά επίπεδα της CK-MB και της τροπονίνης I και από τη μετεγχειρητική συστολική λειτουργικότητα ²¹⁷. Εξάλλου, διάφορα οπιοειδή χρησιμοποιούνται στην περιεγχειρητική περίοδο με δράση αγωνιστών των οπιοειδικών υποδοχέων, όπως η φαιντανύλη, η μορφίνη, η ναλοξόνη, που έχουν δείξει να επηρεάζουν την ισχαιμική προετοιμασία ²¹⁸. Η δράση τους δεν έχει εκτιμηθεί ακόμη σε κλινικές μελέτες, αλλά αναμένονται μελέτες με τη χορήγηση εκλεκτικών αγωνιστών των α-οπιοειδικών υποδοχέων - μόνοι τους ή σε συνδυασμό με πτητικά αναισθητικά - σε ασθενείς που θα υποβληθούν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη.

Υπάρχουν επίσης δεδομένα που προτείνουν, ότι οι στατίνες μπορεί να επηρεάζουν την ισχαιμική προετοιμασία, είτε μέσω της αύξησης της παραγωγής αδενοσίνης, είτε μέσω ενεργοποίησης του καταρράκτη της κινάσης της 3-φωσφατιδυλοϊνσιτόλης (PI3K). Δείχτηκε ότι η χορήγηση πραβαστατίνης σε υπερλιπιδαιμικούς ασθενείς με στεφανιαία νόσο για 3 μήνες πριν από τη διενέργεια αγγειοπλαστικής, συνοδεύτηκε από μικρότερη μετατόπιση του ST διαστήματος, λιγότερη στηθάγχη και παραγωγή γαλακτικού κατά τη διάρκεια της πρώτης διαστολής με μπαλόνη και ότι η προστασία αυτή χανόταν μετά από χορήγηση του ανταγωνιστή των υποδοχέων της αδενοσίνης, αμινοφιλλίνης· βέβαια, οι ασθενείς της ομάδας της πραβαστατίνης είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος ²¹⁹.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

A. Σκοπός της μελέτης

Όπως αναπτύχθηκε στο γενικό μέρος της παρούσας διατριβής, το φαινόμενο της στηθάγχης προθέρμανσης έχει συνοδευτεί από αντικειμενικές μετρήσεις βελτίωσης των ισχαιμικών παραμέτρων, σε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης. Έτσι δείχτηκε, ότι οι ασθενείς εμφανίζουν μικρότερης βαρύτητας στηθάγχη και μικρότερη κατάσπαση του ST διαστήματος σε παρόμοιο φορτίο έργου, κατά τη δεύτερη από δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, και έχει προταθεί ότι αυτό μπορεί να οφείλεται σε μια αύξηση της ενδογενούς αντίστασης του μυοκαρδίου στην ισχαιμία, ανάλογη με αυτή της πειραματικής ισχαιμικής προετοιμασίας.

Σε πειραματικό επίπεδο, καταδείχτηκε ότι η βραδυκίνη παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη πυροδότηση της ισχαιμικής προετοιμασίας, απουσία αρχικής ισχαιμικής προσβολής, όσο και στην ενίσχυση της ήδη υπάρχουσας προστασίας. Η καρδιοπροστατευτική δράση της μελετήθηκε και μέσω της χορήγησης των α-MEA, των οποίων η δράση διαμεσολαβείται κατά ένα μέρος, από την αναστολή της διάσπασης της βραδυκίνης.

Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να εξεταστεί το κατά πόσο τα ευρήματα για την ισχαιμική προετοιμασία από το πειραματικό εργαστήριο, μπορούν να εφαρμοστούν στον άνθρωπο. Έτσι στη παρούσα μελέτη, εκτιμήσαμε την επίδραση της αναστολής του MEA σε συνδυασμό με το ισχαιμικό ερέθισμα, σε ένα μοντέλο στηθάγχης προθέρμανσης που περιλάμβανε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης. Αυτό πραγματοποιήθηκε με τη χορήγηση της κουιναπρίλης, ενός αναστολέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης, σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο που είχαν ήδη εμφανίσει στοιχεία ισχαιμικής προπόνησης σε δύο προηγούμενες διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, για να μελετηθεί η επίδραση της σε δύο επόμενες δοκιμασίες κόπωσης, αν δηλαδή ο συγκεκριμένος α-MEA ενδυναμώνει ή όχι την ισχαιμική προετοιμασία.

B. Πληθυσμός της μελέτης

Στη μελέτη συμμετείχαν ασθενείς με στεφανιαία νόσο και ιστορικό σταθερής στηθάγχης, ασταθούς στηθάγχης, εμφράγματος του μυοκαρδίου χωρίς, και με κύμα Q. Οι ασθενείς ήταν ηλικίας από 49 μέχρι 77 ετών.

Όλοι οι ασθενείς είχαν θετική δοκιμασία κόπωσης για στεφανιαία νόσο (οριζόντια ή με κατιούσα φορά κατάσπαση του $ST_{80} > 1\text{mm}$ ή με ανιούσα φορά κατάσπαση του $ST_{80} \geq 1,5\text{mm}$ ή αντικειμενική εμφάνιση στηθάγχης) και αγγειογραφική απόδειξη σημαντικής στεφανιαίας νόσου, με το λιγότερο μία κριτική βλάβη (ελάττωση της εσωτερικής διαμέτρου του αυλού $> 70\%$) στα εγγύς 2/3 μιας μεγάλης επικαρδιακής στεφανιαίας αρτηρίας.

Όλοι οι ασθενείς ήταν νορμοτασικοί, σε φλεβοκομβικό ρυθμό και χωρίς διαταραχές της αγωγιμότητας, ή άλλες ανωμαλίες που θα μπορούσαν να περιπλέξουν την ερμηνεία του ηλεκτροκαρδιογραφήματος (ΗΚΓ). Κανείς ασθενής δεν είχε στοιχεία υπερτροφίας της αριστερής κοιλίας, μυοκαρδιοπάθειας, βαλβιδοπάθειας και καρδιακής ανεπάρκειας. Κανείς ασθενής δεν λάμβανε δακτυλίτιδα.

Γ. Πρωτόκολλο της μελέτης

Στη μελέτη αρχικά συμμετείχαν 95 ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Από αυτούς, οι 25 εμφάνισαν αρνητική δοκιμασία κόπωσης και αποκλείστηκαν από τη μελέτη, οι υπόλοιποι 70 είχαν θετική δοκιμασία και ήταν αυτοί που συνέχισαν στη μελέτη.

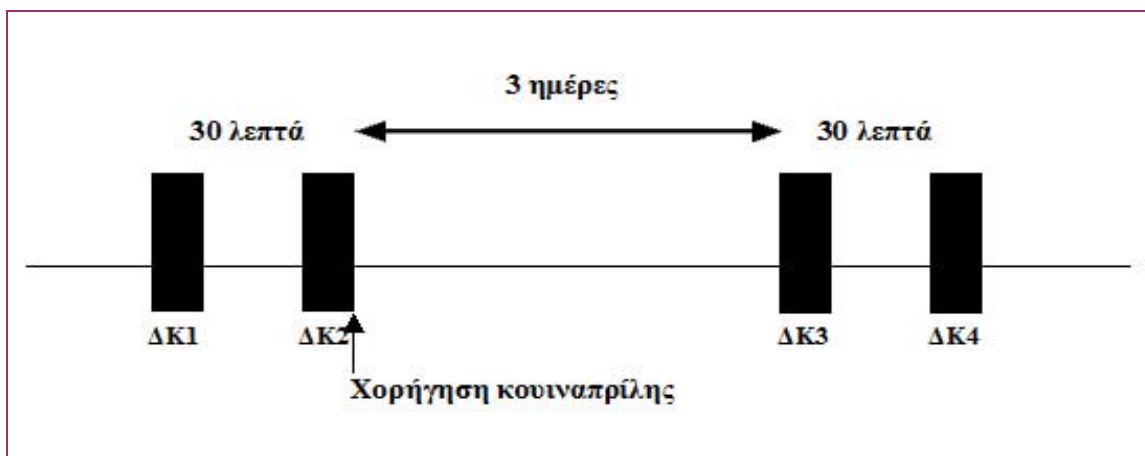
Οι ασθενείς αυτοί συνέχιζαν να ακολουθούν τη συνήθη αντισχαιμική αγωγή τους - συμπεριλαμβανομένων των β-αναστολέων, των ανταγωνιστών ασβεστίου, των νιτροδών, της ασπιρίνης, της κλοπιδογρέλης και της υπολιπιδαιμικής αγωγής- εκτός των α-MEA, των οποίων, αν λαμβάνονταν, προηγούταν διακοπή διάρκειας τεσσάρων ημιπεριόδων ζωής.

Οι ασθενείς πραγματοποίησαν δύο σειρές δοκιμασιών κόπωσης, με μεσοδιάστημα 3 ημερών τη μια από την άλλη. Η πρώτη σειρά πραγματοποιούνταν την 1^η ημέρα και όλοι οι ασθενείς υποβάλλονταν σε δύο διαδοχικές δοκιμασίες κοπώσεως, με μεσοδιάστημα 30 λεπτών η μια από την άλλη. Απαραίτητη προϋπόθεση για τη συνέχιση του πρωτοκόλλου και για τη πραγματοποίηση της δεύτερης σειράς των δοκιμασιών κόπωσης, ήταν οι ασθενείς να παρουσιάσουν στοιχεία ισχαιμικής προπόνησης στη 2^η κόπωση της πρώτης σειράς, έτσι όπως αυτά εκτιμήθηκαν με :

- τη παράταση του συνολικού χρόνου άσκησης
- τη βελτίωση των ισχαιμικών παραμέτρων στο ηλεκτροκαρδιογράφημα
- την ελάττωση της διάρκειας της στηθάγχης

15 ήταν οι ασθενείς που παρουσίασαν στοιχεία ισχαιμικής προπόνησης στη 2^η κόπωση της πρώτης σειράς δοκιμασιών κόπωσης. Οι ασθενείς αυτοί υποβάλλονταν, την ίδια ημέρα, σε αγωγή με έναν αναστολέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης με υψηλή ιστική συγγένεια ²²⁰, την κουιναπρίλη, σε δόση 20mg, μία φορά ημερησίως.

Η δεύτερη σειρά δοκιμασιών κόπωσης πραγματοποιούνταν την 4^η μέρα - 72 ώρες μετά τη 2^η δοκιμασία, για να αποφευχθεί το δεύτερο παράθυρο της ισχαιμικής προετοιμασίας που διαρκεί 24 ως 72 ώρες- και οι ασθενείς υποβάλλονταν και πάλι σε δύο διαδοχικές δοκιμασίες κοπώσεως, με μεσοδιάστημα 30 λεπτών η μια από την άλλη. Έτσι, ο κάθε ασθενής υποβαλλόταν συνολικά σε 4 δοκιμασίες κόπωσης (εικόνα 6).



Εικόνα 6. Σχηματική παράσταση του πρωτοκόλλου της μελέτης (ΔΚ, δοκιμασίες κόπωσης).

Δ. Δοκιμασίες κόπωσης

Όλοι οι ασθενείς υποβάλλονταν στις δοκιμασίες κόπωσης μεταξύ 9-12π.μ, ενώ τους είχαν δοθεί οδηγίες να αποφεύγουν την έντονη άσκηση για 24 ώρες, ή τη λήψη στερεάς τροφής και καφεΐνης για 12 ώρες, πριν την εκτέλεση των δοκιμασιών. Όλες οι δοκιμασίες κοπώσεως πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο Bruce, σε ένα μηχάνημα δοκιμασιών κόπωσης τύπου Scheller Cardiovit CS 200, με μια περίοδο ανάνηψης 10 λεπτών, για να επανεγκαταστήσουν το βασικό ηλεκτροκαρδιογράφημα. Καταγραφές ηλεκτροκαρδιογραφήματος 12 απαγωγών και αρτηριακή πίεση (με σφυγμομανόμετρο) λαμβάνονταν στην αρχή της κόπωσης, με τον ασθενή σε όρθια θέση, κάθε 3 λεπτά κατά τη διάρκεια της κόπωσης, στο μέγιστο της κόπωσης, κάθε 1 λεπτό κατά τη διάρκεια της ανάνηψης, κατά τη κριτική πτώση του ST διαστήματος (οριζόντια ή με κατιούσα φορά κατάσπαση του $ST_{80} > 1\text{mm}$ ή με ανιούσα φορά κατάσπαση του $ST_{80} \geq 1,5\text{mm}$), κατά την έναρξη της στηθάγχης και όποτε υπήρχε κλινική ένδειξη. Τρεις ηλεκτροκαρδιογραφικές απαγωγές παρακολουθούνταν συνεχώς πριν, κατά τη διάρκεια, και μετά την κόπωση και ο μέσος όρος των συμπλεγμάτων QRS όλων των ηλεκτροκαρδιογραφικών απαγωγών εμφανίζονταν συνέχεια στην οθόνη.

Η κατάσπαση του ST διαστήματος, 80 ms μετά το σημείο J, υπολογιζόταν από το μέσο όρο των σημάτων από το ενσωματωμένο στον υπολογιστή σύστημα του Scheller Cardiovit CS 200, αλλά και από δύο παρατηρητές, κυρίως για να επιβεβαιωθεί ότι αρρυθμίες ή διαταραχές της αγωγιμότητας δεν επηρέαζαν τις ως άνω μετρήσεις.

Κριτήρια για τη διακοπή της κόπωσης ήταν:

- η φυσική εξάντληση
- η επίτευξη της συχνότητας στόχου
- το σοβαρό στηθαγικό άλγος
- η κατάσπαση του ST διαστήματος $> 3\text{mm}$
- η εμφάνιση υπότασης, σοβαρών αρρυθμιών και δύσπνοιας

Οι ακόλουθες παράμετροι εκτιμήθηκαν:

- 1.Καρδιακή συχνότητα** (σφύξεις/λεπτό), **αρτηριακή πίεση** (mmHg) και **διπλό γινόμενο** της καρδιακή συχνότητας επί την αρτηριακή πίεση (σφύξεις/λεπτό x mmHg) **στην ηρεμία**
- 2.Καρδιακή συχνότητα, αρτηριακή πίεση και διπλό γινόμενο στο μέγιστο της κόπωσης**
- 3. Συνολικός χρόνος άσκησης, σε δευτερόλεπτα**
- 4. Μέγιστη κατάσπαση του ST διαστήματος, σε mV.**
- 5. Συνολικός χρόνος ισχαιμίας, σε δευτερόλεπτα.** Ως τέτοιος θεωρήθηκε ο συνολικός χρόνος που υπήρχε οριζόντια ή με κατιούσα φορά κατάσπαση του $ST_{80} > 1\text{mm}$ ή με ανιούσα φορά κατάσπαση του $ST_{80} \geq 1,5$ κατά τη διάρκεια της άσκησης και της περιόδου αποκατάστασης
- 6. Διάρκεια της στηθάγχης, σε δευτερόλεπτα.**
- 7. Το Athens QRS score.** Το Athens QRS Score υπολογίστηκε από τη διαφορά των μεγεθών Q, R, S, στις απαγωγές AVF και V_5 πριν και αμέσως μετά την κόπωση:

$$\text{Athens QRS Score} = (\Delta R - \Delta Q - \Delta S)_{AVF} + (\Delta R - \Delta Q - \Delta S)_{V_5}.$$

Το Athens QRS Score αποτελεί ένα δείκτη ανίχνευσης της στεφανιαίας νόσου που βασίζεται στις μεταβολές του μεγέθους του συμπλέγματος QRS κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας κόπωσης. Το Athens QRS Score ελαττώνεται, καθώς ο αριθμός των αποφραγμένων στεφανιαίων αρτηριών αυξάνεται, και τιμές $< 5\text{mm}$ θεωρούνται παθολογικές. Δεν σχετίζεται με τη εμφάνιση ή όχι της κατά την άσκηση ισχαιμικής κατάσπασης του ST διαστήματος, και αρνητικές τιμές (< 0) σχετίζονται πάντα με τη παρουσία στεφανιαίας νόσου. Η ευαισθησία και ειδικότητα του είναι υψηλότερη από αυτή των κυμάτων Q,R και S και από αυτή της κατάσπασης του ST διαστήματος, και έτσι αποτελεί χρήσιμο δείκτη όχι μόνο για τη διάγνωση, αλλά και για την εκτίμηση της βαρύτητας της στεφανιαίας νόσου²²¹.

Ε. Στατιστική ανάλυση

Οι διάφορες παράμετροι παρουσιάζονται ως μέσες τιμές \pm σταθερά απόκλιση. Για τη σύγκριση των ποσοτικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε διπαραγοντική ανάλυση της διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, ενώ για τη σύγκριση των διαφορών των ποσοτικών μεταβλητών η δοκιμασία χ^2 με σύγκριση κατά Yates. Στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι συγκρίσεις στις οποίες η τιμή του p ήταν μικρότερη του 0,05.

II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δεν παρουσιάστηκαν μείζονες επιπλοκές κατά τη διάρκεια του πρωτοκόλλου. Από τους 15 ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια για την ολοκλήρωση της μελέτης, εμφανίζοντας στοιχεία ισχαιμικής προπόνησης στη 2^η δοκιμασία κόπωσης της πρώτης σειράς:

- ο 9 εμφάνισαν βελτίωση των ισχαιμικών παραμέτρων στο ΗΚΓ και παράταση του χρόνου άσκησης
- ο 4 παρουσίασαν ελάττωση της διάρκειας της στηθάγχης και παράταση του χρόνου άσκησης
- ο 2 εμφάνισαν μόνο βελτίωση των ισχαιμικών παραμέτρων στο ΗΚΓ

Από τους 15 ασθενείς, 9 είχαν ιστορικό σταθερούς στηθάγχης, 2 ιστορικό ασταθούς στηθάγχης, 2 είχαν ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου χωρίς κύμα Q και 2 ιστορικό κατωτέρου εμφράγματος με κύμα Q.

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, τα αγγειογραφικά στοιχεία και στοιχεία από τους παράγοντες κινδύνου των ασθενών αυτών για στεφανιαία νόσο, παρουσιάζονται στο **πίνακα 1**.

Στο **πίνακα 2** συνοψίζονται τα ευρήματα της μελέτης, με τις μέσες τιμές των μεταβλητών που μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια της κάθε κόπωσης.

Στο **πίνακα 3** παραθέτονται οι διαφορές των μέσων τιμών των μεταβλητών μεταξύ της 1^{ης} και της 2^{ης} κόπωσης, μεταξύ της 1^{ης} και της 3^{ης} και μεταξύ της 3^{ης} και της 4^{ης} κόπωσης, καθώς και η στατιστική σύγκριση μεταξύ τους.

Τέλος, στο **πίνακα 4** παρατίθεται η στατιστική σύγκριση μεταξύ των διαφορών των διαδοχικών δοκιμασιών κόπωσης ($\delta\Delta K2-\Delta K1$ με $\delta\Delta K4-\Delta K3$, $\delta\Delta K2-\Delta K1$ με $\delta\Delta K3-\Delta K1$, $\delta\Delta K4-\Delta K3$ με $\delta\Delta K3-\Delta K1$), για την εκτίμηση της επίδρασης του υπό μελέτη α -ΜΕΑ.

Πίνακας 1. Δημογραφικά και αγγειογραφικά στοιχεία και παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο των ασθενών της μελέτης

Ηλικία	65,5±7,5
Άρρεν φύλο	100%
Υπέρταση	60%
Υπερλιπιδαιμία	80%
Ιστορικό καπνίσματος	70%
Κριτική στένωση στο πρόσθιο κατιόντα κλάδο της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας*	27%
Κριτική στένωση στο πρόσθιο κατιόντα κλάδο και στην περισπωμένη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας*	13%
Κριτική στένωση στο πρόσθιο κατιόντα κλάδο και στη δεξιά στεφανιαία αρτηρία*	6%
Κριτική στένωση στην περισπωμένη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας και στη δεξιά στεφανιαία αρτηρία*	27%
Κριτική στένωση στο πρόσθιο κατιόντα κλάδο, στην περισπωμένη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας και στη δεξιά στεφανιαία αρτηρία*	27%
*Ως κριτική θεωρήθηκε η στένωση του αγγείου που προκαλούσε >70% στένωση του αυλού	

Πίνακας 2. Ευρήματα στις διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης

	ΔΚ1	ΔΚ2	ΔΚ3	ΔΚ4
Έναρξη κόπωσης				
ΑΠ,mmHg	138,33±14,72	131,33±14,93	128,67±9,53	121,00±11,52
ΚΣ,σφύξεις/λεπτό	62,20±9,45	70,07±9,83	58,33±8,17	65,60±7,83
ΔΓ,σφύξεις/λεπτό x mmHg	8.601,67± 1550,49	9196,00± 1634,50	7525,00± 1318,92	7940,33± 1232,75
Μέγιστο κόπωσης				
ΑΠ,mmHg	186,00±16,16	184,33±15,56	178,00±17,70	181,67±18,09
ΚΣ,σφύξεις/λεπτό	128,53±13,52	136,47±14,48	125,00±19,71	129,27±15,70
ΔΓ,σφύξεις/λεπτό x mmHg	24789,67± 4749,37	25222,3 ± 3844,70	22375,67± 4784,03	22369,00± 6518,11
Χρόνος άσκησης, δευτερόλεπτα	524,00±167,70	542,20±165,41	573,66±138,31	587,60±142,49
Μέγιστη κατάσπαση ST,mV	1,23± 0,94	0,90± 1,15	0,83±1,14	0,80±1,16
Συνολικός χρόνος ισχαιμίας, δευτερόλεπτα	134,60±133,73	66,80±94,18	78,53±100,44	63,86±96,13
Διάρκεια στηθάγχης, δευτερόλεπτα	67,73±113,41	40,53±94,86	25,93±57,60	6,66±25,81
Athens QRS score,mm	0,80±6,43	1,96±5,54	2,46±5,61	1,83±6,28
Οι τιμές είναι οι Μέσες Τιμές ± Σταθερά Απόκλιση ΔΚ δοκιμασία κόπωσης, ΚΣ καρδιακή συχνότητα, ΑΠ αρτηριακή πίεση, ΔΓ διπλό γινόμενο				

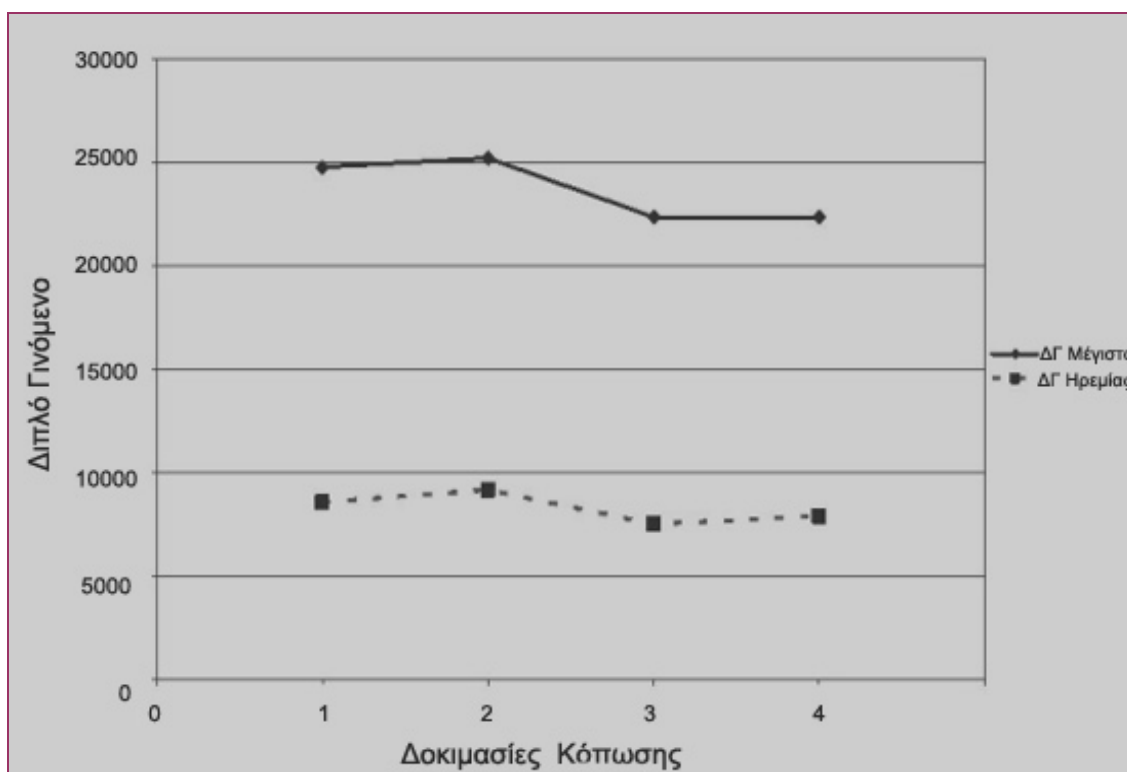
Πίνακας 3. Σύγκριση των διαδοχικών δοκιμασιών κόπωσης

	$\delta\Delta\text{K}2-\Delta\text{K}1$	$\delta\Delta\text{K}3-\Delta\text{K}1$	$\delta\Delta\text{K}4-\Delta\text{K}3$
Έναρξη κόπωσης			
ΑΠ,mmHg	7,00±12,50 p=0,048	9,67±16,98 p=0,037	7,66±10,66 p=0,015
ΚΣ,σφύξεις/λεπτό	7,87±4,85 p=0,001	3,87±9,51 p=0,138	7,27±7,67 p=0,003
ΔΓ,σφύξεις/λεπτό x mmHg	594,33±1071,08 p=0,05	1076,67±1686,08 p=0,027	415,33±1326,18 p=0,245
Μέγιστο κόπωσης			
ΑΠ,mmHg	1,67±6,45 p=0,334	8±8,82 p=0,003	3,67 ±10,93 p=0,215
ΚΣ,σφύξεις/λεπτό	7,93±11,9 p=0,022	3,53±16,3 p=0,415	4,27±15 p=0,289
ΔΓ,σφύξεις/λεπτό x mmHg	432,67±3932,75 p=0,677	2414,00±3996,11 p=0,035	6,67±5483,03 p=0,996
Χρόνος άσκησης, δευτερόλεπτα	18,20±42,32 p=0,57	49,66±55,54 p=0,0048	13,73±48,22 p=0,75
Μέγιστη κατάσπαση ST,mV	0,30±0,81 p=0,28	0,40±0,87 p=0,15	0,03±0,54 p=0,99
Συνολικός χρόνος ισχαιμίας, δευτερόλεπτα	67,80±138,22 p=0,10	53,06±149,72 p=0,22	14,66±74,29 p=0,95
Διάρκεια στηθάγχης, δευτερόλεπτα	27,20±75,32 p=0,64	41,80±105,20 p=0,27	19,26±48,53 p=0,83
Athens QRS score,mm	1,16±3,69 p=0,61	1,66±3,96 p=0,30	0,63±2,29 p=0,90
ΔΚ δοκιμασία κόπωσης, ΚΣ καρδιακή συχνότητα, ΑΠ αρτηριακή πίεση, ΔΓ διπλό γινόμενο Στατιστικά σημαντικό p<0,05			

Πίνακας 4. Σύγκριση των διαφορών των διαδοχικών δοκιμασιών κόπωσης			
	ΔΔΚ2-ΔΚ1 με ΔΔΚ4-ΔΚ3	ΔΔΚ2-ΔΚ1 με ΔΔΚ3-ΔΚ1	ΔΔΚ4-ΔΚ3 με ΔΔΚ3-ΔΚ1
Χρόνος άσκησης	p=0,95	p=0,10	p=0,05
Μέγιστη κατάσπαση ST	p=0,51	p=0,91	p=0,36
Συνολικός χρόνος ισχαιμίας	p=0,32	p=0,94	p=0,50
Διάρκεια στηθάγχης	p=0,95	p=0,84	p=0,66
Athens QRS score	p=0,41	p=0,90	p=0,21
Στατιστικά σημαντικό p<0,05			

A. Αρτηριακή πίεση, καρδιακή συχνότητα και διπλό γινόμενο

Συγκριτικά με τη 3^η κόπωση, η συστολική αρτηριακή πίεση και το διπλό γινόμενο στη 1^η κόπωση, ήταν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερα, τόσο κατά την έναρξη ($9,67 \pm 16,98$ p=0,037 και $1076,67 \pm 1686,08$ p=0,027 αντίστοιχα), όσο και κατά το μέγιστο της κόπωσης ($8 \pm 8,82$ p=0,003 και $2414,00 \pm 3996,11$ p=0,035 αντίστοιχα), αν και η καρδιακή συχνότητα παρέμεινε παρόμοια στις δύο κοπώσεις, τόσο στην έναρξη ($3,87 \pm 9,51$ p=0,138), όσο και στο μέγιστο της κόπωσης ($3,53 \pm 16,3$ p=0,415) (Εικόνα 7).



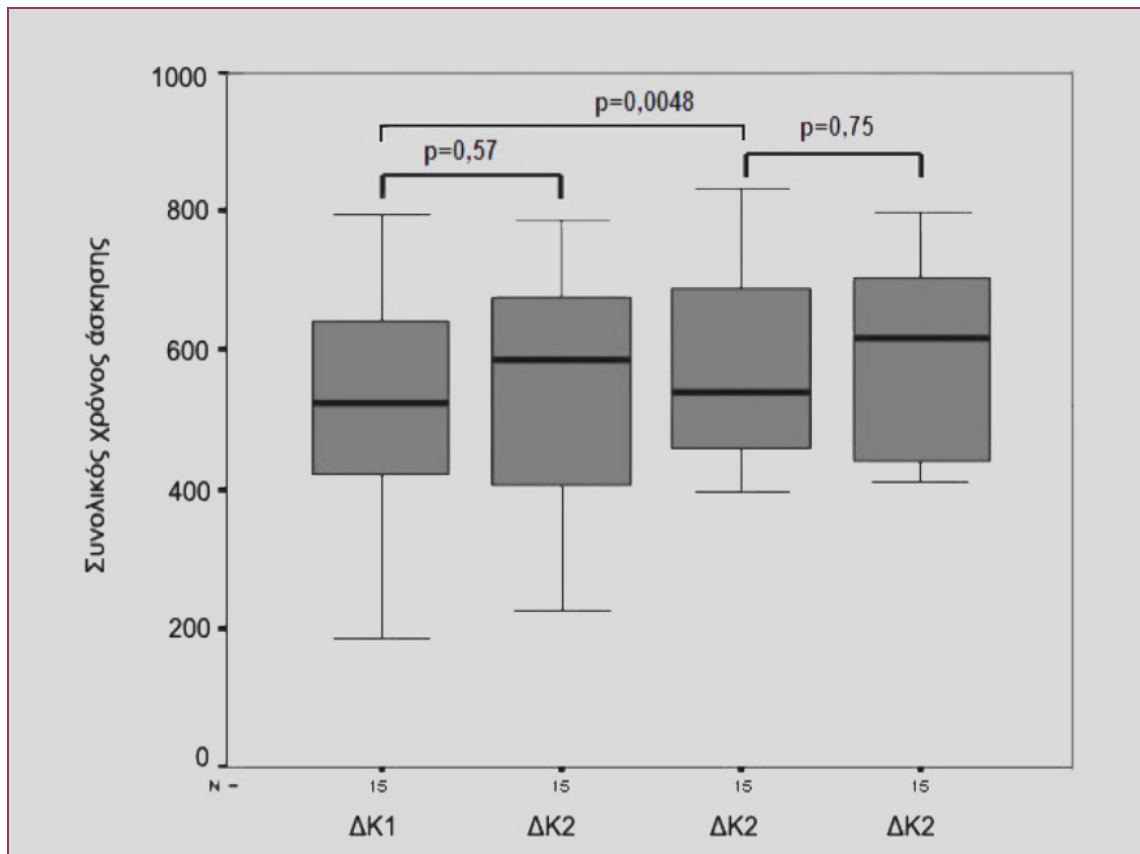
Εικόνα 7. Μέσες τιμές (\pm Σταθερά Απόκλιση) του διπλού γινομένου στην ηρεμία και στο μέγιστο της κόπωσης κατά τη διάρκεια της 1^{ης}, 2^{ης}, 3^{ης} και 4^{ης} δοκιμασίας κόπωσης. Στατιστικά σημαντικό $p < 0,05$

Το διπλό γινόμενο ήταν μεγαλύτερο στη 2^η συγκριτικά με τη 1^η κόπωση, τόσο στην αρχή της κόπωσης, όσο και στο μέγιστο της κόπωσης - και οφειλόταν στην μεγαλύτερη καρδιακή συχνότητα - αλλά άγγιξε τη στατιστική σημαντικότητα μόνο στην αρχή της κόπωσης ($594,33 \pm 1071,08$ $p=0,05$).

Στην έναρξη της κόπωσης, το διπλό γινόμενο ήταν μεγαλύτερο στην 4^η συγκριτικά με την 3^η κόπωση αλλά μη στατιστικά σημαντικό ($415,33 \pm 1326,18$ $p=0,245$), ενώ στο μέγιστο της κόπωσης ήταν παρόμοιο και στις δύο κοπώσεις ($6,67 \pm 5483,03$ $p=0,996$).

B. Συνολικός χρόνος άσκησης

Παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική αύξηση του συνολικού χρόνου άσκησης στη 3^η συγκριτικά με τη 1^η δοκιμασία κόπωσης ($49,66 \pm 55,54$ $p=0.0048$). Παρατηρήθηκε επίσης μια αύξηση του χρόνου άσκησης στη 2^η συγκριτικά με τη 1^η κόπωση ($18,20 \pm 42,32$), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,57$ ns) και μια αύξηση του από τη 3^η στη 4^η κόπωση ($13,73 \pm 48,22$), η διαφορά όμως και εκεί δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,75$ ns) (Εικόνα 8).



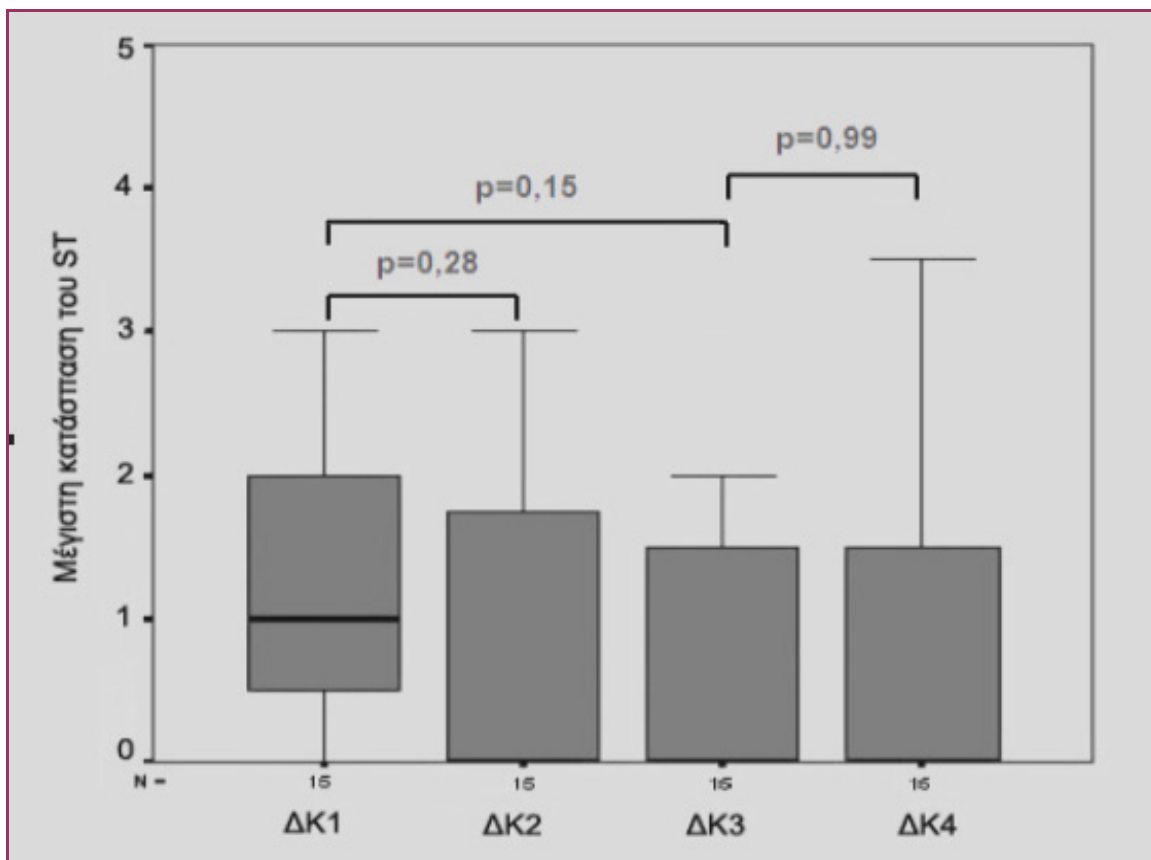
Εικόνα 8. Μέσες τιμές \pm Σταθερά Απόκλιση του συνολικού χρόνου άσκησης κατά τις διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης (ΔΚ1,ΔΚ2,ΔΚ3,ΔΚ4). Στατιστικά σημαντικό $p<0,05$.

Παρατηρήθηκε επίσης, ότι η αύξηση του συνολικού χρόνου άσκησης ήταν μεγαλύτερη στη πρώτη σειρά δοκιμασιών κόπωσης (στη 2^η από τη 1^η κόπωση) συγκριτικά με αυτή που παρατηρήθηκε στη δεύτερη σειρά (στη 4^η από τη 3^η κόπωση), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική (4,46 p=0,95 ns). Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η αύξηση του συνολικού χρόνου άσκησης ήταν μεγαλύτερη στη 3^η από τη 1^η κόπωση συγκριτικά με την αύξηση του στη 4^η από τη 3^η κόπωση, και η διαφορά αυτή άγγιξε τη στατιστική σημαντικότητα (35,93 p=0,05).

Γ. Μέγιστη κατάσπαση του ST διαστήματος

Αναφορικά με τη μέγιστη κατάσπαση του ST διαστήματος, παρατηρήθηκε μια μείωση του στη 2^η συγκριτικά με τη 1^η κόπωση ($0,30 \pm 0,81$), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p=0,28 ns). Παρατηρήθηκε επίσης μια μείωση του στη 4^η συγκριτικά με τη 3^η κόπωση ($0,03 \pm 0,54$), η διαφορά όμως και εκεί δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p=0,99 ns). Δεν παρατηρήθηκε ακόμη, στατιστικά σημαντική μείωση της μέγιστης κατάσπασης του ST στη 3^η σε σχέση με τη 1^η κόπωση ($0,40 \pm 0,87$ p=0,15 ns).

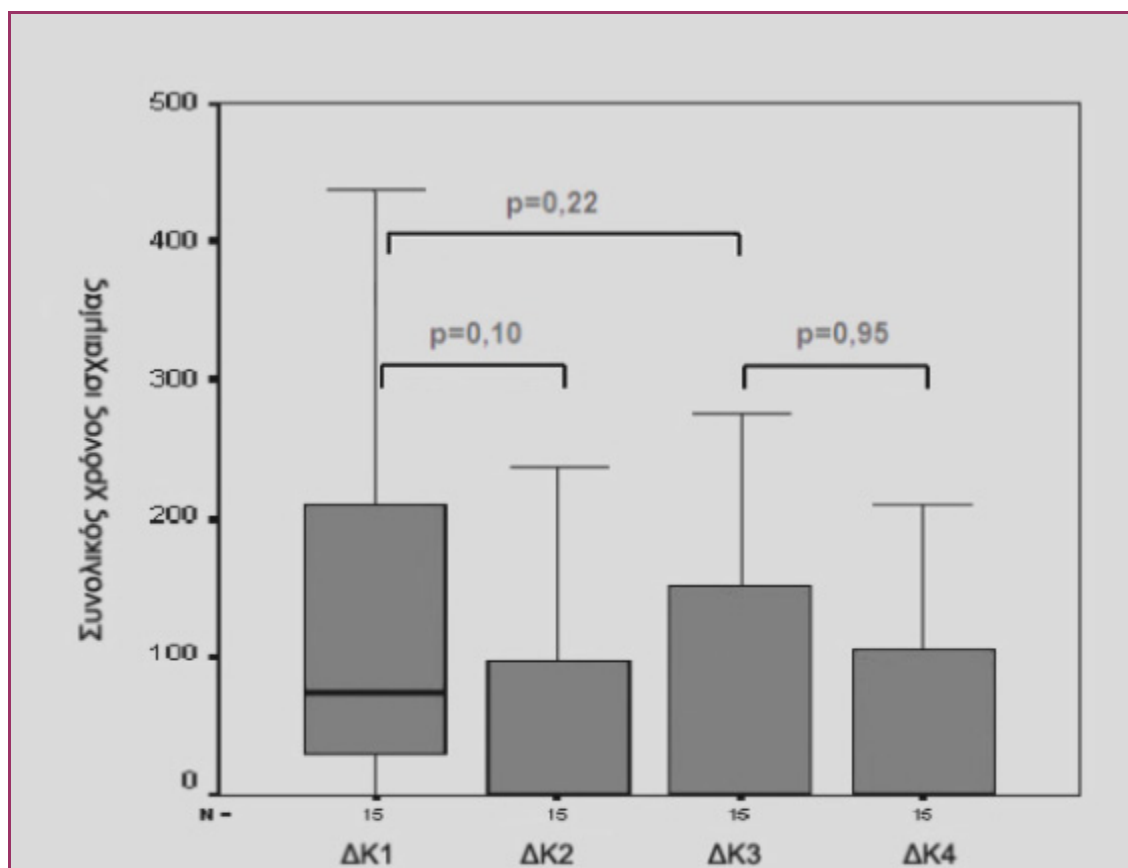
Παρατηρήθηκε επίσης, ότι η μείωση της μέγιστης κατάσπασης του ST ήταν μεγαλύτερη στη πρώτη σειρά δοκιμασιών κόπωσης (στη 2^η σε σχέση με τη 1^η κόπωση), συγκριτικά με αυτή που παρατηρήθηκε στη δεύτερη σειρά δοκιμασιών κόπωσης (στη 4^η σε σχέση με τη 3^η κόπωση), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική (0,26 p=0,51 ns). Η μείωση της μέγιστης κατάσπασης του ST ήταν επίσης μεγαλύτερη στη 3^η από τη 1^η κόπωση, συγκριτικά με τη μείωση του στη 4^η από τη 3^η κόπωση (0,36 p=0,29 ns) και συγκριτικά με τη μείωση στη 2^η από τη 1^η κόπωση (0,1 p=0,91 ns), αλλά οι διαφορές και πάλι δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (**Εικόνα 9**).



Εικόνα 9. Μέσες τιμές ± Σταθερά Απόκλιση της μέγιστης κατάσπασης του ST διαστήματος κατά τις διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης (ΔΚ1,ΔΚ2,ΔΚ3,ΔΚ4). Στατιστικά σημαντικό $p < 0,05$.

Δ. Συνολικός χρόνος ισχαιμίας

Αναφορικά με το συνολικό χρόνο ισχαιμίας, παρατηρήθηκε μια μείωση του στη 2^η σε σχέση με τη 1^η κόπωση ($67,80 \pm 138,22$), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,10$ ns). Παρατηρήθηκε επίσης, μια μείωση του στη 4^η σε σχέση με τη 3^η κόπωση ($14,66 \pm 74,29$), η διαφορά όμως δεν ήταν και εκεί στατιστικά σημαντική ($p=0,95$ ns). Δεν παρατηρήθηκε ακόμη, στατιστικά σημαντική μείωση του συνολικού χρόνου ισχαιμίας στη 3^η συγκριτικά με τη 1^η δοκιμασία ($53,06 \pm 149,72$ $p=0,22$ ns) (Εικόνα 10).



Εικόνα 10. Μέσες τιμές ± Σταθερά Απόκλιση του συνολικού χρόνου ισχαιμίας κατά τις διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης (ΔΚ1,ΔΚ2,ΔΚ3,ΔΚ4). Στατιστικά σημαντικό $p < 0,05$.

Παρατηρήθηκε επίσης ότι μείωση του συνολικού χρόνου ισχαιμίας ήταν μεγαλύτερη στη πρώτη σειρά δοκιμασιών κόπωσης (στη 2^η σε σχέση με τη 1^η κόπωση), συγκριτικά με αυτή που παρατηρήθηκε στη δεύτερη σειρά δοκιμασιών κόπωσης (στη 4^η σε σχέση με τη 3^η κόπωση), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική (53,13 $p=0,32$ ns). Επίσης, η μείωση της μέγιστης κατάσπασης του ST ήταν μεγαλύτερη στη 3^η από τη 1^η κόπωση, συγκριτικά με τη μείωση στη 4^η από τη 3^η κόπωση (41,40 $p=0,50$ ns), αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική και μικρότερη από τη μείωση του στη 2^η από τη 1^η κόπωση (11,73 $p=0,94$ ns), αλλά η διαφορά και πάλι, δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Ε. Διάρκεια στηθάγχης

Όσον αφορά τη διάρκεια της στηθάγχης, παρατηρήθηκε μια ελάττωση της στη 2^η σε σχέση με τη 1^η κόπωση ($27,20 \pm 75,32$), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,64$ ns). Παρατηρήθηκε επίσης, μια ελάττωση της στη 4^η σε σχέση με τη 3^η κόπωση ($19,26 \pm 48,53$), η διαφορά όμως δεν ήταν και εκεί στατιστικά σημαντική ($p=0,83$ ns). Ακόμη, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της διάρκειας της στηθάγχης, στη 3^η συγκριτικά με τη 1^η κόπωση ($41,80 \pm 105,20$ $p=0,27$ ns).

Η μείωση της διάρκειας της στηθάγχης που παρατηρήθηκε ήταν μεγαλύτερη στη πρώτη σειρά δοκιμασιών κόπωσης (στη 2^η σε σχέση με τη 1^η κόπωση), συγκριτικά με αυτή που παρατηρήθηκε στη δεύτερη σειρά δοκιμασιών κόπωσης (στη 4^η σε σχέση με τη 3^η κόπωση), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($7,93$ $p=0,95$ ns). Η μείωση της διάρκειας της στηθάγχης ήταν επίσης μεγαλύτερη στη 3^η από τη 1^η κόπωση, συγκριτικά με τη μείωση στη 4^η από τη 3^η κόπωση ($22,53$ $p=0,66$ ns) και συγκριτικά με τη μείωση στη 2^η από τη 1^η κόπωση ($14,6$ $p=0,84$ ns), αλλά οι διαφορές και πάλι δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

ΣΤ. Athens QRS score

Αναφορικά με το Athens QRS score, παρατηρήθηκε μια αύξηση του στη 2^η σε σχέση με τη 1^η κόπωση ($1,16 \pm 3,69$), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,61$ ns). Παρατηρήθηκε ακόμη, μια μείωση του στη 4^η σε σχέση με τη 3^η κόπωση ($0,25 \pm 2,29$), η διαφορά όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,90$ ns). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του Athens QRS score στη 3^η συγκριτικά με τη 1^η. δοκιμασία ($1,66 \pm 3,96$ $p=0,30$ ns).

Η αύξηση του Athens QRS score που παρατηρήθηκε, ήταν μεγαλύτερη στη 3^η από τη 1^η κόπωση συγκριτικά με την αύξηση του στη 2^η από τη 1^η κόπωση ($0,46$ $p=0,90$ ns), αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

III. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

A. Ευρήματα της μελέτης

Ο αντικειμενικός σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν το να διερευνηθεί το κατά πόσο οι α-MEA μπορούν, σε συνδυασμό με ισχαιμικό ερέθισμα, να ενδυναμώσουν ή όχι την ισχαιμική προετοιμασία.

Στη παρούσα εργασία δεν δείχτηκε η χορήγηση του α-AMEA κουιναπρίλης, να συνοδεύεται από μετριασμό των αντικειμενικών ευρημάτων ισχαιμίας σε αυτό το μοντέλο διαδοχικών κοπώσεων της στηθάγχης προθέρμανσης και από ενδυνάμωση της ισχαιμικής προετοιμασίας. Έτσι, και στις δύο σειρές δοκιμασιών κόπωσης, πριν και μετά τη χορήγηση της κουιναπρίλης, παρουσιάστηκε στη 2^η κόπωση, μια αύξηση του συνολικού χρόνου άσκησης και μια μείωση της μέγιστης κατάσπασης του ST διαστήματος, του συνολικού χρόνου ισχαιμίας και της διάρκειας της στηθάγχης, που δεν δείχτηκε όμως, να επηρεάζονται στατιστικά σημαντικά, από τη χορήγηση της κουιναπρίλης.

Δείχτηκε επίσης, ότι η χορήγηση της κουιναπρίλης, μετά τη ολοκλήρωση της πρώτης σειράς δοκιμασιών κόπωσης και για 3 ημέρες, συνοδεύτηκε από μια σημαντική παράταση του χρόνου άσκησης κατά τη 3^η συγκριτικά με τη 1^η κόπωση. Η βελτίωση αυτή του χρόνου άσκησης, συνοδεύτηκε και από στατιστικά σημαντική μείωση του διπλού γινομένου της αρτηριακής πίεσης με την καρδιακή συχνότητα και της αρτηριακής πίεσης στη 3^η συγκριτικά με τη 1^η κόπωση, τόσο κατά την έναρξη, όσο και στο μέγιστο της κόπωσης.

B. Στηθάγχη προθέρμανσης και ισχαιμική προετοιμασία: μια αμφιλεγόμενη σχέση

Η στηθάγχη προθέρμανσης έχει προταθεί σαν ένα ακόμη μοντέλο ισχαιμικής προετοιμασίας που ισχύει στον άνθρωπο. Όπως αναφέρθηκε, το φαινόμενο αυτό είναι αναγνωρίσιμο στον κλινικό γιατρό ως η ικανότητα του στηθαγγικού ασθενούς να σταματάει την δραστηριότητα που του προκάλεσε στηθάγχη για μικρό χρονικό διάστημα, και έπειτα να την επαναλαμβάνει, στο ίδιο ή και σε ακόμα εντονότερο επίπεδο, χωρίς επανεμφάνιση του πόνου ¹⁵⁶.

Έχει προταθεί, ότι το πρώτο επεισόδιο στηθάγχης προπονεί ισχαιμικά το μυοκάρδιο, καθιστώντας πιο δύσκολη τη πρόκληση ισχαιμίας από ένα επόμενο, ανάλογο ερέθισμα.

Για να αναπαραχθεί το φαινόμενο αυτό σε ελεγχόμενη βάση, πραγματοποιήθηκαν πολλές μελέτες με διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, με τελικό σκοπό την διερεύνηση του υποκείμενου μηχανισμού και την εκτίμηση της όποιας δυνατότητας φαρμακολογικής παρέμβασης, για την επίτευξη προστασίας απέναντι στην ισχαιμία. Έτσι, το φαινόμενο της στηθάγχης προθέρμανσης συνοδεύτηκε από αντικειμενικές μετρήσεις βελτίωσης της ισχαιμίας σε αρκετές μελέτες με διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, όπου οι ασθενείς εμφάνιζαν λιγότερο σοβαρή στηθάγχη και μικρότερη κατάσπαση του ST διαστήματος, σε παρόμοια φόρτιση έργου, στη δεύτερη από τις δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, που πραγματοποιούνταν μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα η μία από την άλλη ⁴⁹. Οι μεταβολές αυτές, όπως αναφέρθηκε, δεν συνοδεύτηκαν από επιστράτευση της παράπλευρης κυκλοφορίας που θα οδηγούσε σε αύξηση της παροχής οξυγόνου στο ισχαιμικό μυοκάρδιο, ενώ δείχτηκε ελάττωση της μυοκαρδιακής κατανάλωσης οξυγόνου κατά τη δεύτερη από τις δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης ¹⁵⁷, προτείνοντας ότι η στηθάγχη προθέρμανσης μπορεί να οφείλεται σε προσαρμογή του μυοκαρδίου που αυξάνει την ανοχή στην ισχαιμία, μια διαδικασία που μοιάζει πολύ με την ισχαιμική προετοιμασία.

Παρόλα αυτά, μελέτες που εξέτασαν τους κυτταρικούς μηχανισμούς που διαμεσολαβούν για τη στηθάγχη προθέρμανσης, χρησιμοποιώντας ουσίες ή φαρμακευτικούς παράγοντες που αποδεδειγμένα μιμούνται ή αποκλείουν την ισχαιμική προετοιμασία, έδωσαν αντιφατικά αποτελέσματα, και δεν υποστηρίζουν

πλήρως την υπόθεση, ότι η στηθάγχη προθέρμανσης και η ισχαιμική προετοιμασία μοιράζονται κοινούς παθογενετικούς μηχανισμούς.

Για παράδειγμα, οι Kelion και συν.¹⁶⁰ μελέτησαν την επίδραση του GR79236, ενός εκλεκτικού αγωνιστή των υποδοχέων A_1 της αδενοσίνης – που σε κουνέλια και χοίρους έχει δείξει να μιμείται τη δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας²²² - σε μια μελέτη με 25 ασθενείς με πολυαγγειακή στεφανιαία νόσο, που υποβλήθηκαν σε δύο ανάλογες διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, με μεσοδιάστημα 30 λεπτών η μια από την άλλη. Καταδείχτηκε, ότι η έναρξη της στηθάγχης ή της 1mm κατάσπασης του ST διαστήματος καθυστέρησε και παρατηρήθηκε σε υψηλότερο διπλό γινόμενο κατά τη 2^η δοκιμασία κόπωσης, τόσο μετά τη χορήγηση του GR79236, όσο και μετά τη χορήγηση του εικονικού φαρμάκου. Σημαντικότερο, η χορήγηση του GR79236 δεν επηρέασε στατιστικά σημαντικά τους παραπάνω δείκτες, δείχνοντας ότι η αδενοσίνη - που αποτελεί αποδεδειγμένα μια από τις κύριες ουσίες που πυροδοτούν την ισχαιμική προετοιμασία - δεν φαίνεται μάλλον να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο φαινόμενο αυτό.

Κατά τρόπο ανάλογο, οι Tomai και συν.²²³, έδειξαν ότι η χορήγηση της μπαμιφιλλίνης, ενός εκλεκτικού ανταγωνιστή των A_1 υποδοχέων της αδενοσίνης, δεν συνοδεύτηκε από αποκλεισμό της στηθάγχης προθέρμανσης, ενώ οι ίδιοι ερευνητές είχαν δείξει σε μελέτες στεφανιαίας αγγειοπλαστικής, ότι η μπαμιφιλλίνη είχε καταργήσει την προστασία που είχε επιτευχθεί μετά από την ισχαιμική προετοιμασία με τη πρώτη διαστολή του μπαλονιού¹⁶⁷. Προτάθηκε και πάλι, ότι η απουσία της όποιας επίδρασης των ανταγωνιστών της αδενοσίνης στη στηθάγχη προθέρμανσης, είναι δηλωτική του ότι οι μηχανισμοί της και αυτοί της ισχαιμικής προετοιμασίας, είναι διακριτοί.

Αντικρουόμενα αποτελέσματα έδωσε επίσης η μελέτη του ρόλου των διαύλων K^+_{ATP} , καθώς σε άλλες μελέτες η χορήγηση των κλασσικών αποκλειστών των διαύλων K^+_{ATP} καταργούσε -εν μέρει τουλάχιστον- τη στηθάγχη προθέρμανσης, ενώ σε άλλες μελέτες δεν συνοδευόταν από αναστολή της.

Έτσι, οι Tomai και συν.¹⁶⁸, εξέτασαν την επίδραση της γλιβενκλαμίδης, ενός αποκλειστή των διαύλων K^+_{ATP} που έχει δείξει να αποκλείει την ισχαιμική προετοιμασία σε πειραματικές αλλά και σε κλινικές μελέτες^{224 225}. 26 ασθενείς

με στεφανιαία νόσο, τυχαιοποιήθηκαν στο να λάβουν γλιβενκλαμίδη ή εικονικό φάρμακο και υποβλήθηκαν σε δύο ανάλογες διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, με μεσοδιάστημα 30 λεπτών η μια από την άλλη. Τα αποτελέσματα ήταν κατά κάποιο τρόπο διφορούμενα, καθώς η χορήγηση της γλιβενκλαμίδης, συνοδεύτηκε από κατάργηση της βελτίωσης του ισχαιμικού ουδού (που εκφράζεται από το διπλό γινόμενο της αρτηριακής πίεσης επί τη καρδιακή συχνότητα στο 1mm κατάσπασης του ST), αλλά δεν απέκλεισε τη βελτίωση στην ανοχή στη ισχαιμία κατά τη 2η δοκιμασία κόπωσης. Οι Τομαί και συν. αποφάνθηκαν ότι η απουσία της βελτίωσης του ισχαιμικού ουδού στην ομάδα της γλιβενκλαμίδης, είναι σύμφωνη με την, παρατηρηθείσα σε πειραματικά μοντέλα και κλινικές μελέτες, κατάργηση της προστατευτικής δράσης της ισχαιμικής προετοιμασίας με τον αποκλεισμό των διαύλων K^+_{ATP} . Απέδωσαν την παραμονή της αύξησης της ανοχής στη κόπωση στη 2^η δοκιμασία στην ομάδα της γλιβενκλαμίδης, σε διάφορους σύνθετους παράγοντες ανεξάρτητους της ισχαιμικής προετοιμασίας, όπως η «επίδραση της εκπαίδευσης» στην άσκηση και σε μεταβολές στη περιφέρεια, και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η στηθάγχη προθέρμανσης μπορεί να αποτελεί ένα κλινικό μοντέλο της ισχαιμικής προετοιμασίας, που, εν μέρει τουλάχιστον, διαμεσολαβείται από την ενεργοποίηση των διαύλων K^+_{ATP} .

Τα παραπάνω ευρήματα δεν ήταν σύμφωνα με αυτά των Correa και Schaefer ¹⁶⁹. Στην μελέτη τους, 10 ασθενείς με στεφανιαία νόσο, υποβλήθηκαν σε δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, με μεσοδιάστημα 15 λεπτών η μια από την άλλη, αφού προηγούμενα είχαν τυχαιοποιηθεί στο να λάβουν γλιβενκλαμίδη ή εικονικό φάρμακο. Μια εβδομάδα αργότερα, τυχαιοποιήθηκαν έτσι, ώστε να λάβουν το φάρμακο που δεν είχαν λάβει μια εβδομάδα νωρίτερα, και κατόπιν υποβλήθηκαν σε άλλες δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης · με το τρόπο αυτό κάθε ασθενής ήταν μάρτυρας του εαυτού του, και απροσδιόριστοι περιφερικοί παράγοντες ήταν αντιπαραθέσιμοι. Η μέγιστη κατάσπαση του ST μειώθηκε παρόμοια και στις δύο ομάδες, της γλιβενκλαμίδης και του εικονικού φαρμάκου. Το διπλό γινόμενο στο μέγιστο της κόπωσης, αυξήθηκε και στις δύο ομάδες, αν και η μεταβολή στην ομάδα της γλιβενκλαμίδης, μόλις στερήθηκε της στατιστικής σημαντικότητας ($p=0,07$). Φάνηκε συνεπώς, ότι η δυνατότητα της γλιβενκλαμίδης να τροποποιεί το φαινόμενο της στηθάγχης προθέρμανσης είναι λιγότερο από πλήρης, και καθώς

η γλιβενκλαμίδη έχει αποδείξει ότι επηρεάζει την ισχαιμική προετοιμασία σε πειραματικά μοντέλα και σε κλινικές μελέτες, τέθηκε το θέμα, το κατά πόσο η στηθάγχη προθέρμανσης συσχετίζεται με την ισχαιμική προετοιμασία. Έτσι, σε αντίθεση με προηγούμενα δεδομένα, που έδειχναν περιορισμό της προσαρμοστικής απάντησης, με τον αποκλεισμό των διαύλων K^+_{ATP} πριν από την ισχαιμία που προκαλούταν από την πλήρη διακοπή της ροής – όπως στις μελέτες της στεφανιαίας αγγειοπλαστικής - η χορήγηση γλιβενκλαμίδης στην ως άνω μελέτη, δεν επηρέασε τη προσαρμοστική απάντηση, υπό τις συνθήκες της ισχαιμίας αυξημένων αναγκών. Οι μελετητές κατέληξαν ότι οι συνθήκες της ισχαιμίας αυξημένων αναγκών, με τη διατήρηση της ροής και πιθανώς, με τις υψηλότερες τοπικές συγκεντρώσεις ATP, μπορεί να περιορίσουν το ρόλο της διάνοιξης των διαύλων K^+_{ATP} - καθώς απαιτείται μια 25% ελάττωση του ATP για την ενεργοποίηση και διάνοιξη των διαύλων K^+_{ATP} για την προσαρμοστική απάντηση στην ισχαιμία²²⁶ -και συμπέραναν, ότι η στηθάγχη προθέρμανσης οφείλεται σε άλλους, από την ισχαιμική προετοιμασία, μηχανισμούς.

Έτσι, τα παραπάνω δεδομένα και τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, με την αδυναμία της κουιναπρίλης να επηρεάσει την στηθάγχη προθέρμανσης, μπορεί να εξηγηθούν και από την υπόθεση που είχε προτείνει ο Tomai²²⁷, ότι «η ισχαιμική προετοιμασία μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο για τη στηθάγχη προθέρμανσης, αλλά μηχανιστικά είναι διακριτός από την ισχαιμική προετοιμασία που προκαλείται από την αιφνίδια διακοπή της προσφοράς οξυγόνου», όπως παραδείγματος χάριν στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, ή όπως εξετάστηκε σε μελέτες στεφανιαίας αγγειοπλαστικής και αορτοστεφανιαίας παράκαμψης .

Επομένως, και σε συμφωνία με τα ευρήματα της παρούσης μελέτης, αν και θεωρητικά φαίνεται, ότι το φαινόμενο της στηθάγχης προθέρμανσης μπορεί να οφείλεται σε ευνοϊκή προσαρμογή του μυοκαρδίου στην ισχαιμία, δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο, εάν αποτελεί ένα κλινικό μοντέλο ισχαιμικής προετοιμασίας, ή αν τελικά άλλοι μηχανισμοί είναι υπεύθυνοι.

Γ. α-MEA και ισχαιμική προετοιμασία

Οι α-MEA προκαλούν αγγειοδιαστολή και έχουν ευνοϊκή επίδραση στη κοιλιακή τοιχωματική τάση και στην αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας. Επίσης, αυξάνουν τη συγκέντρωση της βραδυκινίνης, μέσω αναστολής της διάσπασης της, η οποία έχει αγγειοδιασταλτική, νατριουρητική, αντιθρομβωτική δράση, ενώ ο ρόλος της στη κυτταρική ανάπτυξη και διαίρεση είναι σημαντικός²²⁸.

Επιπλέον, όπως διεξοδικά αναφέρθηκε στο γενικό μέρος, οι α-MEA, μέσω αύξησης της συγκέντρωσης της ενδογενούς βραδυκινίνης, έχουν καταδείξει τόσο σε πειραματικές όσο και σε κλινικές μελέτες σε απομονωμένο μυοκάρδιο, αλλά και στη στεφανιαία αγγειοπλαστική, ότι μπορούν να ενδυναμώσουν την δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας, όταν χορηγηθούν πριν από το ισχαιμικό ερέθισμα^{198 199}.

Εντούτοις, στην παρούσα μελέτη η χορήγηση του α-MEA κουιναπρίλης, δεν συνοδεύτηκε στη δεύτερη σειρά δοκιμασιών κόπωσης, από μετριασμό των αντικειμενικών ευρημάτων ισχαιμίας σε αυτό το μοντέλο της στηθάγχης προθέρμανσης και από ενδυνάμωση της ισχαιμικής προετοιμασίας, που είχε ήδη επιτευχθεί στις δύο πρώτες διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με τη σχετικά πρόσφατη μελέτη των Marber και συν.²²⁹, που προσπάθησαν να προσδιορίσουν εάν οι α-MEA και οι διανοίκτες των διαύλων K^+_{ATP} μπορούν να επηρεάσουν τη στηθάγχη προθέρμανσης. Στη μελέτη αυτή, 20 ασθενείς με στεφανιαία νόσο τυχαιοποιήθηκαν διπλά, τυφλά, διασταυρούμενα να λάβουν ισοδύναμες δόσεις νικορανδύλης 20mg δύο φορές την ημέρα, εναλαπρίλης 10mg δύο φορές την ημέρα, λοσαρτάνης (ανταγωνιστής των AT_1 υποδοχέων της αγγειοτασίνης, που επιλέχτηκε αρχικά ως έλεγχος για τη πτώση της πίεσης και τη δράση στον άξονα ρενίνη/αγγειοτασίνη της εναλαπρίλης) και εικονικού φαρμάκου για 3 ημέρες. Οι ασθενείς ολοκλήρωσαν τέσσερις σειρές δοκιμασιών κόπωσης, με μεσοδιάστημα μιας εβδομάδας της μιας από την άλλη. Στη κάθε σειρά, ο ασθενής υποβαλλόταν σε τρεις διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, και βρισκόταν υπό διαφορετικό φαρμακευτικό παράγοντα κάθε φορά, έτσι ώστε ήταν ο μάρτυρας του εαυτού του· με τον τρόπο αυτό, ο κάθε ασθενής υποβλήθηκε συνολικά σε 12 δοκιμασίες κόπωσης.

Η 2^η δοκιμασία πραγματοποιούνταν σε 15 λεπτά από τη 1^η, και η 3^η σε 90 λεπτά από τη 2^η δοκιμασία. Ο χρόνος μέχρι το 1mm κατάσπασης του ST διαστήματος και το διπλό γινόμενο στο 1mm κατάσπασης του ST, αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά στη 2^η δοκιμασία συγκριτικά με τη 1^η, σε όλες τις ομάδες των φαρμάκων και έτσι, δεν δείχτηκε να επηρεάζεται από τη χορήγηση της εναλαπρίλης. Το μόνο όφελος που έδειξε η εναλαπρίλη, ήταν ότι παράτεινε το παράθυρο της προστασίας, καθώς παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του χρόνου μέχρι το 1mm κατάσπασης του ST διαστήματος και του διπλού γινομένου στο 1mm κατάσπασης του ST στη 3^η δοκιμασία, ενώ στις ομάδες της νικορανδίνης, της λοσαρτάνης και του εικονικού φαρμάκου, κατά τη 3^η δοκιμασία, οι παραπάνω μεταβλητές επανέρχονταν στα επίπεδα της 1^{ης} δοκιμασίας. Έτσι, στη μελέτη αυτήν καταδείχτηκε ότι το μέγεθος της στηθάγχης προθέρμανσης δεν μεταβλήθηκε από τη χορήγηση της εναλαπρίλης και οι μελετητές αποφάνθηκαν ότι η ισχαιμική προετοιμασία και η στηθάγχη προθέρμανσης, έχοντας διαφορετικό προφίλ απάντησης σε φαρμακολογικούς παράγοντες, διαθέτουν πιθανώς διαφορετικούς υποκείμενους μηχανισμούς.

Επιπλέον, στην παρούσα μελέτη της επίδρασης της κουιναπρίλης στην στηθάγχη προθέρμανσης, η αδυναμία του συγκεκριμένου α-MEA να ενδυναμώσει στη δεύτερη σειρά των διαδοχικών δοκιμασιών την, ήδη διαπιστωθείσα στη πρώτη σειρά, βελτίωση των αντικειμενικών μετρήσεων της ισχαιμίας, εγείρει τη πιθανότητα ότι η εφαρμογή επιπλέον ερεθίσματος, πάνω από τον ουδό πρόκλησης της ισχαιμικής προετοιμασίας, δεν αυξάνει προσθετικά την προστασία του μυοκαρδίου απέναντι στην ισχαιμία. Αναφέρθηκε ήδη, ότι η ισχαιμική προετοιμασία ακολουθεί μια πολύ υπερβολική καμπύλη δόσης-απάντησης, και άπαξ και επιτευχθεί η μέγιστη απάντηση, περαιτέρω διέγερση δεν έχει κανένα επιπρόσθετο αποτέλεσμα, δίνοντας την εντύπωση ενός «όλου ή ουδενός» φαινόμενου²³⁰.

Δ. Βελτίωση της ικανότητας για άσκηση: ευνοϊκή επίδραση των α-MEA

Στη παρούσα μελέτη δείχτηκε, ότι η χορήγηση της κουιναπρίλης μετά την ολοκλήρωση της πρώτης σειράς δοκιμασιών κόπωσης και για 3 ημέρες, συνοδεύτηκε από σημαντική παράταση του χρόνου άσκησης κατά τη 3^η, συγκριτικά τη 1^η κόπωση. Η βελτίωση του χρόνου άσκησης συνοδεύτηκε επίσης και από στατιστικά σημαντική μείωση του διπλού γινομένου της αρτηριακής πίεσης με την καρδιακή συχνότητα και της αρτηριακής πίεσης, στη 3^η συγκριτικά με τη 1^η κόπωση.

Η παράταση του χρόνου άσκησης στη 3^η, συγκριτικά με τη 1^η άσκηση μπορεί να οφείλεται στην ευνοϊκή δράση των α-MEA στην βελτίωση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής. Το αγγειακό ενδοθήλιο χρησιμεύει ως σημαντικός ρυθμιστής του αγγειακού τόνου μέσω της σύνθεσης και απελευθέρωσης οξειδίου του αζώτου (NO), το οποίο παίζει κεντρικό ρόλο στη διατήρηση ικανοποιητικής αγγειακής απάντησης στις αυξημένες απαιτήσεις ροής, κατά τη διάρκεια της άσκησης. Η ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή εξαρτάται από την ακεραιότητα του ενδοθηλίου, και η στεφανιαία αθηροσκλήρυνση έχει συσχετιστεί με προοδευτική επιδείνωση της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου, που οφείλεται σε ελαττωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO, λόγω της αυξημένης παραγωγής υπεροξειδίων στο αγγειακό τοίχωμα ²³¹.

Το σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ²³², και πρώιμα αναδείχτηκε σε πειραματικό επίπεδο, η ευεργετική επίδραση των α-MEA στην ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, κυρίως μέσω της ελάττωσης της παραγωγής της αγγειοτασίνης II και του περιορισμού της ενεργοποίησης των AT₁ υποδοχέων της αγγειοτασίνης και της αναστολής της διάσπασης της βραδυκινίνης, που επιτρέπει την αύξηση της διέγερσης των B₂ υποδοχέων της βραδυκινίνης και την επακόλουθη αύξηση της απελευθέρωσης του NO ²³³.

Οι αγγειοδιασταλτικές δράσεις των α-MEA οδηγούν σε βελτίωση της αιμοδυναμικών παραμέτρων της κεντρικής κυκλοφορίας και της αγγειοδιασταλτικής εφεδρείας, και σε αύξηση της αιματικής ροής στους σκελετικούς μύες, λόγω μείωσης των περιφερικών αγγειακών αντιστάσεων. Επίσης, προκαλούν μεταβολές

της ενεργειακής κατάστασης των μυών, που οδηγούν σε μικρότερη αναερόβια συμμετοχή στην παραγωγή ενέργειας, κάνοντας πιο αποδοτική τη χρησιμοποίηση του καρδιακού έργου και σε μείωση των μυοκαρδιακών αναγκών σε οξυγόνο ^{234 235}.

Στην μείωση του μεταφορτίου από τη δράση των α-MEA, μπορεί να αποδοθεί και η παρατηρηθείσα ελάττωση του διπλού γινομένου στη 3^η, συγκριτικά με τη 1^η κόπωση. Το διπλό γινόμενο αποτελεί αξιόπιστο δείκτη των μυοκαρδιακών αναγκών σε οξυγόνο κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας κόπωσης σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο ²³⁶. Η αύξηση της καρδιακής συχνότητας αιτιολογεί μόνο κατά ένα μέρος την αύξηση της στεφανιαίας ροής κατά τη διάρκεια της κόπωσης ²³⁷ και αν και η καρδιακή συχνότητα συσχετίζεται με τη μυοκαρδιακή κατανάλωση οξυγόνου ²³⁸, η προσθήκη της αρτηριακής πίεσης δημιουργεί ένα πιο περιεκτικό δείκτη του μεταβολικού φορτίου του μυοκαρδίου.

Το αποτέλεσμα της παρούσας εργασίας έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα πρώιμων μελετών σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια ποικίλης αιτιολογίας, συμπεριλαμβανομένης της στεφανιαίας νόσου, όπου είχε αναδειχτεί βελτίωση του χρόνου άσκησης σε απάντηση στην οξεία και χρόνια χορήγηση α-MEA, τόσο της εναλαπρίλης όσο και της καπτοπρίλης ^{239 240}. Εξάλλου, η χορήγηση 40mg κουϊναπρίλης σε νορμοτασικούς ασθενείς με στεφανιαία νόσο, που δεν είχαν καρδιακή ανεπάρκεια, συνοδεύτηκε από βελτίωση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής, 6 μήνες μετά ²⁴¹. Ακόμη, σε μελέτη που εξετάστηκε ο ρόλος της οξείας χορήγησης κουϊναπρίλης σε ασθενείς με στεφανιαία ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, δείχτηκε ότι η ενδοστεφανιαία χορήγηση της, συνοδεύτηκε από σημαντική βελτίωση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής ²⁴².

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το φαινόμενο της ισχαιμικής προετοιμασίας του μυοκαρδίου δείχνει ότι καρδιοπροστασία απέναντι στην ισχαιμική βλάβη, είναι πράγματι δυνατή.

Μετά από δύο δεκαετίες εντατικής έρευνας και αν και έχει γίνει μεγάλη πρόοδος στην αποκάλυψη σημαντικού μέρους της σηματοδοτικής οδού της ισχαιμικής προετοιμασίας, η κατανόηση του ενδογενούς μηχανισμού με την οποία το μυοκαρδιακό κύτταρο αυξάνει την ανοχή του στην ισχαιμία, δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί. Εντούτοις, η ερευνητική δραστηριότητα προσέφερε τη δυνατότητα της προστασίας του μυοκυττάρου σε πειραματικό επίπεδο και της ταυτοποίησης φαρμακολογικών παραγόντων, που μπορούν να μιμηθούν, αλλά και να ενδυναμώσουν την προστασία της ισχαιμικής προετοιμασίας.

Οι κλινικές μελέτες έδειξαν ότι το ανθρώπινο μυοκάρδιο είναι επιδεκτικό στην ισχαιμική προετοιμασία και έγιναν με τη προσδοκία, ότι φαρμακολογικοί μιμητές της μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην κλινική πράξη, εφαρμοζόμενοι αντί της βραχείας περιόδου ισχαιμίας. Όμως, δεοντολογικοί περιορισμοί που αφορούν τα τελικά σημεία εκτίμησης της ισχαιμικής προετοιμασίας στον άνθρωπο, μεθοδολογικά προβλήματα και αντικρουόμενα αποτελέσματα κάνουν, μέχρι και σήμερα, επιφυλακτική την αξιοποίηση της φαρμακολογικής προετοιμασίας στον στεφανιαίο ασθενή

Διάφοροι φαρμακευτικοί παράγοντες έως τώρα έχουν δείξει να μιμούνται και να ενδυναμώνουν την ισχαιμική προετοιμασία · μεταξύ αυτών οι α-MEA, που σε πειραματικό επίπεδο, αλλά και *in vitro* στο ανθρώπινο μυοκάρδιο, έχουν δείξει ότι μπορούν να ενδυναμώνουν την ισχαιμική προετοιμασία.

Ο σκοπός αυτής της μελέτης, ήταν να εξεταστεί το κατά πόσο τα έως τώρα ευρήματα για τη δράση ενίσχυσης της ισχαιμικής προετοιμασίας των α-MEA, μπορούν να εφαρμοστούν σε ένα μοντέλο στηθάγχης προθέρμανσης που περιλάμβανε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, το κατά πόσο δηλαδή μπορεί ο α-MEA κουιναπρίλη, να επηρεάσει τα αντικειμενικά ευρήματα της ισχαιμίας και να ενδυναμώσει την ισχαιμική προετοιμασία.

Στη παρούσα μελέτη:

- Η χορήγηση της κουιναπρίλης δεν συνοδεύτηκε από μετριασμό των αντικειμενικών ευρημάτων ισχαιμίας σε αυτό το μοντέλο της στηθάγχης προθέρμανσης.
- Η χορήγηση της κουιναπρίλης, μετά τη ολοκλήρωση της πρώτης σειράς δοκιμασιών κόπωσης και για 3 ημέρες, συνοδεύτηκε από σημαντική παράταση του χρόνου άσκησης κατά τη 3^η συγκριτικά με τη 1^η κόπωση και από σημαντική ελάττωση του διπλού γινομένου και της αρτηριακής πίεσης, τόσο κατά την έναρξη, όσο και στο μέγιστο της κόπωσης. Τα ευρήματα αυτά φαίνεται ότι οφείλονται στην ευνοϊκή επίδραση των α-MEA.

Καθώς οι α-MEA έχουν δείξει να ενδυναμώνουν την ισχαιμική προετοιμασία σε άλλα πειραματικά μοντέλα και στο ανθρώπινο μυοκάρδιο, και με αφορμή τα αντιφατικά αποτελέσματα μελετών στη στηθάγχη προθέρμανσης, με φάρμακα τα οποία αποδεδειγμένα μιμούνται ή αναστέλλουν την ισχαιμική προετοιμασία σε άλλο κλινικό υπόβαθρο, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης:

- επιβεβαιώνουν την ευνοϊκή δράση των α-MEA στη βελτίωση της ικανότητας για άσκηση
- θέτουν υπό αμφισβήτηση το ενδεχόμενο η στηθάγχη προθέρμανσης να αποτελεί ένα κλινικό μοντέλο της ισχαιμικής προετοιμασίας
- σε συμφωνία με την πεποίθηση των κυρίων μελετητών της ισχαιμικής προπόνησης, αφήνουν ακόμη ένα «ίσως» στο κατά πόσο το ανθρώπινο μυοκάρδιο μπορεί να προετοιμαστεί ισχαιμικά και,
- αναμένουν την πλήρη αποσαφήνιση του ενδογενούς κυτταρικού μηχανισμού της ισχαιμικής προετοιμασίας και επόμενες μελέτες στην αποτελεσματικότητα των υπαρχόντων, αλλά και νεότερων φαρμακολογικών μιμητών της, με σκοπό την κλινική αξιοποίηση αυτού του ισχυρού και εντυπωσιακού προστατευτικού μηχανισμού, στο μέγιστο δυνατό.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ισχαιμική προετοιμασία του μυοκαρδίου περιγράφεται ως το φαινόμενο, κατά το οποίο σύντομα επεισόδια ισχαιμίας/επαναιμάτωσης αυξάνουν την αντοχή του μυοκαρδίου σε μια επόμενη παρατεταμένη περίοδο ισχαιμικής βλάβης, προκαλώντας ελάττωση του μεγέθους του μυοκαρδιακού εμφράγματος. Η ισχαιμική προετοιμασία αποδείχτηκε ότι ισχύει σε όλα τα είδη στα οποία μελετήθηκε, φαίνεται δε ότι και το ανθρώπινο μυοκάρδιο είναι επιδεκτικό στην ισχαιμική προπόνηση, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*.

Η στηθάγχη προθέρμανσης αναφέρεται στη βελτίωση της απόδοσης και στην ικανότητα που επιδεικνύουν πολλοί ασθενείς με στηθάγχη προσπαθείας, που τους αναγκάζει να σταματήσουν την άσκηση, να μπορούν να τη συνεχίσουν, μετά από μια ενδιάμεση περίοδο ανάπαυσης, αλλά χωρίς συμπτώματα. Ο υποκείμενος μηχανισμός δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί και παραμένει αμφιλεγόμενος· έχει προταθεί ότι αυτή η ευνοϊκή προσαρμογή, μπορεί να οφείλεται σε μια αύξηση της ενδογενούς αντίστασης του μυοκαρδίου στην ισχαιμία, ανάλογη με αυτή της πειραματικής ισχαιμικής προετοιμασίας. Το φαινόμενο αυτό συνοδεύτηκε από αντικειμενικές μετρήσεις βελτίωσης της ισχαιμίας σε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, όπου οι ασθενείς εμφάνιζαν λιγότερο σοβαρή στηθάγχη και μικρότερη κατάσπαση του ST διαστήματος σε παρόμοια φόρτιση έργου, στη δεύτερη από τις δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης, που πραγματοποιούνταν μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα η μία από την άλλη. Έχει προταθεί ότι το πρώτο επεισόδιο στηθάγχης προπονεί ισχαιμικά το μυοκάρδιο, καθιστώντας πιο δύσκολη τη πρόκληση ισχαιμίας από ένα επόμενο ανάλογο ερέθισμα.

Κατά τη διάρκεια των βραχέων επεισοδίων ισχαιμίας απελευθερώνονται ποικίλες ουσίες, μεταξύ των οποίων και η βραδυκινίνη, που ενεργοποιούν πολύπλοκα ενδοκυττάρια σηματοδοτικά συστήματα, που μεταφέρουν το μήνυμα για την ισχαιμική προετοιμασία και η βραδυκινίνη έχει δείξει ότι μπορεί να προπονεί το μυοκάρδιο απέναντι στην ισχαιμία, ακόμη και απουσία ισχαιμικού ερεθίσματος.

Διάφοροι φαρμακευτικοί παράγοντες έχουν δείξει να μιμούνται, αλλά και να ενδυναμώνουν την ισχαιμική προετοιμασία και παρέχουν μια αισιόδοξη βάση για το ότι η φαρμακολογική προετοιμασία μπορεί σύντομα να εφαρμοστεί στην κλινική πράξη.

Η δράση των α-MEA πραγματοποιείται κατά ένα μέρος από την αναστολή της διάσπασης της βραδυκινίνης, και είναι αυτή η δράση τους που έχει δείξει να ενδυναμώνει την ισχαιμική προετοιμασία σε πειραματικά μοντέλα και στο ανθρώπινο μυοκάρδιο, *in vitro*.

Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να εξεταστεί το κατά πόσο τα ευρήματα για την δράση φαρμακολογικής προετοιμασίας των α-MEA από το πειραματικό εργαστήριο, μπορούν να εφαρμοστούν στον άνθρωπο, σε ένα μοντέλο στηθάγχης προθέρμανσης που περιλάμβανε διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης. Αυτό πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο της επίδρασης ενός α-MEA, της κουιναπρίλης στη στηθάγχη προθέρμανσης. 15 ασθενείς με στεφανιαία νόσο που είχαν ήδη εμφανίσει στοιχεία ισχαιμικής προπόνησης στη δεύτερη από δύο διαδοχικές δοκιμασίες κόπωσης - όπως αυτή εκτιμήθηκε είτε από τη βελτίωση των ισχαιμικών παραμέτρων στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, είτε από την διάρκεια της στηθάγχης ή του συνολικού χρόνου άσκησης - έλαβαν κουιναπρίλη μετά την ολοκλήρωση και της δεύτερης δοκιμασίας. 3 ημέρες αργότερα, υποβλήθηκαν σε μια δεύτερη σειρά δύο διαδοχικών δοκιμασιών κόπωσης, για να μελετηθεί το κατά πόσο η κουιναπρίλη ενδυναμώνει ή όχι την ισχαιμική προετοιμασία.

Και στις δύο σειρές δοκιμασιών κόπωσης, πριν και μετά τη χορήγηση της κουιναπρίλης, παρουσιάστηκε στη 2^η κόπωση, μια αύξηση του συνολικού χρόνου άσκησης και μια μείωση της μέγιστης κατάσπασης του ST διαστήματος, του συνολικού χρόνου ισχαιμίας και της διάρκειας της στηθάγχης, που δεν δείχτηκε να επηρεάζονται σημαντικά από τη χορήγηση της κουιναπρίλης. Παρατηρήθηκε επίσης, ότι ο συνολικός χρόνος άσκησης ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στη 3^η κόπωση, συγκριτικά με τη 1^η και η παράταση αυτή συνοδεύτηκε από μια σημαντική μείωση του διπλού γινομένου και της συστολικής αρτηριακής πίεσης, τόσο κατά την έναρξη, όσο και στο μέγιστο της κόπωσης.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, επιβεβαιώνουν την ευνοϊκή επίδραση των α-MEA στη βελτίωση της ικανότητας για άσκηση και σε συνδυασμό με τα αντιφατικά ευρήματα μελετών στο πεδίο της στηθάγχης προθέρμανσης με φαρμακευτικούς παράγοντες που αποδεδειγμένα μιμούνται ή αναστέλλουν την ισχαιμική προετοιμασία σε πειραματικά και σε άλλα κλινικά μοντέλα στον άνθρωπο, προτείνουν ότι καθώς η ισχαιμική προετοιμασία και η στηθάγχη προθέρμανσης έχουν διαφορετικό προφίλ απάντησης στη φαρμακολογική προετοιμασία, πιθανότατα διαθέτουν διαφορετικούς παθογενετικούς μηχανισμούς.

SUMMARY

Myocardial ischemic preconditioning is described as a phenomenon by which brief episodes of myocardial ischemia/reperfusion increase the ability of the heart to tolerate a subsequent prolonged period of ischemic injury and results in a remarkable reduction of the infarct size. Ischemic preconditioning has been demonstrated in all animal species studied to date, and there is also evidence that human myocardium can be preconditioned, both *in vitro* and *in vivo*.

Warm up angina refers to the improved performance and to the ability of more than 50% of patients with ischemic heart disease, who report exertional angina which forces them to stop and then, after of a brief period of rest, are able to continue walking without further symptoms. The underlying mechanisms are still poorly known and somewhat controversial · it has been suggested that this favourable adaptation may be due to an increase in the myocardium's endogenous resistance to ischaemia, in a manner akin to the experimental phenomenon of ischaemic preconditioning. The phenomenon has been accompanied by objective measures on exercise testing, as patients experience less severe angina and a reduction in ST depression at similar workloads during a second exertion of two sequential exercise tests, that was performed soon thereafter the initial one. It appears that the initial exercise test acts as an ischemic conditioning stimulus, making more difficult to induce ischaemia with a subsequent comparable stimulus.

During ischemia, numerous chemicals are released by the myocardium. including bradykinin, that trigger complex signal transduction pathways, that carry the signal for protection, and both in experimental and clinical models models bradykinin has been able to pre-condition the heart in the absence of an initial ischaemic insult.

There are several classes of pharmacological agents that may be able to mimic and furthermore to potentiate the protection conferred by ischemic preconditioning and provide some basis for optimism, that a beneficial and clinically detectable improvement in myocardial protection may be possible.

The action of angiotensin-converting enzyme(ACE)-inhibitors is in part mediated through the inhibition of bradykinin breakdown and it is this effect, that has been shown to potentiate the effects of preconditioning in animal and cellular models.

The aim of this study was to examine whether findings from laboratory models of the pharmacological preconditioning of the ACE inhibitors, can be extrapolated to a model of repeat exercise in patients with ischaemic heart disease. This was done by examining the effects on warm up angina of an ACE-inhibitor (quinapril). 15 patients with ischaemic heart disease who had already evidence of ischemic preconditioning on the second of two sequential exercise tests, at 30 minute interval of the first - as this has been estimated either by less severe angina, a reduction in ST depression or a prolongation of the test duration - received quinapril after completing the second exercise test. 3 days later, they underwent a second set of two consecutive exercise tests, at 30 minutes interval, in order to estimate whether or not quinapril do potentiate the effect of ischemic preconditioning.

In both sets, in the second of two sequential exercise tests prior to, and following quinapril's administration, total exercise test duration was greater and maximum ST depression, total ischemic duration and angina duration were reduced, and were not influenced by the use of quinapril. Exercise duration was significantly greater during the third exercise test, comparing with the first one, and was accompanied by a significant reduction in double product and blood pressure, both at baseline and at peak exercise.

The results of this study confirm the beneficial effect of the ACE inhibitors in improvement of the exercise capacity and in combination with the inconsistent findings obtained in the setting of warm up angina with drugs that have been shown to mimic or prevent ischaemic preconditioning in animal models and in humans in other clinical settings, suggest that probably ischaemic preconditioning and warm up angina are likely to have differing pharmacological profiles, signifying a diverse underlying mechanism.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- 1.Murray CJ and Lopez AD.**The global burden of disease 1990–2020.Nature Med 1998 ;4 :1241–3.
- 2.Maroko PR, Kjekshus JK, Sobel BE, Watanabe T, Covell JW, Ross J Jr, and Braunwald E.** Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions. Circulation 1971; 43: 67–82.
- 3.Maroko PR, Libby P, Sobel BE, Bloor CM,Shell WE,CovellJW, and Braunwald E.** Effect of glucose-insulin-potassium infusion on myocardial infarction following experimental coronary artery occlusion. Circulation 1972; 45: 1160–1175
- 4.Maroko PR, Libby P, Bloor CM, Sobel BE, and Braunwald E.**Reduction by hyaluronidase of myocardial necrosis following coronary artery occlusion. Circulation 1972; 46: 430–437.
- 5.Jennings RB and Reimer KA.** Factors involved in salvaging ischemic myocardium: effect of reperfusion of arterial blood. Circulation 1983;68 Suppl 1: I-25–I-36.
- 6.Murry CE, Jennings RB, Reimer KA.** Preconditioning with ischemia:a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986;74:1124–36
- 7.Yellon DM, Downey JM.** Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. Physiol. Rev. 2003;83:1113–1151
- 8.Liu Y, Downey JM.** Ischemic preconditioning protects against infarction in rat hearts. Am J Physiol 1992;263:H1107–12.
- 9. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, et al.**Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit hearts.Circulation 1991; 84:350–6.
- 10.Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, et al.** Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. Circ Res 1990;66:1133–42.
- 11.Ikonomidis JS, Tumiati LC, Weisel RD, et al.** Preconditioning human ventricular cardiomyocytes with brief periods of simulated ischemia. Cardiovasc Res 1994;28: 1285- 91.
- 12.Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, et al.** Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic and metabolic features.Circulation 1990;82:2044–51.
- 13.Yellon DM, Alkhulaif AM, Pugsley WB.**Preconditioning the human myocardium. Lancet 1993;342:276–7.

- 14. Kloner RA, Bolli R, Marban E, Reinlib L, and Braunwald E.** Medical and cellular implications of stunning, hibernation and preconditioning: an NHLBI workshop. *Circulation* 1998; 97: 1848–1867
- 15. Gheeraert PJ et al.** Preinfarction angina protects against out-of-hospital ventricular fibrillation in patients with acute occlusion of the left coronary artery. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1369–1374
- 16. Kloner RA, Shook T, Antman EM, Cannon CP, Przyklenk K, Yoo K, McCabe CH, Braunwald E, and the TIMI-9B Investigators.** Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome: an ancillary study in TIMI-9B. *Circulation* 1998;97:1042–1045.
- 17. Eltchaninoff H, Cribier A, Tron C, et al.** Adaptation to myocardial ischemia during coronary angioplasty demonstrated by clinical, electrocardiographic, echocardiographic, and metabolic parameters. *Am Heart J* 1997;133:490-6.
- 18. Leeser MA, Stoddard MF, Xuan YT, Tang XL, Bolli R.** Non electrocardiographic evidence that both ischemic preconditioning and adenosine preconditioning exist in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:437-443.
- 19. Vaage J, Valen G.** Preconditioning and cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2003;75:S709-14.
- 20. Jenkins DP, Pugsley WB, Alkhulaifi AM, Kemp M, Hooper J, Yellon DM.** Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart* 1997 ; 77 : 314-8.
- 21. Maybaum S, Ilan M, Mogilevsky J, et al.** Improvement in ischemic parameters during repeated exercise testing: a possible model for myocardial preconditioning. *Am J Cardiol.* 1996;78:1087–1091.
- 22. Ylitalo K, Peuhkurinen K.** Clinical Relevance of Ischemic Preconditioning. *Scand Cardiovasc J* 35; 359–365, 2001
- 23. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM.** Cardiac stress protein elevation 24 hrs after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993; 88: 1264-72.
- 24. Gysembergh A, Margonari H, Loufoua J, et al.** Stretch-induced protection shares a common mechanism with ischemic preconditioning in rabbit heart. *Am J Physiol* 1998; 274 :H955-64.
- 25. Koning MM, Gho BC, Klaarwater E van, Opstal RL, Duncker DJ, Verdouw PD.** Rapid ventricular pacing produces myocardial protection by nonischemic activation of KATP+ channels. *Circulation* 1996;93:178-86.

- 26. Yamashita N, Hoshida S, Taniguchi N, Kuzuya T, Hori M.** Whole-body hyperthermia provides biphasic cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in the rat. *Circulation* 1998; 98 : 1414-21.
- 27. JIN, Z.Q. & CHEN, X.** Pretreatment with ramiprilat induces cardioprotection against free radical injury in guinea-pig isolated heart: Involvement of bradykinin, protein kinase C and prostaglandins. *Clin. Expt. Pharm. Physiol* 2000;27: 257-26.
- 28. Van Winkle DM, Thornton JD, Downey DM, Downey JM.** The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia. *Coron Artery Dis* 1991;2:613–9.
- 29. Matsubara S, Minatoguchi S, Matsuo H, et al.** Three minute, but not one minute. ischemia and nicocrandil have a preconditioning effect in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:345–51.
- 30. Sandhu R, Diaz RJ, Mao GD, Wilson GJ.** Ischemic preconditioning- difference in protection and susceptibility to blockade with single cycle versus multicycle transient ischemia. *Circulation* 1997 ; 96:984–95.
- 31. Barbosa V, Sievers RE, Zaugg CE, Wolfe CL.** Preconditioning ischemia time determines the degree of glycogen depletion and infarct size reduction in rat hearts. *Am Heart J* 1996;131:224-30.
- 32. Iliodromitis EK, Kremastinos DT, Katritsis DG, Papadopoulos CC, Hearse DJ.** Multiple cycles of preconditioning cause loss of protection in open-chest rabbits. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:915-20.
- 33. Li YW, Whittaker P, Kloner RA.** The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular arrhythmia. *Am Heart J* 1992;123: 346-53.
- 34. Kuzuya T, Hoshida S, Yamashita N, et al.** Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res* 1993;72:1293–9.
- 35. Thornton J, Striplin S, Liu GS, Swafford A, Stanley AWH, Van Winkle DM, Downey JM.** Inhibition of protein synthesis does not block myocardial protection afforded by preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 259: H1822–H1825, 1990.
- 36. Matsuyama N, Leavens JE, McKinnon D, Gaudette GR, Aksehirli TO, and Krukenkamp IB.** Ischemic but not pharmacological preconditioning requires protein synthesis. *Circulation* 102 Suppl 3: III-312–III-318, 2000.
- 37. Yellon DM, Ali Dana A.** The Preconditioning Phenomenon: A Tool for the Scientist or a Clinical Reality? *Circ Res.* 2000 ; 87:543-550

- 38. Bolli R and Marba'n E.** Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiol Rev* 79: 609–634, 1999.
- 39. Matsuda M, Catena TG, Vander Heide RS, Jennings RB, Reimer KA.** Cardiac protection by ischaemic preconditioning is not mediated by myocardial stunning. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 585-92.
- 40. Cohen MV, Yang X-M, Neumann T, Heusch G, and Downey JM.** Favorable remodeling enhances recovery of regional myocardial function in the weeks after infarction in ischemically preconditioned hearts. *Circulation* 2000;102: 579–583
- 41. Napoli C, Liguori A, Chiariello M, Di Leso N, Condorelli M, and Ambrosio G.** New-onset angina preceding acute myocardial infarction is associated with improved contractile recovery after thrombolysis. *Eur Heart J* 1998 ; 19: 411–419
- 42. Armstrong SC, Liu GS, Downey JM, et al.** Potassium channels and preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: effects of glyburide and pinacidil. *Cardiovasc Res* 1995;27: 1765–1774.
- 43. Ovize M, Aupetit JF, Rioufol G, et al.** Ischemic preconditioning reduces infarct size but accelerates time to VF in ischemic pig hearts. *Am J Physiol* 1995;269:H72–H79.
- 44. Wu ZK, Livainen T, Pehkonen E, et al.** Perioperative and postoperative arrhythmia in three-vessel coronary artery disease patients and antiarrhythmic effects of ischemic preconditioning. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2003 ; 23 : 578–584.
- 45. R J Edwards, S R Redwood, P D Lambiase, E Tomset, R D Rakhit, M S Marber** Antiarrhythmic and anti-ischaemic effects of angina in patients with and without coronary collaterals. *Heart* 2002 ; 88:604–610
- 46. Gheeraert PJ, MD. Henriques PS, De Buyzere ML, Pauw MD, Taeymans Y, Zijlstra F.** Preinfarction Angina Protects Against Out-of-Hospital Ventricular Fibrillation in Patients With Acute Occlusion of the Left Coronary Artery. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1369 –74
- 47. Cribier A, Korsatz L, Koning R, Rath P, Gamra H, Stix G, Merchant S, Chan C, Letac B.** Improved myocardial ischemic response and enhanced collateral circulation with long repetitive coronary occlusion during angioplasty: a prospective study. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20: 578–586.
- 48. Birincioglu M, Yang X-M, Critz SD, Cohen MV, and Downey JM.** S-T segment voltage during sequential coronary occlusions is an unreliable marker of preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999; 77: H2435–H2441

- 49. Maybaum S, Ilan M, Mogilevsky J, et al.** Improvement in ischemic parameters during repeated exercise testing: a possible model for myocardial preconditioning. *Am J Cardiol* 1996;78:1087–1091.
- 50. Tomai F, Crea F, Chiariello L, and Gioffre` PA.** Ischemic preconditioning in humans: models, mediators, and clinical relevance. *Circulation* 1999;100: 559–563.
- 51. Opie LH.** Cardiac metabolism: emergence, decline, and resurgence, part 2. *Cardiovasc Res* 1992;26:817– 830.
- 52. Hake U, Schmid F, Iversen S, Dahm M, Mayer E, Hafner G, Oelert H.** Troponin-T: a reliable marker of perioperative myocardial infarction? *Eur J Cardiothorac Surg* 1993;7:628–633.
- 53. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM.** Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991;84: 350–356.
- 54. Liem DA, Doel MA van den, Zeeuw S de, Verdouw PD, Duncker DJ.** Role of adenosine in ischemic preconditioning in rats depends critically on the duration of the stimulus and involves both A(1) and A(3) receptors. *Cardiovasc Res* 2001;51:701-8.
- 55. Pan H.L., CHEN SR., Sciclim GM, Carretero OA.** Cardiac interstitial bradykinin release during ischaemia is enhanced by ischaemic preconditioning. *Am J Physiol* 2000;279:H116-H121.
- 56. Wirth KJ, Linz W, Weimer G, Schoelkens BA.** Kinins and cardioprotection. *Pharmacol. Res* 1997; 35:527- 530.
- 57. Zisman L** Inhibiting tissue angiotensin-converting enzyme, a pound of flesh without the blood. *Circulation* 1998;98:2788-2790
- 58. Bhoola KD, Figueroa CD, Worthy K.** Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens and kininases. *Pharmacol Rev* 1992;44:1-80.
- 59. Schoelkens BA., Linz W, Konig W.** Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor, ramipril, in isolated ischaemic rat heart are abolished by a bradykinin antagonist. *J Hypertens Suppl* 1988; 6:25-28.
- 60. Tio RA, Tobe TJ, Bel KJ, De Langen CD, Vangilst WH, Wesseling.** Beneficial effects of bradykinin on porcine ischaemic myocardium. *Basic Res Cardiol* 1991;86: 107 -116.
- 61. Leesar MA, Stoddard MF, Manchikalapudi S, Bolli R.** Bradykinin-induced preconditioning in patients undergoing coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34:639- 650.
- 62. Wall TM., Sheehy R, Hartman JC.** Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *J Pharmacol Ex. Ther* 1994;270:681- 689.

- 63. Yang XP, Liu YH, Scioli GM., Webb CR. Carretero,OA.** Role of kinins in the cardioprotective effect of preconditioning: study of myocardial ischaemia/reperfusion injury in B2 receptor knockout mice and kininogen-deficient rats. *Hypertension* 1997;30:735 -740.
- 64. Goto M , Liu Y, Yang XM., Ardell JL, Cohen MV, Downey JM.** Role of bradykinin in protection of ischaemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ. Res* 1995; 77:611 621.
- 65. Bell SP, Sack MN, Patel A, Opie LH, Yellon DM.** Delta opioid receptor stimulation mimics ischemic preconditioning in human heart muscle. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:2296–302.
- 66. Gross ER, Hsu AK, Gross GJ.** Opioid-induced cardioprotection occurs via glycogen synthase kinase beta inhibition during reperfusion in intact rat hearts. *Circ Res* 2004;94:960–6.
- 67. Cohen MV, Baines CP, and Downey JM.** Ischemic preconditioning: from adenosine receptor to KATP channel. *Annu Rev Physiol* 2000;62: 79–109.
- 68. Baines CP, Goto M, and Downey JM.** Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29: 207–216,
- 69. Nishida M, Maruyama Y, Tanaka R, et al.** Gai and Gao are target proteins of reactive oxygen species. *Nature* 2000;408:492–5.
- 70. Miyawaki H, Ashraf M.** Ca²⁺ as a mediator of ischemic preconditioning. *Circ Res* 1997;80:790-9.
- 71. Cain BS, Meldrum DR, Cleveland Jr JC, et al.** Clinical l-type calcium channel blockade prevents ischemic preconditioning of human myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2000;31:2191–7.
- 72. Wallbridge DR, Schulz R, Braun C, Post H, Heusch G.** No attenuation of ischemic preconditioning by the calcium antagonist nisoldipine. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:1801–10.
- 73. Nakano A, Liu GS, Heusch G, Downey JM, and Cohen MV.** Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classical ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32:1159–1167,
- 74. Woolfson RG, Patel VC, Neild GH, and Yellon DM.** Inhibition of nitric oxide synthesis reduces infarct size by an adenosine-dependent mechanism. *Circulation* 1995; 91: 1545–1551,.
- 75. Bolli R.** Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33:1897-918.
- 76. Bell RM and Yellon DM.** The contribution of endothelial nitric oxide synthase to early ischaemic preconditioning: the lowering of the preconditioning threshold. An investigation in eNOS knockout mice. *Cardiovasc Res* 2001;52: 274–280.

- 77. Mitchell M B, Meng X Ao, L Brown J. M. Harken AH, Banerjee A.** Preconditioning of isolated rat heart is mediated by protein kinase C. *Circ Res* 1995 ;76:73–81
- 78. Eisen A, Enrique Z. Fisman EZ, Melvyn Rubenfire M, Dov Freimark D, Yehuda Adler Y et al.** Ischemic preconditioning: nearly two decades of research. A comprehensive review. *Atherosclerosis* 2004;172: 201–210.
- 79. Zhao J, Renner O, Wightman L, Sugden PH, Stewart L, Miller AD, Latchman DS, and Marber MS.** The expression of constitutively active isotopes of protein kinase C to investigate preconditioning. *J Biol Chem* 1998 ;273: 23072–23079.
- 80. Liu GS, Cohen MV, Mochly-Rosen D, Downey J M.** Protein kinase C- ϵ is responsible for the protection of preconditioning in rabbit cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31: 1937–1948.
- 81. Hausenloy DJ, Yellon DM.** Survival kinases in ischemic preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006 ;70:240 – 253
- 82. Yang X-M, Sato H, Downey JM, and Cohen MV.** Protection of ischemic preconditioning is dependent upon a critical timing sequence of protein kinase C activation. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:991–999.
- 83. Liu Y, Ytrehus K, and Downey JM.** Evidence that translocation of protein kinase C is a key event during ischemic preconditioning of rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 661–668.
- 84. Ping P, Zhang J, Qiu Y, Tang XL, Manchikalapudi S, Cao X, Bolli, R.** Ischemic preconditioning induces selective translocation of protein kinase C isoforms ϵ and h in the heart of conscious rabbits without subcellular redistribution of total protein kinase C activity. *Circ Res* 1997;81: 404–414.
- 85. Wilson S, Song W, Karoly K, Ravingerova T, Vegh A, Papp J, Tomisawa S, Parratt JR, Pyne NJ.** Delayed cardioprotection is associated with the sub-cellular relocalisation of ventricular protein kinase C, but not p42/44MAPK. *Mol Cell Biochem* 1996; 160/161:225–230.
- 86. Kitakaze M, Node K, Minamino T, Komamura K, Funaya H, et al.** Role of activation of protein kinase C in the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning through activation of ecto-5-nucleotidase. *Circulation* 1996;93:781–91
- 87. Iliodromitis EK, Miki T, Liu GS, Downey J M, Cohen M V, Kremastinos DT.** The PKC activator PMA preconditions rabbit heart in the presence of adenosine receptor blockade: is 5-nucleotidase important? *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30:2201–2211.

- 88. Maulik N, Yoshida T, Zu Y-L, Sato M, Banerjee A, and Das DK.** Ischemic preconditioning triggers tyrosine kinase signaling: a potential role for MAPKAP kinase 2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1998;275: H1857–H1864.
- 89. Baines CP, Wang L, Cohen MV, Downey JM.** Protein tyrosine kinase is downstream of protein kinase C for ischemic preconditioning's anti-infarct effect in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30:382–392.
- 90. Vahlhaus C, Schulz R, Post H, Rose J, and Heusch G.** Prevention of ischemic preconditioning only by combined inhibition of protein kinase C and protein tyrosine kinase in pigs. *J Mol Cell Cardiol* 1998 ;30: 197–209.
- 91. Maulik N, Watanabe M., Zu YL., Huang CK, Cordis GA., Schley JA., Das, DK.** Ischemic preconditioning triggers the activation of MAP kinases and MAPKAP kinase 2 in rat hearts. *FEBS Lett* 1996;396:233–237.
- 92. Caroline P D Wheeler-Jones.** Cell signalling in the cardiovascular system: an overview. *Heart* 2005;91:1366–1374.
- 93. Hossein Ardehali** Signaling Mechanisms in Ischemic Preconditioning: Interaction of PKC ϵ and Mito K_{ATP} in the Inner Membrane of Mitochondria. *Circ Res* 2006;99:798-800.
- 94. Ping P, Zhang J, Huang S, Cao X., Tang XL, Li R CX., Zheng, YT, Qiu Y, Clerk A, Sugden P, Han J, Bolli R.** PKC-dependent activation of p46/p54 JNKs during ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Am J Physiol* 1999;277: H1771–H1785.
- 95. Nakano A, Baines CP, Kim SO, Pelech SL, Downey JM, Cohen MV, Critz SD.** Ischemic preconditioning activates MAPKAPK2 in the isolated rabbit heart: evidence for involvement of p38 MAPK. *Circ Res* 2000; 86:144–151.
- 96. Mackay K, Mochly-Rosen D.** An inhibitor of p38 mitogen activated protein kinase protects neonatal cardiac myocytes from ischemia. *J Biol Chem* 1999 ;274:6272–6279.
- 97. Barancik M., Htun P, Schaper W.** Okadaic acid and anisomycin are protective and stimulate the SAPK/JNK Pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 1983;34, 182–190.
- 98. Gross GJ, Auchampach JA.** Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res* 1992; 70:223–233.
- 99. Noma A.** ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature* 1983;305: 147–148.
- 100. Gross GJ and Fryer RM.** Sarcolemmal versus mitochondrial ATP sensitive K⁺ channels and myocardial preconditioning. *Circ Res* 1999; 84:973–979.
- 101.108 Liu Y, Sato T, O'Rourke B, and Marban E.** Mitochondrial ATP dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection? *Circulation* 1998.;97:2463–2469.

- 102.Yao Z, Gross GJ:** Effects of the KATP channel opener bimakalim on coronary blood flow, monophasic action potential duration, and infarct size in dogs. *Circulation* 1994 ;89:1769–1775.
- 103.Grover GJ, D’Alonzo AJ, Parham CS, Darbenzio RB:** Cardioprotection with the KATP opener cromakalim is not correlated with ischemic myocardial action potential duration. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26:145–152
- 104.Grover GJ, D’Alonzo AJ, Dzwonczyk S, Parham CS, Darbenzio RB:** Preconditioning is not abolished by the delayed rectifier K⁺ blocker dofetilide. *Am J Physiol* 1996; 271 :H1207–H1214.
- 105.Armstrong SC, Liu GS, Downey JM, Ganote CE.** Potassium channels and preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: effects of glyburide and pinacidil. *J. Mol. Cell. Cardiol* 1995; 27:1765-1772.
- 106.Baines CP, Liu GS, Birincioglu M, Critz SD, Cohen MV, Downey JM.** Ischemic preconditioning depends on interaction between mitochondrial KATP channels and actin cytoskeleton. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;276: H1361–H1368.
- 107.Sato T, Sasaki N, O’Rourke B, Marban E.** Nicorandil, a potent cardioprotective agent, acts by opening mitochondrial ATP-dependent potassium channels. *J Am Coll Cardiol* 2000 ;35:514–518.
- 108.Sato T, Sasaki N, Seharaseyon J, O’Rourke B, Marban E.** Selective pharmacological agents implicate mitochondrial but not sarcolemmal K(ATP) channels in ischemic cardioprotection. *Circulation* 2000 ;101:2418–2423.
- 109.Dhein S, Pejman P, Krusemann K.** Effects of the I(K(ATP)) blockers glibenclamide and HMR1883 on cardiac electrophysiology during ischemia and reperfusion. *Eur J Pharmacol* 2000;398:273–284.
- 110.Suzuki M, Sasaki N, Miki T, Sakamoto N, Ohmoto-Sekine Y, Tamagawa M, Seino S, Marban E, and Nakaya H.** Role of sarcolemmal K(ATP) channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in mice. *J Clin Invest* 2002;109: 509–516.
- 111.Xu M., Wang Y., Ayub A., Ashraf M.** Mitochondrial KATP channel activation reduces anoxic injury by restoring mitochondrial membrane potential, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol* 2000 ;281: H1295-H1303.
- 112.Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB, et al.** Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP sensitive K⁺ channels: possible mechanism of cardioprotection. *Circ. Res* 1997; 81:1072–8.
- 113.Garlid KD,** Opening mitochondrial KATP in the heart—what happens, and what does not happen. *Basic Res. Cardiol* 2000;95: 275-279.

- 114. Dos Santos P, Kowaltowski AJ, Laclau MN, Seetharaman S, Paucek P, Boudina S, Thambo JB, Tariosse L, Garlid K.D.** Mechanisms by which opening the mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel protects the ischemic heart, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol* 2002; 283:H284-H295.
- 115. Pain T, Yang X-M, Critz SD, Yue Y, Nakano A, Liu GS, Heusch G, Cohen MV, and Downey JM.** Opening of mitochondrial KATP channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circ Res* 2000; 87: 460–466.
- 116. Wang S, Cone J, and Liu Y.** Dual roles of mitochondrial KATP channels in diazoxide-mediated protection in isolated rabbit hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280: H246–H255.
- 117. Wang Y, Hirai K, Ashraf M.** Activation of mitochondrial ATP-sensitive K₁ channel for cardiac protection against ischemic injury is dependent on protein kinase C activity. *Circ Res* 1999;85:731-741.
- 118. Schulz R, Gres P, and Heusch G.** Activation of ATP-dependent potassium channels is a trigger but not a mediator of ischaemic preconditioning in pigs. *Br J Pharmacol* 2003;139: 65–72.
- 119. Forbes RA, Steenbergen C, Murphy E.** Diazoxide-induced cardioprotection requires signaling through a redox-sensitive mechanism. *Circ Res* 2001;88:802–809
- 120. Krenz M, Oldenburg O, Wimpee H, Cohen MV, Garlid KD, Critz S, Downey JM, and Benoit JN.** Opening of ATP-sensitive potassium channels causes generation of free radicals in vascular smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 2002;97: 365–373.
- 121. Cohen MV, Yang X-M, Liu GS, Heusch G, and Downey JM.** Acetylcholine, bradykinin, opioids, and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial KATP channels. *Circ Res* 2001;89: 273–278.
- 122. Schulz R, Post H, Sakka S, Wallbridge DR, and Heusch G.** Intraischemic preconditioning: increased tolerance to sustained low-flow ischemia by a brief episode of no-flow ischemia without intermittent reperfusion. *Circ Res* 1995;76: 942–950
- 123. Fryer RM, Hsu AK, Gross GJ.** Mitochondrial K channel is important during index ischemia and following myocardial reperfusion in ischemic preconditioned rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33:831–834.
- 124. Peart JN, G. J. Gross GJ.** Sarcolemmal and mitochondrial KATP channels and myocardial ischemic preconditioning *J Cell Mol Med* 2002;6: 453-464.
- 125. Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, and Jennings RB.** Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res* 1990;66:913–931.

- 126. Kolocassides KG, Seymour A-ML, Galin~anes M, and Hearse DJ.** Paradoxical effect of ischemic preconditioning on ischemic contracture? NMR studies of energy metabolism and intracellular pH in the rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 1045–1057.
- 127. Weiss RG, de Albuquerque CP, Vandegaer K, Chacko VP, Gerstenblith G.** Attenuated glycogenolysis reduces glycolytic catabolite accumulation during ischemia in preconditioning rat hearts. *Circ Res* 1996;79:435–446.
- 128. McNulty PH, Darling A, Whiting JM.** Glycogen depletion contributes to ischemic preconditioning in the rat heart in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996; 271:H2283–H2289.
- 129. Weinbrenner C, Wang P, Downey JM.** Loss of glycogen during rotection is not a prerequisite for protection of the rabbit heart. *Basic Res Cardiol* 1996;91:374–381.
- 130. Fukuda H, Luo CS, Gu X et al.** The effect of K channel activation on myocardial cationic and energetic status during cardiac ischemia and reperfusion: Role in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33:545–560.
- 131. Xiao X-H and Allen DG.** Activity of the Na₂/H₂ exchanger is critical to reperfusion damage and preconditioning in the isolated rat heart. *Cardiovasc Res* 2000;48: 244–253.
- 132. Nakano A, Michael V. Cohen MV, James M. Downey JM** Ischemic preconditioning. From basic mechanisms to clinical applications. *Pharmacol Therap* 2000;86 :263–275.
- 133. Van Echteld CJA, Kirkels JH, Eijgelshoven MHJ, van der Meer P, Ruigrok TJC.** Intracellular sodium during ischemia and calcium-free perfusion: A Na NMR Study. *J Mol Cell Cardiol* 1991;23:297–307
- 134. Whalen DA Jr, Hamilton DG, Ganote CE, and Jennings RB.** Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. I. Effects on cell volume regulation. *Am J Pathol* 1974; 74: 381–398.
- 135. Kevelaitis E, Peynet J, Mouas C, Launay J-M, and Menasche P.** Opening of potassium channels: the common cardioprotective link between preconditioning and natural hibernation. *Circulation* 1999;99: 3079–3085.
- 136. Diaz RJ, Losito VA, Mao GD, Ford MK, Backx PH, and Wilson GJ.** Chloride channel inhibition blocks the protection of ischemic preconditioning and hypo-osmotic stress in rabbit ventricular myocardium *Circ Res*; 84: 763–775, 1999.
- 137. Heusch G, Liu GS, Rose J, Cohen MV, and Downey JM.** No confirmation for a causal role of volume-regulated chloride channels in ischemic preconditioning in rabbits. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32:2279–2285.

- 138. VanderHeide R and Ganote C.** Increased myocyte fragility following anoxic injury. *J Mol Cell Cardiol* 1987;19: 1085–1103,
- 139. Guay J, Lambert H, Gingras-Breton G, Lavoie JN, Huot J, Landry J.** Regulation of actin filament dynamics by p38 mapkinase-mediated phosphorylation of heat shock protein 27. *J Cell Sci* 1997; 110: 357–368.
- 140. Eaton P, Awad WI, Miller JIA, Hearse DJ, and Shattock MJ.** Ischemic preconditioning: a potential role for constitutive low molecular weight stress protein translocation and phosphorylation? *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 961–971
- 141. Holly T, Nakamura S, Yaroshenko Y, Decker RS, Decker ML, Harris KR, Klocke FJ.** Ischemic preconditioning causes translocation of constitutive B-crystallin and HSP27 to myofibrils and/or the cytoskeleton in rabbits (Abstract). *FASEB J* 1999; 13: A1065.
- 142. Baines CP, Liu GS, Birincioglu M et al.** Ischemic preconditioning heart depends on interaction between mitochondrial K channels and actin cytoskeleton. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;276:H1361–H1368.
- 143. Armstrong SC, Delacey M, and Ganote CE.** Phosphorylation state of hsp27 and p38 MAPK during preconditioning and protein phosphatase inhibitor protection of rabbit cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 555–567.
- 144. Becker LB.** New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovasc Res* 2004;61:461-70.
- 145. Halestrap AP, Kerr PM, Javadov S, and Woodfield KY.** Elucidating the molecular mechanism of the permeability transition pore and its role in reperfusion injury of the heart. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1366: 79–94.
- 146. Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA.** Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion--a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004.;61:372-85.
- 147. Griffiths EJ, Ocampo CJ, Savage JS, Stern MD, Silverman HS.** Protective effects of low and high doses of cyclosporin A against reoxygenation injury in isolated rat cardiomyocytes are associated with differential effects on mitochondrial calcium levels. *Cell Calcium* 2000;27:87–95.
- 148. Juhaszova M, Zorov DB, Kim SH, Pepe S, Fu Q, Fishbein KW, et al.** Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest* 2004 ;113:1535–49.
- 149. Hausenloy DJ, Yellon DM, Mani-Babu S, Duchon MR.** Preconditioning protects by inhibiting the mitochondrial permeability transition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287:H841-9.

- 150. Oudit GY, Sun H, Kerfant BG, Crackower MA, Penninger JM, Backx PH.** The role of phosphoinositide-3 kinase and PTEN in cardiovascular physiology and disease. *J Mol Cell Cardiol* 2004 ;37:449–71.
- 151. Baines CP, Song CX, Zheng YT, Wang GW, Zhang J, Wang OL, et al.** Protein kinase Cepsilon interacts with and inhibits the permeability transition pore in cardiac mitochondria. *Circ Res* 2003 ;92:873–80.
- 152. Hausenloy D, Wynne A, Duchon M, Yellon D.** Transient mitochondrial permeability transition pore opening mediates preconditioning induced protection. *Circulation* 2004; 109:1714–7.
- 153. Peter J. Hanley, Jürgen Daut** KATP channels and preconditioning: A re-examination of the role of mitochondrial KATP channels and an overview of alternative mechanisms. *J Mol Cell Cardiol* 2005;39:17–50,
- 154. Ikonomidis JS, Tumiaty LC, Weisel RD, Mickle DA, Li RK.** Preconditioning human ventricular cardiomyocytes with brief periods of simulated ischaemia. *Cardiovasc Res* 1994 ;28:1285-91.
- 155. Walker DM, Walker JM, Pugsley WB, Pattison CW, Yellon DM.** Preconditioning in isolated superfused human muscle. *J Mol Cell Cardiol* ;27:1349-57, 1995
- 156. Macalpin RN, Kattus AA.** Adaptation to exercise in angina pectoris. *Circulation* 1966;33:183–201.
- 157. Okazaki Y, Kodama K, Sato H, et al.** Attenuation of increased regional myocardial oxygen consumption during exercise as a major cause of warm-up phenomenon. *J Am Coll Cardiol* 1993 ;21:1597–604.
- 158. Bogaty P, Kingma JG, Guimon J, et al.** Myocardial perfusion imaging findings and the role of adenosine in the warm-up angina phenomenon. *J Am Coll Cardiol* 2001;37 :463–9.
- 159. Bogaty P, Kingma JG, Robitaille M, et al.** Attenuation of myocardial ischemia with repeated exercise in subjects with chronic stable angina. Relation to myocardial contractility, intensity of exercise and the adenosine triphosphate-sensitive potassium channel. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1665–71.
- 160. Kelion AD, Webb TP, Gardner MA, et al.** The warm-up effect protects against ischaemic left ventricular dysfunction in patients with angina. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 705–10.

- 161. Rinaldi CA, Masani MD, Linka AZ, and Hall RJ.** Effect of repetitive episodes of exercise induced myocardial ischaemia on left ventricular function in patients with chronic stable angina: evidence for cumulative stunning or ischaemic preconditioning. *Heart* 1999;81: 404–411.
- 162. Tomai F, Crea F, Danesi A, et al.** Mechanisms of the warm-up phenomenon. *Eur Heart J* 1996;17:1022–27.
- 163. Stewart RAH, Simmonds MB, Williams MJA.** Time course of “warm-up” in stable angina. *Am J Cardiol* 1995;76:70–73.
- 164. Marber MS, Joy MD, and Yellon DM.** Editorial. Warm-up angina: is it ischaemic preconditioning. *Br Heart J* 1994;72: 213–215.
- 165. Kelion AD, Webb TP, Gardner MA, et al.** Does a selective adenosine A1 receptor agonist protect against exercise induced ischaemia in patients with coronary artery disease? *Heart* 2002;87:115–20.
- 166. Kerensky RA, Franco E, Schlaifer JD, Pepine CJ, and Belardinelli L.** Effect of theophylline on the warm up phenomenon. *Am J Cardiol* 1999;84: 1077–1080.
- 167. Tomai F, Crea F, Gaspardone A et al.** Effects of A1 adenosine receptor blockade by bamiphylline on ischaemic preconditioning during coronary angioplasty. *Eur Heart J* 1996; 17: 846–53.
- 168. Tomai F, Danesi A, Ghini AS, et al.** Blockade of ATP-sensitive K⁺ channels prevents the warm-up phenomenon. *Eur Heart J* 1999;20:196–202.
- 169. Correa SD, Schaefer S.** Blockade of KATP channels with glibenclamide does not abolish preconditioning during demand ischemia. *Am J Cardiol* 1997;79:75–8.
- 170. Behar S, Reicher-Reiss H, and Allmader E.** The prognostic significance of angina pectoris preceding the occurrence of a first myocardial infarction in 4166 consecutive hospitalized patients. *Am Heart J* 1992;123: 1481–1486,
- 171. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, et al.** Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. A clinical correlate to preconditioning? *Circulation* 1995 ;91:37-45.
- 172. Kloner RA, Shook T, Antman EM, et al.** Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome: An ancillary study in TIMI-9B. *Circulation* 1998;97:1042–1045.
- 173. Ishihara M, Sato H, Tateishi H, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, Sakai K, Ueda K.** Implications of prodromal angina pectoris in anterior wall acute myocardial infarction: acute angiographic findings and long term prognosis. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:970–975.

- 174. Yamagishi H, Akioka K, Hirata K, Sakanoue Y, Toda I, Yoshiyama M, Teragaki M, Takeuchi K, Yoshikawa J, and Ocji H.** Effects of preinfarction angina on myocardial injury in patients with acute myocardial infarction: a study with resting 123I-BMIPP and 201TI myocardial SPECT. *J Nucl Med* 2000; 41: 830–836.
- 175. Andreotti F, Pasceri V, Hackett DR, Davies GJ, Haider AW, Maseri A.** Preinfarction angina as a predictor of more rapid coronary thrombolysis in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1996;334:7-12.
- 176. Zahn R, Schiele R, Schneider S, Gitt AK, Seidl K, Bossaller C, Schuler G, Gottwick M, Altmann E, Rosahl W, and Senges J.** The myocardial Registry Study Group. Effects of preinfarction angina pectoris on outcome in patients with acute myocardial infarction treated with primary angioplasty (results from the myocardial infarction registry). *Am J Cardiol* 2001;87:1–6.
- 177. Claeys MJ, Vrints CJ, Bosmans JM, Conraads VM, Snoeck JP.** Aminophylline inhibits adaptation to ischaemia during angioplasty. Role of adenosine in ischaemic preconditioning. *Eur Heart J* 1996;17:539-44.
- 178. Leesar MA, Stoddard M, Ahmed M, Broadbent J, Bolli R.** Preconditioning of human myocardium with adenosine during coronary angioplasty. *Circulation* 1997;95:2500-7.
- 179. Dupouy P, Geschwind H, Pelle G, et al.** Repeated coronary artery occlusions during routine balloon angioplasty do not induce myocardial preconditioning in humans. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1374-80.
- 180. Billinger M, Fleisch M, Eberli FR, Garachemani A, Meier B, Seiler C.** Is the development of myocardial tolerance to repeated ischemia in humans due to preconditioning or to collateral recruitment? *J Am Coll Cardiol* 1999;33:1027-35.
- 181. Li RA, Leppo M, Miki T, Seino S, Marban E.** Molecular basis of electrocardiographic ST-segment elevation. *Circ Res* 2000;87:837-9.
- 182. Perrault LP, Menasche P.** Preconditioning: can nature's shield be raised against surgical ischemic-reperfusion injury? *Ann Thorac Surg* 1999;68:1988-94.
- 183. Yellon DM, Alkhulaifi AM, and Pugsley WB.** Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 1993; 342: 276–277.
- 184. Teoh LKK, Grant R, Hulf JA, Pugsly WB, and Yellon DM.** The effect of preconditioning (ischaemic and pharmacological) on myocardial necrosis following coronary artery bypass surgery. *Cardiovasc Res* 2002; 53: 175–180.
- 185. Illes RW, Swoyer KD.** Prospective, randomized clinical study of ischemic preconditioning as an adjunct to intermittent cold blood cardioplegia. *Ann Thorac Surg* 1998;65:748-52.

- 186.Kaukoranta PK, Lepojarvi MP, Ylitalo KV, Kiviluoma KT, Peuhkurinen KJ.**Normothermic retrograde blood cardioplegia with or without preceding ischemic preconditioning. *Ann Thorac Surg* 1997;63:1268-74.
- 187.Wei M, Kuukasjarvi P, Laurikka J, et al.** Cardioprotective effect of adenosine pretreatment in coronary artery bypass grafting. *Chest* 2001 ;120:860-5.
- 188. Belhomme D, Peynet J, Florens E, Tibourtine O, Kitakaze M, Menasche P.** Is adenosine preconditioning truly cardioprotective in coronary artery bypass surgery? *Ann Thorac Surg* 2000;70:590-4.
- 189.Ghosh S, Galinanes M.** Protection of the human heart with ischemic preconditioning during cardiac surgery: role of cardiopulmonary bypass.*J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:133-42.
- 190.Yeghiazarians Y, Braunstein JB, Askari A, and Stone PH.**Unstable angina pectoris. *N Engl J Med* 2000; 342: 101–114.
- 191.Tsuchida A, Thompson R, Olsson RA, Downey JM.** The anti-infarcteffect of an adenosine A1-selective agonist is diminished after prolonged infusion as is the cardioprotective effect of ischaemic preconditioning in rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1994;263:303–311.
- 192.Dana A, Baxter GF, Walker JM, and Yellon DM.** Prolonging the, delayed phase of myocardial protection: repetitive adenosine A1 receptor activation maintains rabbit myocardium in a preconditioned state. *J Am Coll Cardiol* 1998.31: 1142–1149.
- 193.Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NA, et al.** Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: Results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: The Acute Myocardial Infarction Study of ADenosine (AMISTAD) trial. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1711–1720.
- 194. Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, Kloner RA, Alexander RW.** A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol* 2005 ;45: 1775–80.
- 195.Kloner RA, Gibbons RJ, Ross AM, Alexander RW, Forman MB,Stone GW.** Impact of time to presentation and reperfusion modality on the efficacy of adenosine during reperfusion therapy for acute myocardial infarction: the AMISTAD-2 trial. *J Am Coll Cardiol* 2006 ;47 Suppl A:175A.
- 196.Mentzer RM Jr., Birjiniuk V, Khuri S, et al.** Adenosine myocardial protection: preliminary results of a phase II clinical trial. *Ann Surg* 1999 ;229:643–9.
- 197.Heidland UE, Heintzen MP, Schwartzkopff B, Strauer BE.**Preconditioning during percutaneous transluminal coronary angioplasty by endogenous and exogenous adenosine. *Am Heart J* 2000; 140:813-20.

- 198.Morris SD, Yellon DM.** Angiotensin-converting enzyme inhibitors potentiate preconditioning through bradykinin B2 receptor activation in human heart. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:1599–1606
- 199.Miki T, Miura T, Ura N, Ogawa T, Suzuki K, Shimamoto K et al.** Captopril potentiates the myocardial infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning through bradykinin B2 receptor activation.*J Am Coll Cardiol* 1996;28:1616–1622
- 200.Nozawa Y, Miura T, Tsuchida A, Kita H, Fukuma T, Shimamoto K.**Chronic treatment with an ACE inhibitor, temocapril, lowers the threshold for the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning.*Cardiovasc Drugs Ther* 1999;13:151–157.
- 201.Ebrahim Z , Yellon DM, Baxter GF.** Omapatrilat lowers the threshold for induction of ischaemic preconditioning via activation of the bradykinin B2 receptor. *Cardiovasc Drugs Ther* 2004;18:127-34.
- 202.Sato M, Engelman RM, Otani H, Maulik N, Rousou JA, FlackJE,III et al.** Myocardial protection by preconditioning of heart with losartan, an angiotensin II typ. 1-receptor blocker: implication of bradykinin dependent and bradykinin-independent mechanisms. *Circulation* 2000;102(Suppl. 3):III346–III351.
- 203.Hartman JC, Wall TM, Hullinger TG, Shebuski RJ.** Reduction of myocardial infarct size in rabbits by ramiprilat: reversal by the bradykinin antagonist HOE 140. *J Cardiovas Pharmacol* 1993;21:996–1003.
- 204.Jaberansari MT, Baxter GF, Muller CA, Latouf SE, Roth E, Opie LH et al.** Angiotensin-converting enzyme inhibition enhances a subthreshold stimulus to elicit delayed preconditioning in pig myocardium.*J Am Coll Cardiol* 2001 ;37:1996–2001.
- 205.The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators.** Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. *N Engl J Med* 2000;342:145-53.
- 206.Heusch G, Rose J,Ehring T.** Cardioprotection by ACE inhibitors in myocardial ischaemia/reperfusion. The importance of bradykinin. *Drugs* 1997;54:31-34.
- 207.Jin ZQ,Chen X.** Pretreatment with ramiprilat induces cardioprotection against free radical injury in guinea-pig isolated heart: Involvement of bradykinin, protein kinase C and prostaglandins. *Clin. Expt. Pharm. Physiol.* 2000;27:257-262.
- 208.Matoba S., Tasumi T, Keira N,Kawahara A.**Cardioprotective effect of angiotensin converting enzyme inhibition against hypoxia/reoxygenation injury in cultured rat myocytes. *Circulation* 1999;99:817 ± 822.

- 209.Sato M, Engelman RM, Otani H, Maulik N, Rousou JA, Flack JE, III.** Myocardial protection by preconditioning of heart with losartan, an angiotensin II typ. 1-receptor blocker: implication of bradykinin dependant and bradykinin-independent mechanisms.Circulation 2000;102(Suppl. 3):III346–III351.
- 210.Hornig B, Kohler C, Schlink D, Tatge H, Drexler H.** AT1-receptor antagonism improves endothelial function in coronary artery disease by a bradykinin/ B2-receptor-dependent mechanism. Hypertension 2003;41:1092-5.
- 211.Patel DJ, Purcell HJ, Fox KM.** Cardioprotection by opening of the KATP channel in unstable angina. Is this a clinical manifestation of myocardial preconditioning? Results of a randomized study with nicorandil. Eur Heart J 1999;20:51–7.
- 212.The Iona Study Group.** Effect of nicorandil on coronary events in patients with stable angina: the impact of nicorandil in angina (IONA) randomised trial. Lancet 2002 359: 1269–1275.
- 213.Matsuo H, Watanabe S, Segawa T, et al.** Evidence of pharmacologic preconditioning, during PTCA by intravenous pretreatment with ATP-sensitive K⁺ channel opener nicorandil. Eur Heart J 2003;24:1296-303.
- 214.Sakai K, Yamagata T, Teragawa H, Matsuura H, and Chayama K.** Nicorandil enhances myocardial tolerance to ischemia without progressive collateral recruitment during coronary angioplasty. Circ J 2002;66: 317–322.
- 215.Engler RL and Yellon DM.** Sulphonylurea KATP blockade in type II diabetes and preconditioning in cardiovascular disease. Time for reconsideration. Circulation 1996; 95 : 2297–2301.
- 216.Riess ML, Stowe DF, Warltier DC.** Cardiac pharmacological preconditioning with volatile anesthetics: from bench to bedside? Am J Physiol Heart Circ Physiol ;286:H1603-7,2004.
- 217.Zaugg M, Lucchinetti E, Garcia C, Pasch T, Spahn DR, Schaub MC.** Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part II. Clinical implications. Br J Anaesth 2003;91:566-76.
- 218.Bell SP, Sack MN, Patel A, Opie LH, Yellon DM.** Delta opioid receptor stimulation mimics ischemic preconditioning in human heart muscle. J Am Coll Cardiol 2000 ;36:2296-302.
- 219.Lee TM, Su SF, Chou TF, Tsai CH.** Effect of pravastatin on myocardial protection during coronary angioplasty and the role of adenosine. Am J Cardiol ;88:1108-13,2001
- 220. Dawkins R, Purcell TS.** Investigator's brochure: quinapril hydrochloride (CI-906). Ann Arbor, MI: Parke-Davis; May 9, 1989
- 221.Michaelidis AP, Triposkiadis FK, Boudoulas H et al.** New coronary artery disease index based on exercise-induced QRS changes. Am Heart J 1990 ; 120:292-302.

- 222.Huang C-H, Kim S-J, Ghaleh B, et al.** An adenosine agonist and preconditioning shift the distribution of myocardial blood flow in unconscious pigs. *Am J Physiol* 1999;276:H368–75.
- 223.Tomai F, Crea F, Danesi A, et al.** Effect of A1 adenosine receptor blockade on the warm-up phenomenon. *Cardiologia* 1997 ;42 :385–92.
- 224.Gross GJ, Auchampach JA.** Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs.*Circ Res* 1992; 70: 223–33.
- 225.Tomai F, Crea F, Gaspardone A et al.** Ischemic preconditioning during coronaryangioplasty is prevented by glibenclamide,a selective ATP-sensitive K⁺ channel blocker.*Circulation* 1994; 90: 700–5.
- 226. Deutsch N, Klitzner T, Lamp S, Weiss J.** Activation of cardiac ATP-sensitiveK current during hypoxia: correlation with tissue ATP levels. *Am J Physiol* 1991; 261 :H671–H676.
- 227.Tomai F.** Warm up phenomenon and preconditioning in clinical practice. *Heart* 2002 ;7: 99–100.
- 228.Pepine CJ.** Angiotensin converting enzyme inhibition and coronary artery disease. *J Hyperten* 1994 ; 12: S65–S71.
- 229.Edwards RJ,Redwood SR, Lambiase PD,Marber MS.**The effect of an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a K⁺_{ATP} channel opener on warm up angina. *Eur Heart J* 2005;26:598–606.
- 230. Downey JM, Cohen MV.** Signal transduction in ischemic preconditioning. *Adv Exp Med Biol* 1997.;430:39–55.
- 231.Anderson TJ, Meredith IT, Charbonneau F et al.**Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation* 1996; 93: 1647-50.
- 232.Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD,Alexander RW.**Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1994 ; 74: 1141-8.
- 233.Becker RHA,Wierner G, Linz W.** Preservation of endothelial function by ramipril in rabbits on a long-term atherogenic diet. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;18: S110-S115.
- 234.Matsubara E,Li Y,Guo Q,Kawamura T,Mori N,Nagasaka M,Kohzuki M et al.** Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor and exercise training on exercise capacity and skeletal muscle *J Hypertens* 2007 ;25:1241-8.
- 235.Gibbs SR,Crean PA, Mockus L,Wright C,Sutton GC,Fox KM.**The variable effects of angiotensin converting enzyme inhibition on myocardial ischaemia in chronic stable angina.*Br Heart J* 1989;62:112-7.

- 236. Gobel FL, Norstrom LA, Nelson RR, Jorgensen CR and Wang Y.** The rate-pressure product as an index of myocardial oxygen consumption during exercise in patients with angina pectoris *Circulation* 1978 ;57:549-556.
- 237. Vatner SF, Higgins CB, Franklin D, Braunwald E.** Role of tachycardia in mediating the coronary hemodynamic response to severe exercise. *J Appl Physiol* 1972;32: 380.
- 238. Kitamura K, Jorgensen CR, Gobel FL, Taylor HL, Wang Y.** Hemodynamic correlates of myocardial oxygen consumption during upright exercise. *J Appl Physiol* 1972 32: 516.
- 239. Creager MA, Massie BM, Faxon DP et al.** Acute and long term effects of enalapril on the cardiovascular response to exercise and exercise tolerance in patients with congestive heart failure. *Br Heart J* 1995; 73 (Suppl 3): 194-199.
- 240. Northridge DB, McMurray JJV, Dargie HJ.** A multi-centre, double-blind, placebo controlled trial comparing neutral endopeptidase inhibition with converting enzyme inhibition in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1985; 6: 163-73
- 241. Mancini GBJ, Henry GC, Macaya C, et al.** Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease: the TREND (Trial on Reversing Endothelial Dysfunction) Study. *Circulation* 1996;94:258-65.
- 242. Nickenig G, Stäblein A, Wassmann S, Wyen C, Müller C, Böhm M.** Acute effects of ACE inhibition on coronary endothelial dysfunction *JRAAS* 2000;1:361-64.

