



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Θέμα: «Η δράση της ρανολαζίνης σε κοιλιακές αρρυθμίες μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου σε κονίκλους»

Μοσχοβίδης Βασίλειος

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- Αηδονίδης Ισαάκ: Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσιολογίας (Επιβλέπων)
- Χατζηευθυμίου Αποστολία: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσιολογίας
- Γερμενής Αναστάσιος: Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας

Διπλωματική εργασία υποβληθείσα στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ως μέρος των απαιτήσεων για την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στις Κλινικές Εφαρμογές Μοριακής Ιατρικής

Λάρισα, Οκτώβριος 2018



**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCE
FACULTY OF MEDICINE**



**MASTER PROGRAM IN
“CLINICAL APPLICATIONS OF MOLECULAR MEDICINE”**

MASTER THESIS

Title: “Effect of Ranolazine on ventricular arrhythmias after acute myocardial infarction in rabbits”

by

Moschovidis Vasileios

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- Αηδονίδης Ισαάκ: Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσιολογίας (Επιβλέπων)
- Χατζηευθυμίου Αποστολία: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσιολογίας
- Γερμενής Αναστάσιος: Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας

Master thesis subjected to Faculty of Medicine of University of Thessaly for the Master Program in
Clinical Applications of Molecular Medicine

Larisa, October 2018

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες	5
Περίληψη	6
Abstract	7
Εισαγωγή	8

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ηλεκτροφυσιολογία κοιλιακού μυοκαρδίου.....	10
1.1 Ανατομικά χαρακτηριστικά κοιλιακών κυττάρων.....	10
1.2 Ηλεκτροφυσιολογικά χαρακτηριστικά κοιλιακών κυττάρων.....	10
1.2 Δυναμικό ενέργειας μυοκαρδιακού κυττάρου.....	10
2. Μονοφασικά δυναμικά ενέργειας	12
2.1 Γενικά	12
2.2 Ιστορικά στοιχεία	13
2.3 Απαγωγή Μονοφασικών Δυναμικών (ΜΔΕ, ΜΑΡ).....	14
2.4 Ηλεκτρόδια επαφής για την απαγωγή ΜΔΕ.....	15
3. Τασσοεξαρτώμενοι διάλυτοι νατρίου.....	15
3.1 Γενικά	15
3.2 Λειτουργικές καταστάσεις των διαύλων νατρίου	15
3.3 Μοριακή δομή του διαύλου Nav1.5.....	16
3.4 Πόρος και φίλτρο εκλεκτικότητας	17
3.5 Τασσοεξαρτώμενη ενεργοποίηση και άνοιγμα του πόρου	18
3.6 Μηχανισμός ταχείας απενεργοποίησης.....	18
4. Ανερέθιστη περίοδος	20
4.1 Ορισμός	20
4.2 Διαστήματα ανερεθίστου περιόδου.....	20
5. Όψιμο ρεύμα νατρίου (INaL).....	21

5.1 Ο ρόλος του INaL σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις	21
5.2 Μηχανισμοί αύξησης του INaL στην ισχαιμία.....	21
5.2 INaL και αρρυθμιογένεση	22
6. Μηχανισμοί κοιλιακών αρρυθμιών	22
6.1 Ανώμαλος αυτοματισμός.....	22
6.2 Πυροδοτούμενη δραστηριότητα (Πρώιμα και όψιμα μεταδυναμικά)	23
6.3 Ανατομική επανείσοδος (Anatomical reentry)	24
7. Κοιλιακές αρρυθμίες μετά από έμφραγμα μυοκαρδίου	25
7.1 Παθοφυσιολογία κοιλιακών αρρυθμιών μετά από έμφραγμα μυοκαρδίου	25
7.1.2 Παθοφυσιολογία κοιλιακών αρρυθμιών στην οξεία φάση του εμφράγματος	26
7.1.3 Παθοφυσιολογία κοιλιακών αρρυθμιών στην υποξεία φάση του εμφράγματος	26
7.2 Αντιαρρυθμικά φάρμακα - Ταξινόμηση.....	27
8. Ρανολαζίνη.....	28
8.1 Γενικά	28
8.2 Ιοντικές δράσεις στα μυοκαρδιακά κύτταρα	29
8.3 Δράση της ρανολαζίνης στο διάλυο νατρίου.....	29

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Υλικό	32
Μέθοδοι	34
Αποτελέσματα.....	38
Συζήτηση	46
Βιβλιογραφία	49

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της διπλωματικής μου εργασίας, κ. Αηδονίδη Ισαάκ, αναπληρωτή καθηγητή ιατρικής φυσιολογίας, ο οποίος με καθοδήγησε σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της ερευνητικής μελέτης προσφέροντας πολύτιμες γνώσεις στην πειραματική διαδικασία και συγγραφή της μελέτης.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιμελητή καρδιοχειρουργικής κλινικής του ΠΓΝΛ κ. Σιμόπουλο Βασίλειο, για τη σημαντική συνεισφορά του στο χειρουργικό μέρος των πειραμάτων. Επίσης, ευχαριστώ την κ. Χατζηευθυμίου Αποστολία, αναπληρώτρια καθηγήτρια ιατρικής φυσιολογίας, για τη βοήθειά της στην ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Σταματίου Ροδόπη καθώς και την κ. Παρασκευά Ευφροσύνη για τη συνεργασία τους, όπως επίσης και την κ. Νούτσου Βασιλική για την γραμματειακή υποστήριξη και καθοδήγηση αναφορικά με την παρουσίαση της διπλωματική εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Γενικά

Η ρανολαζίνη είναι ένας νέος αντιστηθαγχικός παράγοντας με ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες. Πειραματικές και κλινικές μελέτες έδειξαν σημαντική αντιαρρυθμική δράση σε κοιλιακές και κοιλιακές αρρυθμίες. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να αξιολογηθεί η επίδραση της ρανολαζίνης σε κοιλιακές αρρυθμίες σε πειραματικό μοντέλο εμφράγματος του μυοκαρδίου κονίκλου.

Μέθοδος

Η μελέτη έγινε σε αναισθητοποιημένους κόνικλους οι οποίοι υποβλήθηκαν σε απολίνωση στεφανιαίας αρτηρίας για την πρόκληση οξέος εμφράγματος. Τρεις έως 7 ημέρες αργότερα 10 κόνικλοι υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένη βηματοδότηση με ειδικούς καθετήρες απαγωγής μονοφασικών δυναμικών και βηματοδότησης για τη μέτρηση της κοιλιακής επαναπόλωσης, της δραστηκής ανερεθίστου περιόδου και την πρόκληση κοιλιακών αρρυθμιών πριν και μετά από ενδοφλέβια χορήγηση ρανολαζίνης 2.4 και 4.8 mg/kg αθροιστική δόση.

Αποτελέσματα

Κατά τη βηματοδότηση ελέγχου, 2 ζώα ανέπτυξαν μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία (KT), άλλα 2 κοιλιακή μαρμαρυγή και 6 εμμένουσα KT. Η πρώτη δόση ρανολαζίνης (2.4 mg/kg) δεν εμπόδισε την πρόκληση κοιλιακών αρρυθμιών σε κανένα από τα πειραματόζωα. Αντίθετα μετέτρεψε την μη εμμένουσα κοιλιακή KT σε εμμένουσα, ενώ δεν άλλαξε σημαντικά το μέσο μήκος κύματος της ταχυκαρδίας στα 6 πειραματόζωα (από 100.8 ± 10.6 σε 98.6 ± 12 ms). Σε 2 ζώα, η ρανολαζίνη μετέτρεψε τη εμμένουσα KT σε κοιλιακή μαρμαρυγή (KM). Η κοιλιακή δραστηκή ανερέθιστη περίοδος παρέμεινε σχεδόν αμετάβλητη μετά την πρώτη δόση του φαρμάκου ως προς τον έλεγχο (από 111.7 ± 5 σε 110 ± 6 ms, $p=NS$). Συγκριτικά, η δεύτερη δόση ρανολαζίνης εμπόδισε την πρόκληση μη εμμένουσας KT και KM. Αύξησε σημαντικά τη δραστηκή ανερέθιστη περίοδο των κοιλιών σε 120 ± 7 ms ως προς τον έλεγχο ($p < 0.01$). Το μήκος κύματος της εμμένουσας KT αυξήθηκε σε 150.8 ± 22.9 ms ως προς την ομάδα ελέγχου σε 4 από τα 6 πειραματόζωα ($p < 0.01$), ενώ στα υπόλοιπα 2 η ρανολαζίνη εμπόδισε την πρόκληση της ταχυκαρδίας.

Συμπεράσματα

Η μελέτη έδειξε ότι η ρανολαζίνη έχει δοσοεξαρτώμενη αντιαρρυθμική δράση σε κοιλιακές ταχυαρρυθμίες που προκλήθηκαν με προγραμματισμένη βηματοδότηση κατά τη διάρκεια υποξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου σε κόνικλους.

ABSTRACT

Background

Ranolazine is a new antianginal agent with electrophysiological properties. Experimental and clinical studies have shown significant antiarrhythmic action in atrial and ventricular arrhythmias. The aim of this study was to evaluate the effect of ranolazine on ventricular arrhythmias in an experimental model of myocardial infarction in rabbits.

Method

The study was conducted in anesthetized rabbits that underwent coronary artery ligation to induce acute infarction. Three to 7 days later 10 rabbits were subjected to programmed pacing by using specific PACING/RECORDING monophasic action potential catheters to measure ventricular repolarization and effective refractory period, and to induce ventricular arrhythmias before and after intravenous administration of ranolazine 2.4 and 4.8 mg/kg cumulative dose..

Results

During control pacing, 2 animals developed nonsustained ventricular tachycardia (VT), further 2 animals ventricular fibrillation, and 6 animals sustained VT. The first dose of ranolazine (2.4 mg/kg) did not prevent the production of ventricular arrhythmias in any of the animals. In contrast, it aggravated nonsustained VT into sustained forms, while it did not significantly change the cycle length of tachycardia in 6 animals (from 100.8 ± 10.6 to 98.6 ± 12 ms). In 2 animals with sustained VT, ranolazine facilitated transition to ventricular fibrillation (VF). Ventricular effective refractory period was almost unchanged after the first dose compared to control (from 111.7 ± 5 to 110 ± 6 msec, $p = \text{NS}$). However, the second dose of ranolazine prevented reinducibility of nonsustained VT and VF. It significantly increased VERP to 120 ± 7 ms ($p < 0.01$ vs control), while sustained VT cycle length was prolonged to 150.8 ± 22.9 ms ($p < 0.01$ vs control) in 4 out of 6 animals, while in the remaining 2 animals it prevented its reproducibility.

Conclusions

This study demonstrated that ranolazine has a dose-dependent antiarrhythmic effect on ventricular tachyarrhythmias caused by programmed pacing during subacute myocardial infarction in rabbits.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι κοιλιακές αρρυθμίες μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελούν συχνή αιτία αιφνίδιου καρδιακού θανάτου στον γενικό πληθυσμό. Η πρόληψη αυτών των αρρυθμιών εξακολουθεί να αποτελεί ένα διαχρονικό πρόβλημα στην κλινική πράξη [1].

Η αρρυθμογένεση μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι αποτέλεσμα μεταβολικών και ηλεκτροφυσιολογικών διαταραχών των μυοκαρδιακών κυττάρων. Οι κοιλιακές ταχυαρρυθμίες της οξείας φάσης του εμφράγματος οφείλονται κυρίως σε ανώμαλο αυτοματισμό και πυροδοτούμενη δραστηριότητα (πρώιμα και όψιμα μεταδυναμικά), χωρίς να αποκλείεται ο μηχανισμός επανεισόδου (reentry). Αντίθετα, στην υποξεία φάση του εμφράγματος (3-7 ημέρες μετά το έμφραγμα), το υπόστρωμα πρόκλησης αρρυθμιών φαίνεται να ευνοείται από ανομοιογενείς ιστολογικές βλάβες και ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές του μυοκαρδίου, δημιουργώντας τις προϋποθέσεις για ανατομική επανείσοδο περισσότερο παρά εστιακή δραστηριότητα [2-4].

Η ρανολαζίνη σε θεραπευτικές συγκεντρώσεις είναι αναστολέας του όψιμου ρεύματος Na^+ και της ταχείας συνιστώσας του ανορθωτικού ρεύματος K^+ σε κόλπους και κοιλίες. Η ταυτόχρονη ανασταλτική επίδρασή της στα δύο αυτά ιοντικά ρεύματα αντίθετης κατεύθυνσης, έχει ως αποτέλεσμα την μικρή μεταβολή της διάρκειας επαναπόλωσης. Η ρανολαζίνη δεν επηρεάζει σημαντικά το ταχύ ρεύμα Na^+ στο κοιλιακό μυοκάρδιο σε φυσιολογική καρδιακή συχνότητα και ως εκ τούτου δε μεταβάλλει την αγωγιμότητα [5].

Η επίδραση της ρανολαζίνης στην πρόληψη κοιλιακών αρρυθμιών της οξείας φάσης του εμφράγματος έχει μελετηθεί από τον Ogawa et al., οι οποίοι έδειξαν πως η ρανολαζίνη διευκολύνει την ανάταξη κοιλιακών ταχυαρρυθμιών ελαττώνοντας την επαγόμενη από το αυξημένο όψιμο ρεύμα Na^+ εστιακή δραστηριότητα στην οξεία ισχαιμία [6]. Τα αποτελέσματα της παραπάνω μελέτης επιβεβαιώνονται από αντίστοιχες κλινικές μελέτες [7,8]. Ωστόσο η δράση της ρανολαζίνης στις κοιλιακές αρρυθμίες της υποξείας φάσης του εμφράγματος δεν έχει διερευνηθεί.

Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της δόσοεξαρτώμενης αντιαρρυθμικής δράσης της ρανολαζίνης σε πειραματόζωα με υποξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και κοιλιακές ταχυαρρυθμίες. Αν και τα αποτελέσματα της μελέτης δεν μπορούν να μεταφερθούν άμεσα στην κλινική πράξη, μπορεί ωστόσο να απαντήσουν στην ερώτηση εάν η χορήγηση της ρανολαζίνης εμπεριέχει ή όχι κινδύνους σε ασθενείς μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου αναφορικά με μία πιθανή προαρρυθμική δράση.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AP	Δυναμικό ενέργειας (Action potential)
APD	Διάρκεια δυναμικού ενέργειας (Action potential duration)
ARP	Απόλυτη ανερέθιστη περίοδος (Absolute refractory period)
ADP	Διφωσφορική αδενοσίνη
ATP	Τριφωσφορική αδενοσίνη
CaMKII	Κινάση εξαρτώμενη από το σύμπλοκο ασβεστίου-καλμοδουλίνης
CV	Ταχύτητα αγωγιμότητας (Conduction velocity)
DADs	Όψιμα μεταδυναμικά (Delayed afterdepolarizations)
DTE	Διαστολικός ουδός διέγερσης (Diastolic threshold potential)
EADs	Πρώιμα μεταδυναμικά (Early afterdepolarizations)
ERP	Δραστική ανερέθιστη περίοδος (Effective refractory period)
IC50	Συγκέντρωση που προκαλεί το 50% του μέγιστου ανασταλτικού αποτελέσματος
ICaL	Ιοντικό ρεύμα Ca^{2+}
IK1	Ανορθωτικό ρεύμα K^+
IKr	Ταχεία συνιστώσα ανορθωτικού ρεύματος K^+
IKs	Βραδεία συνιστώσα ανορθωτικού ρεύματος K^+
INa	Ταχύ ρεύμα Na^+
INaL	Όψιμο ρεύμα Na^+
Ito1	Παροδικό ρεύμα εξόδου K^+
LAD	Πρόσθιος κατιών κλάδος αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας (Left anterior descending artery)
MAP	Μονοφασικό δυναμικό ενέργειας (Monophasic action potential)
NCX	Ανταλλάκτης Na^+/Ca^{2+}
PKC	Πρωτεϊνική κινάση C
PRR	Μεταεπαναπολωτική ανερέθιστη περίοδος (Post-repolarization refractoriness)
ROS	Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Reactive oxygen species)
RRP	Σχετική ανερέθιστη περίοδος (Relative refractory period)
VF	Κοιλιακή μαρμαρυγή (Ventricular fibrillation)
Vmax	Μέγιστη ταχύτητα εκπόλωσης της κυτταρικής μεμβράνης
VT	Κοιλιακή ταχυκαρδία (Ventricular tachycardia)
ΜΔΕ	Μονοφασικό δυναμικό ενέργειας
ΣΔ	Σαρκοπλασματικό δίκτυο

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

1.1 Ανατομικά χαρακτηριστικά κοιλιακών κυττάρων

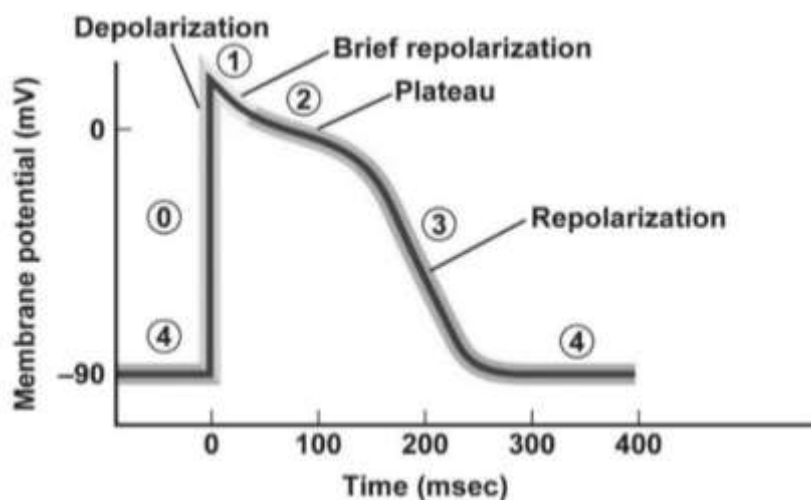
Τα μυοκαρδιακά κύτταρα των κοιλιών είναι επιφορτισμένα με την επιτέλεση του μηχανικού έργου της καρδιάς. Τα κυριότερα δομικά στοιχεία τους είναι η κυτταρική μεμβράνη (σαρκείλημμα), το σαρκοπλασματικό δίκτυο, οι συσταλτές πρωτεΐνες (ακτίνη και μυοσίνη), η ύπαρξη ενός ή περισσότερων πυρήνων καθώς και ο μεγάλος αριθμός μιτοχονδρίων που καταλαμβάνουν περίπου το 35% του όγκου του κυττάρου. Διαθέτουν κυλινδρικό σχήμα, με μήκος 60-140 μm και διάμετρο 20-25 μm . Το σαρκείλημμα σχηματίζει άφθονους μικροσωληνίσκους ενώ τα κύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με δεσμοσώματα και χασματικές συνάψεις [9].

1.2 Ηλεκτροφυσιολογικά χαρακτηριστικά κοιλιακών κυττάρων

Τα κοιλιακά μυοκαρδιακά κύτταρα, όπως και τα κολπικά, υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν διαθέτουν αυτοματισμό. Η ηλεκτρική και μηχανική τους δραστηριότητα (ηλεκτρική διέγερση και συστολή), εξαρτάται από εξωγενή ηλεκτρικά ερεθίσματα από τα αυτοματικά κύτταρα του φλεβόκομβου. Το δυναμικό ηρεμίας τους είναι περισσότερο ηλεκτραρνητικό από αυτό των κολπικών και αυτοματικών κυττάρων και κυμαίνεται μεταξύ -85 και -90 mV. Το κοιλιακό δυναμικό ενέργειας έχει διάρκεια περίπου 300 ms και μέγιστο εύρος 120-130 mV [10]. Η τιμή δυναμικού στην οποία προκαλείται εκπόλωση των κοιλιακών κυττάρων είναι περίπου -65 έως -70 mV (ουδός διέγερσης), ενώ η μέγιστη ταχύτητα εκπόλωσης της κυτταρικής μεμβράνης εκτιμάται στα 150-200 V/s (V_{max}) [10,11].

1.2 Δυναμικό ενέργειας μυοκαρδιακού κυττάρου

Το δυναμικό ενέργειας αντιπροσωπεύει τη μεταβολή της τιμής του διαμεμβρανικού δυναμικού του μυοκαρδιακού κυττάρου από την μετακίνηση ιόντων διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης (Εικόνα 1). Οι φάσεις του δυναμικού ενέργειας διέπονται από την ενεργοποίηση και απενεργοποίηση συγκεκριμένων ιοντικών διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου που οδηγεί σε σύσπαση του μυοκαρδιακού κυττάρου.



Εικόνα 1. Δυναμικό ενέργειας κοιλιακού μυοκυττάρου. Membrane potential: μεμβρανικό δυναμικό, Depolarization: Εκπόλωση (φάση 0), Brief repolarization: Σύντομη ταχεία επαναπόλωση (φάση 1), Plateau: Οροπέδιο (φάση 2), Repolarization: Κύρια φάση επαναπόλωσης (φάση 3), Δυναμικό ηρεμίας (φάση 4). (Ανατύπωση από: Cindy L. Stanfield, Principles of human physiology, Fourth edition, Benjamin Cummings, 2010)

Η φάση 4 αντιπροσωπεύει τη φάση ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης, Στη φάση ηρεμίας, η τιμή του μεμβρανικού δυναμικού είναι περίπου -90 mV , κοντά στο δυναμικό ισορροπίας του K^+ (-95mV). Λόγω της διαφοράς ανάμεσα στο δυναμικό ηρεμίας και τα δυναμικά ισορροπίας Na^+ και K^+ ($+55\text{mV}$ και -95mV αντίστοιχα), προκαλείται διαφυγή ιόντων η οποία εξισορροπείται από τη δράση της αντλίας Na^+/K^+ (είσοδος 2 ιόντων K^+ : έξοδος 3 ιόντων Na^+) [12].

Η φάση 0 προκαλείται από την ταχεία διάνοιξη των τασεο-εξαρτώμενων διαύλων Na^+ ($\text{Na}_v1.5$), που οδηγεί σε ταχεία εκπόλωση της μεμβράνης με απότομη αύξηση του μεμβρανικού δυναμικού. Η έναρξη της εκπόλωσης οδηγεί σε μια μικρή αρχικά αύξηση του μεμβρανικού δυναμικού έως -55 έως -60 mV στην οποία ενεργοποιούνται οι διάλυλοι Na^+ . Η είσοδος Na^+ προκαλεί περαιτέρω εκπόλωση και μέσω θετικής ανατροφοδότησης, σε διάνοιξη περισσότερων διαύλων Na^+ . Μετά τη φάση 0 οι διάλυλοι Na^+ απενεργοποιούνται ταχέως [13].

Η φάση 1 οφείλεται κυρίως στο παροδικό ρεύμα εξόδου K^+ (I_{to} , transient outward current) και οδηγεί σε μικρή πτώση της τιμής του μεμβρανικού δυναμικού (ακίδα δυναμικού ενέργειας). Οι υπεύθυνοι διάλυλοι είναι οι $\text{K}_v4.2$ (I_{to} , fast) και $\text{K}_v1.4$ (I_{to} , slow), οι οποίοι ενεργοποιούνται σε τιμές δυναμικού θετικότερες των -30 mV [14].

Ακολουθεί η φάση 2 (οροπέδιο), κατά την οποία η τιμή του δυναμικού δεν μεταβάλλεται ιδιαίτερα. Στη φάση αυτή ενεργοποιούνται οι διάλυλοι Ca^+ τύπου L ($\text{Ca}_v1.2$) με αποτέλεσμα την είσοδο Ca^{2+} στο κύτταρο (ιοντικό ρεύμα I_{CaL}). Επιπλέον ενεργοποιούνται εν μέρει διάλυλοι K^+ (K^+ slow activating delayed rectifier current), με αποτέλεσμα την έξοδο K^+ από το κύτταρο. Οι διάλυλοι Ca^+ τύπου L ενεργοποιούνται σε τιμές δυναμικού θετικότερες των -30mV και

απενεργοποιούνται σταδιακά [15]. Σε μικρότερο βαθμό, είσοδος Ca^{2+} γίνεται και μέσω του ανταλλάκτη Na^+/Ca^{2+} . Η φάση του οροπεδίου τερματίζεται από την βραδεία απενεργοποίηση των διαύλων Ca^{2+} (από το μεμβρανικό δυναμικό και το σύμπλεγμα Ca^{2+} /καλμοδουλίνης) σε συνδυασμό με την ενεργοποίηση διαύλων K^+ [16].

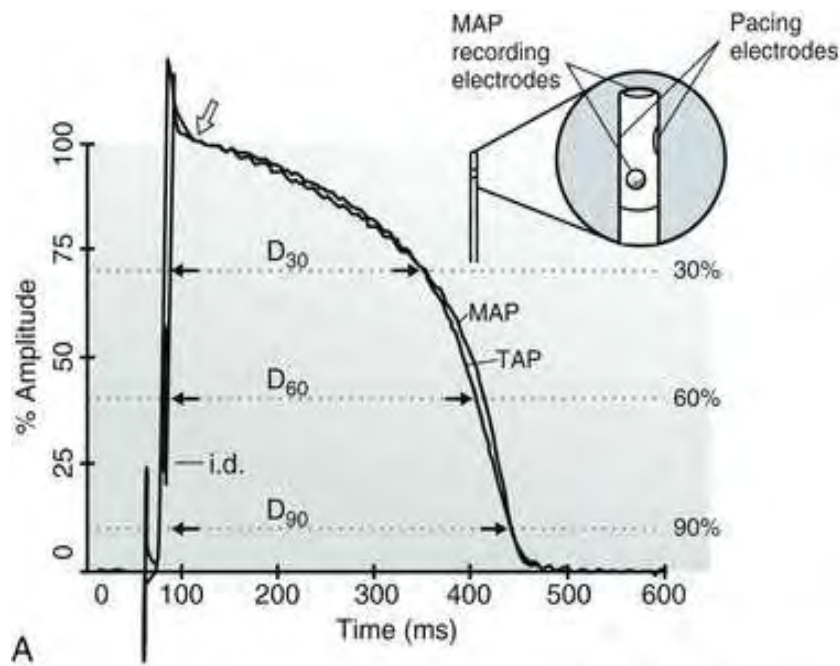
Η φάση 3 χαρακτηρίζεται από σημαντική έξοδο K^+ μέσω της ταχείας και της βραδείας συνιστώσας του όψιμου ανορθωτικού ρεύματος (IKr και IKs), από την ενεργοποίηση των διαύλων $K_v11.1$ και $K_v7.1$ αντιστοίχως. Επιπλέον, στην έξοδο K^+ συμμετέχει το IK1 (διάυλος $K_{ir}2.x$). Η έξοδος K^+ οδηγεί σε ταχεία επαναπόλωση της μεμβράνης και επιστροφή του δυναμικού στην τιμή ηρεμίας [17]. Το IK1 ενεργοποιείται προς το τέλος της επαναπόλωσης και παραμένει ενεργό και κατά την διαστολή, παίζοντας σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση του μεμβρανικού δυναμικού ηρεμίας.

Η μορφή του κοιλιακού δυναμικού ενέργειας έχει σχήμα «ακίδας-θόλου» (spike and dome morphology) με μεγάλη φάση οροπεδίου και ταχεία φάση επαναπόλωσης. Αντίθετα το κολπικό δυναμικό ενέργειας παρουσιάζει περισσότερο τριγωνικό σχήμα, με λιγότερο σαφή και βραχύτερη φάση οροπεδίου και αργή φάση επαναπόλωσης ένεκα μειωμένου IK1 [17]. Συνεπώς, τα κοιλιακά κύτταρα διαθέτουν μεγαλύτερη διαστολική περίοδο.

2. ΜΟΝΟΦΑΣΙΚΑ ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

2.1 Γενικά

Τα μονοφασικά δυναμικά (ΜΔΕ) αποτελούν σημαντικό εργαλείο που μας επιτρέπει τη μελέτη των ηλεκτροφυσιολογικών μηχανισμών του μυοκαρδίου σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις. Αποτελούν εξωκυττάρια καταγραφές της διάρκειας επαναπόλωσης σε πάλλουσα καρδιά και έχουν κοινά χαρακτηριστικά με τα διαμεμβρανικά δυναμικά ενέργειας [18,19]. Από την καταγραφή των ΜΔΕ, αντλούμε πληροφορίες κυρίως σχετικά με την επαναπόλωση και την ανερεθίστη περίοδο των μυοκαρδιακών κυττάρων. Οι πληροφορίες σχετίζονται με τη διάρκεια, το μέγεθος, τη μορφή και τις μεταβολές του δυναμικού ενέργειας του μυοκαρδίου καθώς και με τη διάρκεια της ανερεθίστου περιόδου [20]. Τα ΜΔΕ διευκολύνουν σημαντικά τον εντοπισμό των διαταραχών επαναπόλωσης και ανερεθίστου περιόδου και το ρόλο αυτών των παραμέτρων στους μηχανισμούς αρρυθμιών καθώς και το μηχανισμό δράσης νέων αντιαρρυθμικών φαρμάκων (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Ταυτόχρονη καταγραφή ενδοκυττάριου διαμεμβρανικού δυναμικού ενέργειας (TAP) και εξωκυττάριου μονοφασικού δυναμικού ενέργειας (ΜΔΕ). Amplitude: Εύρος δυναμικού. D₃₀/60/90: η διάρκεια του ΜΔΕ κατά το 30%, 60% και 90% της επαναπόλωσης (από το επίπεδο του οροπεδίου: λευκό βέλος). Καθετήρας ηλεκτροδίων επαφής για την απαγωγή ΜΔΕ. MAP recording electrodes: ηλεκτρόδια καθετήρα απαγωγής ΜΔΕ. Pacing electrodes: Ηλεκτρόδια βηματοδότησης στα πλάγια του καθετήρα. **i.d.** (intrinsic deflection): το σημείο ταχύτερης ανόδου του δυναμικού ενέργειας. (Ανατύπωση από: MOORE H, FRANZ M. Monophasic Action Potential Recordings in Humans. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2007;18(7):787-790)

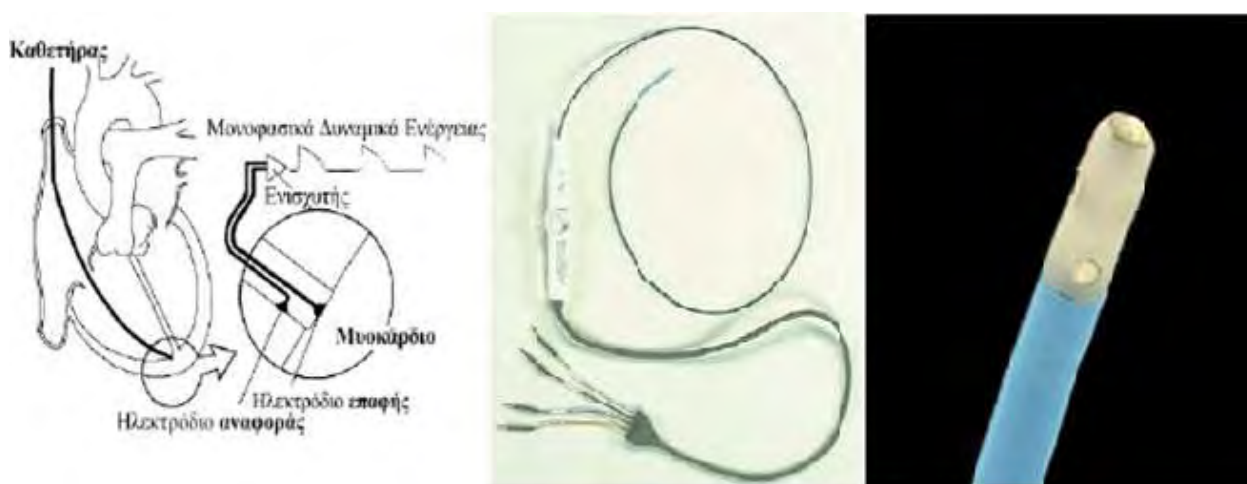
2.2 Ιστορικά στοιχεία

Η πρώτη καταγραφή ΜΔΕ, πραγματοποιήθηκε το 1882-3 από τους Burdon et al.. Η τεχνική περιλάμβανε την τοποθέτηση ενός ηλεκτροδίου στην εξωτερική επιφάνεια του μυοκαρδίου και ενός άλλου ηλεκτροδίου σε μια τραυματισμένη περιοχή του μυοκαρδίου. Η τεχνική «cellular impalement», εφαρμόστηκε σε μυοκαρδιακά κύτταρα από τους Coraboeuf και Weidmann (1949) και τον Woodbury (1950). Η τεχνική του ηλεκτροδίου αναρρόφησης χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τους Schutz et al., ενώ ο Korsgren et al. χρησιμοποίησαν την ίδια τεχνική για την καταγραφή ΜΔΕ από ανθρώπινο μυοκάρδιο. Ο Olsson et al. χρησιμοποίησαν και εξέλιξαν την τεχνική του ηλεκτροδίου αναρρόφησης. Η πρώτη μη τραυματική μέθοδος καταγραφής μονοφασικών δυναμικών αναπτύχθηκε και δημοσιεύτηκε από τον Jochim et al. το 1934 [18]. Ο καθετήρας ηλεκτροδίων επαφής χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Franz et al. τη δεκαετία του 1980. Ο Franz et al. βασισμένοι στη μελέτη του Jochim, κατασκεύασαν έναν καθετήρα, ο οποίος μέσω απλής επαφής με το μυοκάρδιο, λάμβανε σταθερό και υψηλής ποιότητας ΜΔΕ, επιτρέποντας καταγραφή μεγάλης διάρκειας από μια περιοχή του μυοκαρδίου.

Η τεχνική των ηλεκτροδίων επαφής προτιμήθηκε έναντι των ηλεκτροδίων αναρρόφησης, λόγω του κινδύνου εμβολισμού με αέρα και της τοπικής βλάβης του μυοκαρδίου. Στην πορεία αναπτύχθηκαν νέοι καθετήρες, με δυνατότητα εξωτερικής βηματοδότησης και εργαλεία επαφής (probes). Η λήψη των ΜΔΕ μπορεί να γίνει από το επικάρδιο (χειρουργικά) ή το ενδοκάριο (ενδοαγγειακά) [18,19].

2.3 Απαγωγή Μονοφασικών Δυναμικών (ΜΔΕ, ΜΑΡ)

Η απαγωγή των ΜΔ γίνεται με τη βοήθεια ειδικού καθετήρα ο οποίος περιέχει δύο ηλεκτρόδια (Franz contact electrode MAP catheter). Στην άκρη του καθετήρα, βρίσκεται το ηλεκτρόδιο απαγωγής δυναμικού (recording electrode) διαμέτρου 0,5-2 mm, ενώ σε απόσταση 3 mm από αυτό βρίσκεται το ηλεκτρόδιο αναφοράς (reference electrode). Το ηλεκτρόδιο στην άκρη του καθετήρα συνδέεται με την θετική είσοδο, ενώ το ηλεκτρόδιο αναφοράς με την αρνητική είσοδο του συστήματος καταγραφής. Στα πλάγια του καθετήρα βρίσκονται τα ηλεκτρόδια βηματοδότησης (Εικόνα 3). Με τα ΜΔ μπορούμε να μετρήσουμε τη διάρκεια του δυναμικού ενέργειας (επαναπόλωση) της κυτταρικής μεμβράνης με σχετικά υψηλή ακρίβεια. Δε μπορούν ωστόσο να χρησιμοποιηθούν για τη μέτρηση της ταχύτητας εκπόλωσης (φάση 0 του δυναμικού ενέργειας). Το εύρος του ΜΔΕ, ορίζεται από την απόσταση ανάμεσα στο σημείο έναρξης του ΜΔΕ και την κορυφή του οροπεδίου στα κοιλιακά δυναμικά [20,21].



Εικόνα 3. Καθετήρας απαγωγής μονοφασικών δυναμικών. Αριστερά: Σχεδιάγραμμα της θέσης του ηλεκτροδίου στην κορυφή της δεξιάς κοιλίας και των ηλεκτροδίων επαφής και αναφοράς. Κέντρο: Μονοφασικός καθετήρας. Δεξιά: Απεικονίζονται τα ηλεκτρόδια στο άκρο του καθετήρα μονοφασικών δυναμικών (Ανατύπωση από: Τσαλικάκης Γ. Δημήτριος, Μοντελοποίηση της ηλεκτρικής λειτουργίας της καρδιάς, 2005. Προσαρμογή: Μοσχοβίδης Βασίλειος)

2.4 Ηλεκτροδία επαφής για την απαγωγή ΜΔΕ

Το άκρο του ηλεκτροδίου που πιέζει το μυοκάρδιο προκαλεί συνεχή εκπόλωση των υποκείμενων μυοκαρδιακών κυττάρων (περίπου των -20 mV) με αποτέλεσμα οι διάλυλοι Na^+ να απενεργοποιούνται και τα κύτταρα να καθίστανται μη διεγέρσιμα. Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται διαφορά δυναμικού μεταξύ του εκπολωμένου και του γειτονικού μυοκαρδίου, παράγοντας ένα ρεύμα βλάβης περίξ του ηλεκτροδίου με τυπικά δυναμικά αιχμής περίπου $+30$ mV κατά την ηλεκτρική βηματοδότηση μέσω του μονοφασικού καθετήρα. Το ΜΔΕ αντιπροσωπεύει τη διαφορά του μεμβρανικού δυναμικού των κυττάρων μεταξύ του εκπολωμένου από τον καθετήρα μυοκαρδίου και του διεγερθέντος ηλεκτρικά περιβάλλοντα ιστού [22].

3. ΤΑΣΕΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΟΙ ΔΙΑΥΛΟΙ ΝΑΤΡΙΟΥ

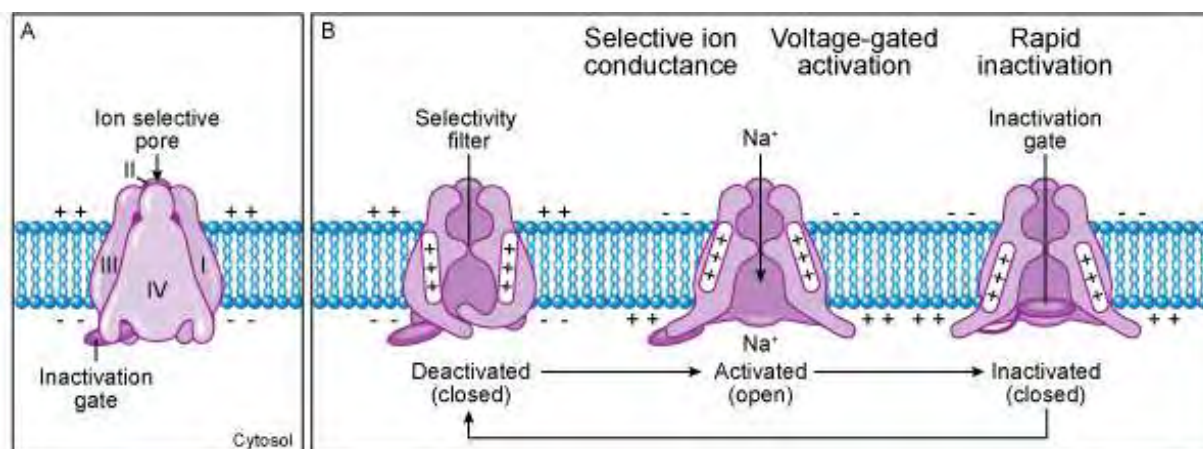
3.1 Γενικά

Οι τασεοεξαρτώμενοι διάλυλοι Na^+ (Na_v) περιλαμβάνουν εννέα ισομορφές. Οι διάλυλοι Na^+ των μυοκαρδιακών κυττάρων ($\text{Na}_v1.5$), είναι υπεύθυνοι για την έναρξη του δυναμικού ενέργειας καθώς και για την μετάδοση των δυναμικών ενέργειας στο μυοκάρδιο. Η ενεργοποίησή τους οδηγεί σε αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης στα ιόντα Na^+ και ταχεία είσοδο Na^+ στο κυτταρόπλασμα. Το ρεύμα εισόδου Na^+ (I_{Na}), καθορίζει την ταχύτητα εκπόλωσης του κυττάρου και εν μέρει την αγωγιμότητα του ερεθίσματος. Η ταχεία απενεργοποίηση των διαύλων Na^+ (1-2 msec), σε συνδυασμό με τα εξωμόλα ιοντικά ρεύματα, οδηγούν στην επαναπόλωση της μεμβράνης στο δυναμικό ηρεμίας. Σύμφωνα με τους Hodgkin και Huxley, οι βασικές ιδιότητες του διαύλου Na^+ είναι τρεις: τασεοεξαρτώμενη ενεργοποίηση, ταχεία απενεργοποίηση και εκλεκτική ιοντική αγωγιμότητα [23,24].

3.2 Λειτουργικές καταστάσεις των διαύλων νατρίου

Οι διάλυλοι Na^+ μπορούν να βρίσκονται σε τρεις λειτουργικές καταστάσεις: (1) ανοικτοί ή ενεργοποιημένοι, (2) απενεργοποιημένοι, (3) κλειστοί ή ενεργοποιήσιμοι. Η μεταβολή της λειτουργικής κατάστασης του διαύλου Na^+ είναι τασεοεξαρτώμενη και ελέγχεται μέσω δύο πυλών, μιας εξωτερικής (πύλη ενεργοποίησης) και μιας εσωτερικής (πύλη απενεργοποίησης). Στη φάση ηρεμίας, οι διάλυλοι βρίσκονται σε κλειστή κατάσταση καθώς η πύλη ενεργοποίησης είναι κλειστή. Η διέγερση του κυττάρου από ουδικό ηλεκτρικό ερέθισμα προκαλεί το άνοιγμα της πύλης ενεργοποίησης και την ενεργοποίηση του διαύλου Na^+ (ανοικτή κατάσταση). Αμέσως μετά αρχίζει η ταχεία απενεργοποίηση του διαύλου, η οποία οφείλεται στο κλείσιμο της πύλης

απενεργοποίησης, ενώ η πύλη ενεργοποίησης παραμένει ανοιχτή. Το κλείσιμο της πύλης απενεργοποίησης καθιστά το κύτταρο μη διεγέρσιμο (Εικόνα 4).



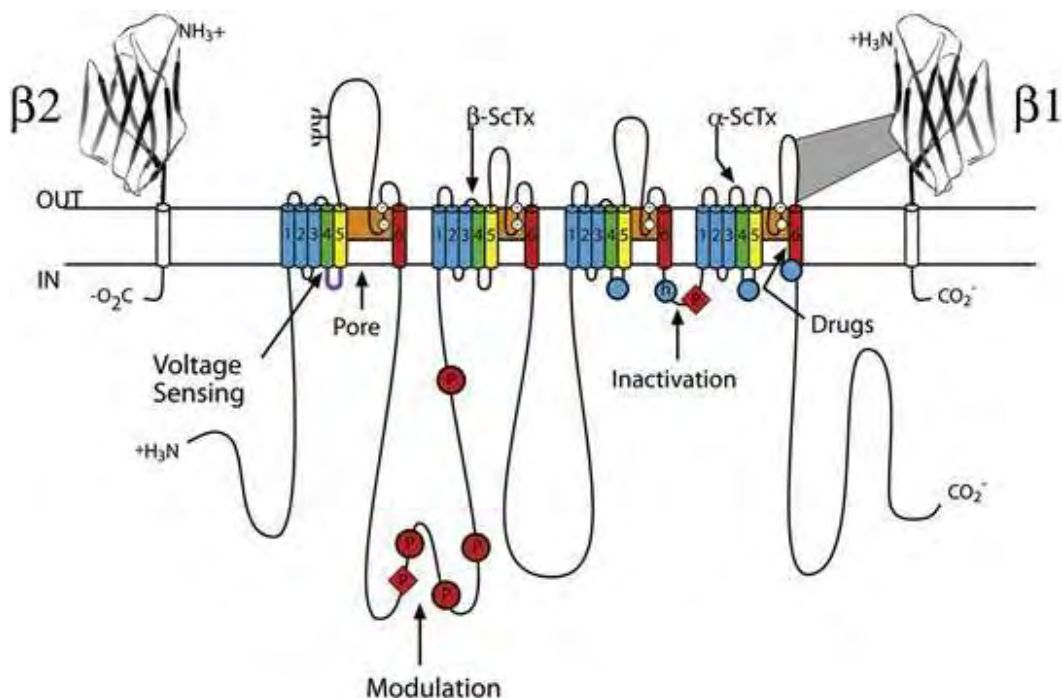
Εικόνα 4. Λειτουργικές καταστάσεις διαύλου Na^+ . Ion selective pore: Πόρος διαύλου, Inactivation gate: Πύλη απενεργοποίησης, Cytosol: Κυττοσόλιο. Στην εικόνα B, φαίνονται με τη σειρά οι τρεις καταστάσεις. Από αριστερά προς δεξιά: Κλειστός διάυλος (closed) στη φάση ηρεμίας. Ενεργοποιημένος διάυλος (activated) κατά την εκπόλωση. Απενεργοποιημένος διάυλος (inactivated) κατά την επαναπόλωση. Selectivity filter: Φίλτρο εκλεκτικότητας, Selective ion conductance: Επιλεκτική ιοντική αγωγιμότητα, Voltage-gated activation: Τασηο-εξαρτώμενη ενεργοποίηση, Rapid inactivation: Ταχεία απενεργοποίηση. (Ανατύπωση από: <https://mutagenetix.utsouthwestern.edu>)

3.3 Μοριακή δομή του διαύλου Nav1.5

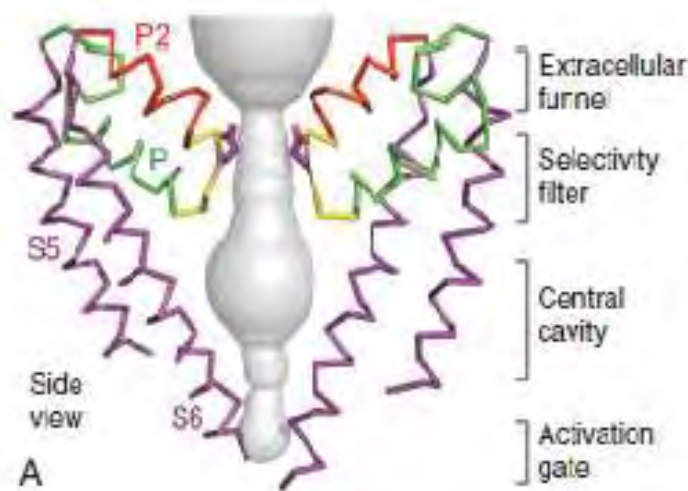
Οι διαυλοι Na^+ είναι πρωτεϊνικά συμπλέγματα που αποτελούνται από μια α -υπομονάδα (260 kD), και δύο μικρότερες β -υπομονάδες (33-39 kD) [24]. Η α -υπομονάδα, διαθέτει μορφή πόρου και αποτελείται από 4 ομόλογες περιοχές (I-IV), ενώ κάθε περιοχή αποτελείται από 6 διαμεμβρανικά τμήματα με δομή α -έλικας (S1-S6) (Εικόνα 5) [25]. Σε κάθε περιοχή, τα τμήματα S1-S4 λειτουργούν ως αισθητήρας δυναμικού. Το τμήμα S4 συγκεκριμένα χαρακτηρίζεται από την παρουσία θετικά φορτισμένων αμινοξέων. Τα τμήματα S5-S6 μαζί με τον P-βρόχο που παρεμβάλλεται ανάμεσα τους, σχηματίζουν τον πόρο του διαύλου [24]. Οι β -υπομονάδες του διαύλου, αποτελούνται από ένα διαμεμβρανικό τμήμα, μια μεγάλη N-τελική εξωκυττάρια περιοχή (immunoglobulin-like fold) και μια βραχεία C-τελική ενδοκυττάρια περιοχή. Αλληλεπιδρώντας με τις α -υπομονάδες μέσω των εξωκυττάρια περιοχών τους, ρυθμίζουν τη λειτουργία των α -υπομονάδων και προάγουν την έκφρασή τους στην κυτταρική επιφάνεια. Επιπλέον, λειτουργούν ως μόρια προσκόλλησης για πρωτεΐνες της εξωκυττάριας μήτρας, του κυτταροσκελετού καθώς και για άλλα μόρια [24,25].

3.4 Πόρος και φίλτρο εκλεκτικότητας

Οι διαλύτες Na^+ παρουσιάζουν υψηλή εκλεκτικότητα για τα ιόντα Na^+ γεγονός που οφείλεται στην ύπαρξη μιας ειδικής δομής (φίλτρο εκλεκτικότητας) στον πόρο του διαύλου. Ο πόρος του διαύλου σχηματίζεται από τα τμήματα S5-S6 και τους βρόχους που παρεμβάλλονται ανάμεσά τους και περιλαμβάνει έναν μεγάλο εξωτερικό προθάλαμο, ένα στενό φίλτρο εκλεκτικότητας, μια μεγάλη κοιλότητα που περιβάλλεται από τα τμήματα S6 και μια ενδοκυττάρια πύλη ενεργοποίησης, η οποία σχηματίζεται από τη διασταύρωση των τμημάτων S6 στην ενδοκυττάρια επιφάνεια της μεμβράνης (Εικόνα 6). Όταν η πύλη ενεργοποίησης είναι κλειστή δεν επιτρέπει τη διέλευση ιόντων ή μορίων νερού. Το φίλτρο εκλεκτικότητας του πόρου σχηματίζεται από τους βρόχους μεταξύ των τμημάτων S5 και S6. Η εκλεκτικότητα στο Na^+ βασίζεται στην αλληλεπίδραση των ιόντων με ειδικές περιοχές του φίλτρου εκλεκτικότητας. Στο εξωκυττάριο άκρο του φίλτρου εντοπίζεται μια περιοχή με αρνητικά φορτισμένα κατάλοιπα αμινοξέων, η οποία αλληλεπιδρά με τα ιόντα Na^+ απομακρύνοντας τα περισσότερα μόρια νερού των Na^+ . Στη συνέχεια τα ιόντα Na^+ αλληλεπιδρούν με δύο ειδικές καρβονυλικές περιοχές, οι οποίες συμβάλλουν στην ενυδάτωση των Na^+ και τη μεταφορά τους προς το εσωτερικό του πόρου [24,26].



Εικόνα 5. Η οργάνωση των υπομονάδων του διαύλου Na^+ (α -υπομονάδα και βοηθητικές $\beta 1$ και $\beta 2$ υπομονάδες). Οι πρωτογενείς δομές των υπομονάδων απεικονίζονται ως διαμεμβρανικά σχήματα. Οι κύλινδροι αντιπροσωπεύουν τα τμήματα της α -υπομονάδας. Voltage sensing: αισθητήρας δυναμικού, Modulation: Σημεία τροποποίησης του διαύλου, Inactivation: Πύλη απενεργοποίησης, Drugs: Περιοχή δέσμευσης-δράσης φαρμάκων. (Ανατύπωση από: Zipes D. P., Jalife J., Cardiac, Electrophysiology From Cell to Bedside, 6th edition, Philadelphia, PA: Saunders, 2014).



Εικόνα 6. Η δομή του πόρου και το φίλτρο εκλεκτικότητας του διαύλου NavAb. Extracellular funnel: Εξωκυττάριο χωνί, Selectivity filter: Φίλτρο εκλεκτικότητας, Central cavity: Κεντρική κοιλότητα, Activation gate: Πύλη ενεργοποίησης. Πλευρικές αλυσίδες Glu177 (μωβ). Ο όγκος του πόρου (γκρι). (Ανατύπωση από: Zipes D. P., Jalife J., Cardiac, Electrophysiology From Cell to Bedside, sixth edition, Philadelphia, PA: Saunders, 2014. Adapted from Payandeh J, Scheuer T, Zheng N, et al: The crystal structure of a voltage-gated sodium channel. Nature 475:353–358, 2011)

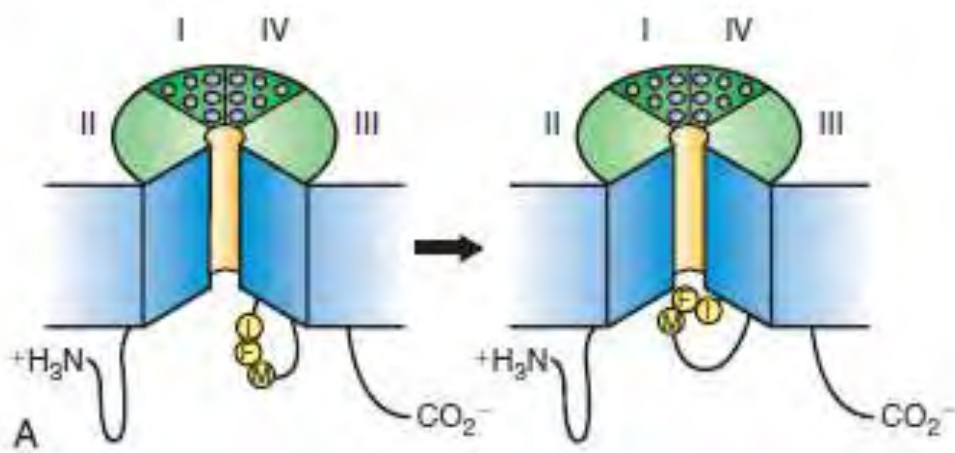
3.5 Τασσεοεξαρτώμενη ενεργοποίηση και άνοιγμα του πόρου

Η εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης οδηγεί στην ενεργοποίηση του διαύλου. Τα τμήματα S4 κάθε περιοχής περιέχουν επαναλαμβανόμενα μοτίβα ενός θετικά φορτισμένου αμινοξέος και λειτουργούν ως πρωτογενείς αισθητήρες δυναμικού, που αντιδρούν στη μεταβολή του δυναμικού της μεμβράνης. Στη φάση ηρεμίας το αρνητικό ηλεκτρικό πεδίο στο εσωτερικό του κυττάρου (από -70 έως -90 mV) έλκει τα θετικά φορτία του S4 προς το εσωτερικό του κυττάρου, μετακινώντας το τμήμα S4 και οδηγώντας σε περιστροφή και ευθυσμό του τμήματος S6 με απόφραξη του εσωτερικού στομίου του πόρου (κλειστή πύλη ενεργοποίησης). Κατά την εκπόλωση, η μεταβολή του μεμβρανικού δυναμικού περιορίζει την έλξη του τμήματος του τμήματος S4 προς το εσωτερικό. Λόγω αυτής της μεταβολής το τμήμα S4 περιστρέφεται και μετατοπίζεται προς τα έξω και οι ενδοκυτταριοι συνδέτες των τμημάτων S4-S5 σε κάθε περιοχή προκαλούν περιστροφή και κάμψη του τμήματος S6 με αποτέλεσμα το άνοιγμα του πόρου στο ενδοκυτταριο άκρο του (άνοιγμα πύλης ενεργοποίησης). Στην ενεργοποιημένη κατάσταση του διαύλου το τμήμα S4 εντοπίζεται σε μια διαμεμβρανική θέση, όπου τα θετικά φορτία εξουδετερώνονται από αρνητικά φορτία των τμημάτων S1-S2 [24,27].

3.6 Μηχανισμός ταχείας απενεργοποίησης

Η ταχεία απενεργοποίηση των διαύλων Na^+ πραγματοποιείται μέσα σε λίγα msec από το άνοιγμα του διαύλου και προκαλείται από μια δομή που ονομάζεται πύλη απενεργοποίησης. Η

πύλη απενεργοποίησης σχηματίζεται από τον ενδοκυττάριο βρόχο που συνδέει τις περιοχές III και IV. Ο βρόχος αυτός λειτουργεί ως αρθρωτό κάλυμμα (hinged lid) που μπλοκάρει το ενδοκυττάριο άκρο του πόρου (Εικόνα 7). Σημαντικό δομικό στοιχείο της πύλης ταχείας απενεργοποίησης αποτελεί η αλληλουχία IFM. Η αλληλουχία αυτή η οποία αποτελείται από τρία κατάλοιπα ισολευκίνης, φαινυλαλανίνης και μεθειονίνης, δεσμεύεται σε ειδικό υποδοχέα στο ενδοκυττάριο στόμιο του πόρου, προκαλώντας αποκλεισμό του διαύλου.



Εικόνα 7. Ο μηχανισμός ταχεία απενεργοποίησης του διαύλου Na^+ . Μηχανισμός «hinged-lid» ή μοντέλο «σφαίρας-αλύσου». Ο ενδοκυττάριος βρόχος που συνδέει τις περιοχές III και IV περιλαμβάνει μια αλληλουχία τριών αμινοξέων (IFM) μέσω της οποίας δεσμεύεται στο ενδοκυττάριο άκρο του πόρου προκαλώντας αποκλεισμό και απενεργοποίηση του διαύλου. (Ανατύπωση από: Zipes D. P., Jalife J., Cardiac, Electrophysiology From Cell to Bedside, sixth edition, Philadelphia, PA: Saunders, 2014. Adapted from Catterall WA: From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. Neuron 26:13–25)

Η μετακίνηση του τμήματος S4 κατά την εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης η οποία προκαλεί το άνοιγμα της πύλης ενεργοποίησης, αποτελεί επίσης το σήμα για την έναρξη της διαδικασίας ταχείας απενεργοποίησης του διαύλου. Επομένως η εξάρτηση της διαδικασίας απενεργοποίησης του διαύλου Na^+ από το μεμβρανικό δυναμικό βασίζεται στη σύνδεσή της με την τασεοεξαρτώμενη διαδικασία ενεργοποίησης [24].

Εκτός από την ταχεία απενεργοποίηση του διαύλου Na^+ (εντός μερικών msec), η απενεργοποίηση του διαύλου πραγματοποιείται και με βραδύτερο ρυθμό: Ενδιάμεση (~ 100 msec), βραδεία (1 sec – 1 min) ή υπερβραδεία (> 1 min) απενεργοποίηση. Με τη διαδικασία της ταχείας απενεργοποίησης, το ρεύμα εισόδου Na^+ στο κύτταρο ελαττώνεται περίπου στο 0,5% της μέγιστης τιμής του, ενώ με την ενδιάμεση απενεργοποίηση συνεχίζεται η ελάττωση του εναπομείναντος I_{Na} , μέχρι την τελική απενεργοποίηση του διαύλου που επέρχεται σε τιμές δυναμικού < -60 mV [24,28].

4. ΑΝΕΡΕΘΙΣΤΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ

4.1 Ορισμός

Κατά την επαναπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης οι απενεργοποιημένοι διάλυοι Na^+ γίνονται σταδιακά ενεργοποιήσιμοι. Η ταχύτητα με την οποία οι διάλυοι αυτοί ανακτούν την διεγερσιμότητά τους καθορίζει τις διάφορες φάσεις της ανερεθίστου περιόδου.

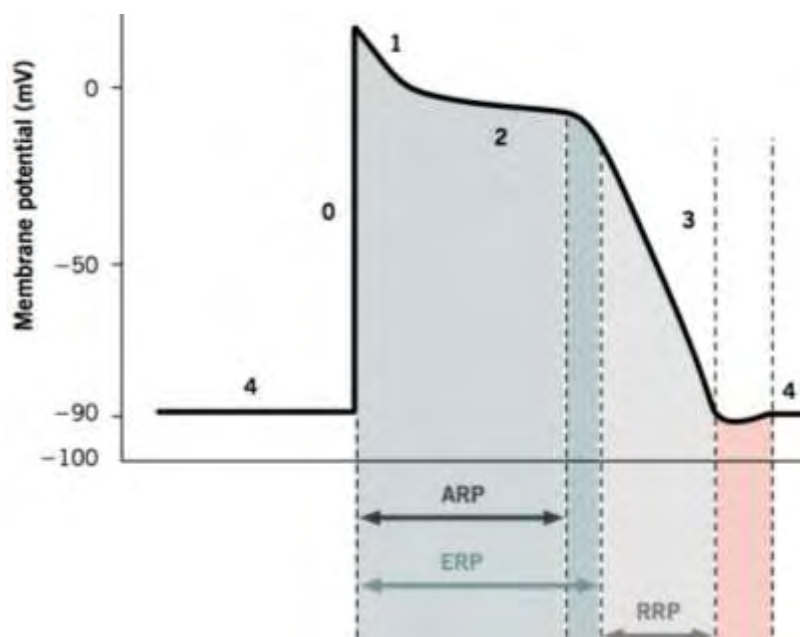
4.2 Διαστήματα ανερεθίστου περιόδου

Η ανερέθιστη περίοδος διακρίνεται σε απόλυτη, δραστική και σχετική (Εικόνα 8):

Απόλυτη ανερέθιστη περίοδος: Το κύτταρο είναι μη διεγέρσιμο ανεξάρτητα από την ένταση του ερεθίσματος.

Δραστική ανερέθιστη περίοδος: Ηλεκτρικά ερεθίσματα μπορούν να προκαλέσουν τοπική εκπόλωση της μεμβράνης χωρίς όμως μετάδοση στο μυοκάρδιο.

Σχετική ανερέθιστη περίοδος: Κατά την περίοδο αυτή ηλεκτρικά ερεθίσματα μεγαλύτερης ισχύος μπορούν να προκαλέσουν εκπόλωση η οποία δύναται να μεταδοθεί στο μυοκάρδιο.



Εικόνα 8. Δυναμικό ενέργειας και ανερέθιστη περίοδος μυοκαρδιακού κυττάρου. Membrane potential: Μembrανικό δυναμικό. **ARP:** Απόλυτη ανερέθιστη περίοδος. **ERP:** Δραστική ανερέθιστη περίοδος. **RRR:** Σχετική ανερέθιστη περίοδος. (Ανατύπωση από Ikonnikov G, Yelle D. Physiology of cardiac conduction and contractility McMaster Pathophysiology Review. <http://www.pathophys.org/physiology-of-cardiac-conduction-and-contractility/>. Προσαρμογή: Μοσχοβίδης Βασίλειος)

5. ΟΨΙΜΟ ΡΕΥΜΑ ΝΑΤΡΙΟΥ (INaL)

5.1 Ο ρόλος του INaL σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις

Ένα ποσοστό διαύλων Na^+ που ενεργοποιούνται κατά την φάση εκπόλωσης του δυναμικού ενέργειας φυσιολογικά δεν απενεργοποιείται ή απενεργοποιείται αργά ή μερικώς, με αποτέλεσμα η είσοδος Na^+ στο κύτταρο να συνεχίζεται εν μέρει κατά τη διάρκεια της επαναπόλωσης. Αυτό το συνεχές ρεύμα Na^+ συνιστά το όψιμο ρεύμα Na^+ το οποίο παρόλο που αντιστοιχεί σε πολύ μικρό ποσοστό του ταχύος ρεύματος INa (<1%) αυξάνει αθροιστικά καθ' όλη τη επαναπολωτική περίοδο το ενδοκυττάριο Na^+ και συμβάλλει στη διατήρηση της φυσιολογικής διάρκειας του δυναμικού ενέργειας [29,30].

Σε παθολογικές καταστάσεις όπως η ισχαιμία το INaL αυξάνεται προκαλώντας ενδοκυττάρια υπερφόρτωση Na^+ . Η αύξηση του Na^+ ενεργοποιεί την ανάστροφη μορφή λειτουργίας του ανταλλάκτη $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ με αποτέλεσμα την απομάκρυνση Na^+ και την είσοδο Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα. Η συσσώρευση Ca^{2+} δεν επιτρέπει την χάλαση των μυοκαρδιακών κυττάρων κατά τη διαστολική φάση προκαλώντας αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου και διαστολική δυσλειτουργία [30].

5.2 Μηχανισμοί αύξησης του INaL στην ισχαιμία

Η αύξηση του INaL είναι αποτέλεσμα μεταβολών στη λειτουργία και την κινητική του διαύλου Na^+ . Στην ισχαιμία, η αύξηση του INaL οφείλεται σε παράγοντες όπως οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), το μονοξείδιο του αζώτου (NO), η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (LPC) και η υποξία καθώς και στην ενεργοποίηση κινασών που φωσφορυλιώνουν το διάυλο [31,32].

Οι ROS (H_2O_2 , ελεύθερες ρίζες οξυγόνου) οξειδώνουν κατάλοιπα μεθειονίνης στην α-υπομονάδα του διαύλου, επιβραδύνοντας την απενεργοποίησή του. Μεταξύ αυτών οξειδώνεται το κατάλοιπο Met-1305 της αλληλουχίας IFM, η οποία εντοπίζεται στην πύλη απενεργοποίησης (Kassmann et al, 2008) [33,34]. Οι ROS τροποποιούν τη λειτουργία του διαύλου Na^+ και με έμμεσο τρόπο, ενεργοποιώντας μέσω οξείδωσης κινάσες όπως η CaMKII και η πρωτεϊνική κινάση C (PKC). Η CaMKII επιβραδύνει την απενεργοποίηση του διαύλου (αύξηση της ενδιάμεσης απενεργοποίησης) φωσφορυλιώνοντας κυρίως κατάλοιπα στον ενδοκυττάριο βρόχο που συνδέει τις περιοχές I-II (Ser-571, Ser-516 και Thr-594) και σε μικρότερο βαθμό στο καρβοξυτελικό άκρο της α-υπομονάδας (Hund et al, Aiba et al) [35-38]. Η PKC η οποία επίσης ενεργοποιείται στην ισχαιμία, επιβραδύνει τη διαδικασία απενεργοποίησης και αυξάνει το INaL, φωσφορυλιώνοντας κατάλοιπα στην πύλη απενεργοποίησης του διαύλου [39,40]. Η παρατεταμένη εκπόλωση στα ισχαιμικά μυοκύτταρα λόγω της αύξησης του εξοκυττάρου

καλίου οδηγεί σε δυσλειτουργία της απενεργοποίησης των διαύλων Na^+ και αύξηση του INaL . Οι μηχανισμοί δεν έχουν απολύτως διαλευκανθεί.

Στην αύξηση του INaL συμβάλλει επίσης το λιπίδιο LPC, το οποίο παράγεται κατά την ισχαιμία. Η LPC πιθανόν ενσωματώνεται στην κυτταρική μεμβράνη και τροποποιεί τη λειτουργία του διαύλου Na^+ επιβραδύνοντας την απενεργοποίησή του [41]. Η δράση της LPC διαμεσολαβείται εν μέρει από την παραγωγή του οξειδωτικού παράγοντα peroxynitrite (Guatier et al), καθώς και μέσω ενεργοποίησης της PKC (Murray et al) [39,42]. Η υποξία μπορεί να προκαλέσει μεταβολές σε κατάλοιπα του διαύλου μέσω οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων, καθώς οδηγεί σε συσσώρευση ουσιών που δρουν ως δότες ηλεκτρονίων, αναστέλλοντας συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων [43]. Το NO δρα ανασταλτικά στην απενεργοποίηση του διαύλου παρατείνοντας την παραμονή του σε ενεργοποιημένη κατάσταση. Η δράση του NO οφείλεται κυρίως στην τροποποίηση πρωτεϊνικών θειολών [44].

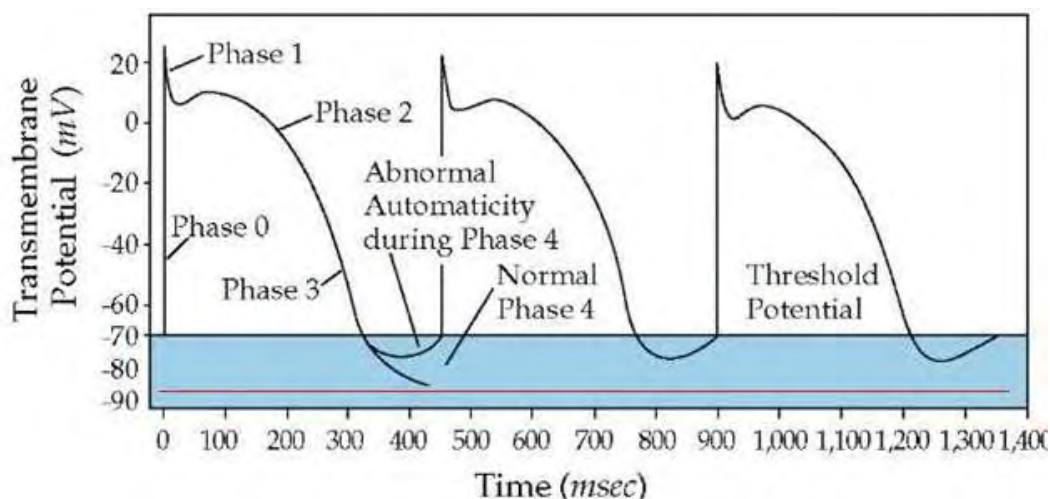
5.2 INaL και αρρυθμογένεση

Το αυξημένο INaL μπορεί να ενεργοποιήσει μηχανισμούς αρρυθμογένεσης μέσω της αυξημένης εισόδου Na^+ στο κυτταρόπλασμα και της επακόλουθης ενδοκυττάριας υπερφόρτωσης Ca^{2+} . Η προκαλούμενη αύξηση της διάρκειας του δυναμικού ενέργειας και η υπερφόρτωση Ca^{2+} μπορούν να οδηγήσουν σε πυροδοτούμενη δραστηριότητα από πρώιμα και όψιμα μεταδυναμικά. Επειδή τα πρώιμα μεταδυναμικά είναι αργά μεταδιδόμενες εκπολώσεις, μπορούν να διευκολύνουν την ενεργοποίηση λανθανόντων κυκλωμάτων επανεισόδου (reentrant circuits). Επιπλέον, το (ανομοιογενώς) αυξημένο INaL στο εμφραγματικό μυοκάρδιο μπορεί να οδηγήσει σε αρρυθμίες από επανείσοδο λόγω της αύξησης της διατοιχωματικής διασποράς της επαναπόλωσης και της ανερεθίστου περιόδου. Στην αρρυθμογένεση συμβάλλει επίσης η έκτοπη αυτοματική δραστηριότητα από ανώμαλο αυτοματισμό, τον οποίο ευνοεί το αυξημένο INaL ιδίως σε κύτταρα με λιγότερο ηλεκτρарνητικό δυναμικό ηρεμίας [32,45,46].

6. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΟΙΛΙΑΚΩΝ ΑΡΡΥΘΜΙΩΝ

6.1 Ανώμαλος αυτοματισμός

Τα κοιλιακά κύτταρα φυσιολογικά είναι μη αυτοματικά, δεν έχουν δηλαδή την ικανότητα αυτόματης εκπόλωσης και παραγωγής δυναμικού ενέργειας. Σε παθολογικές καταστάσεις, όπως κατά την ισχαιμία του μυοκαρδίου, το δυναμικό ηρεμίας γίνεται ηλεκτροθετικότερο ένεκα της τοπικής εξωκυττάριας συσσώρευσης K^+ πλησιάζοντας έτσι τον ουδό διέγερσης του κυττάρου και επιτρέποντας την διάνοιξη των διαύλων Na^+ και την εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης (Εικόνα 9) [47,48].



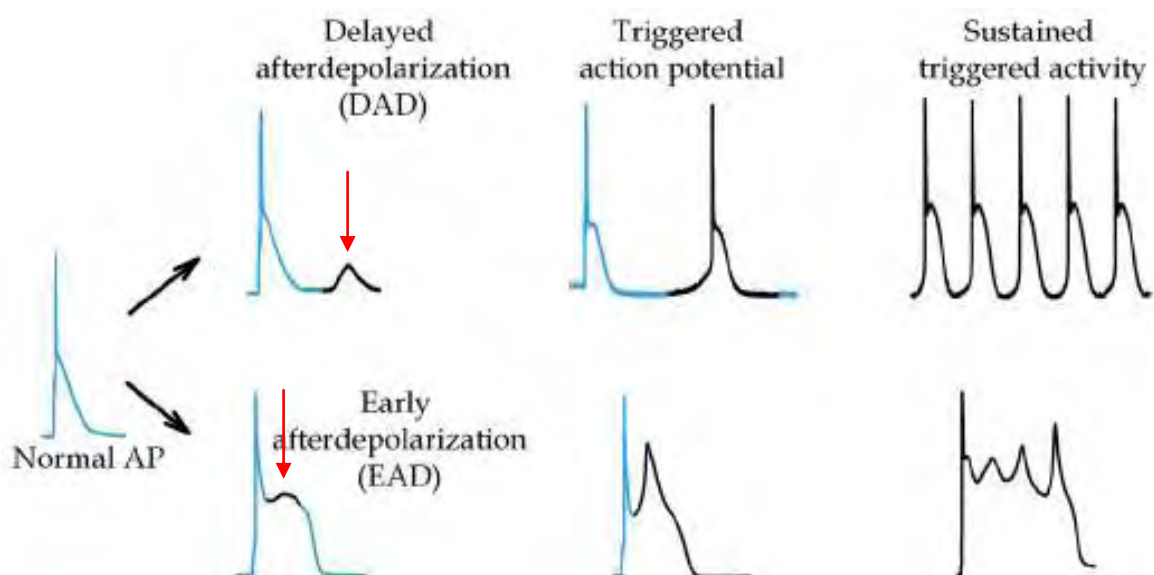
Εικόνα 9. Ανόμαλος αυτοματισμός κοιλιακών μυοκυττάρων (Abnormal automaticity). Threshold potential: Ουδός διέγερσης. Normal phase 4: Φυσιολογική φάση 4. Transmembrane Potential: Δυναμικό μεμβράνης. (Ανατύπωση από: what-when-how.com/wp-content/uploads/2012/04/tmp4256_thumb1.jpg)

6.2 Πυροδοτούμενη δραστηριότητα (Πρώιμα και όψιμα μεταδυναμικά)

Η πυροδοτούμενη δραστηριότητα είναι αποτέλεσμα διέγερσης του μυοκαρδίου από μεταδυναμικά, παθολογικές δηλαδή εκπολώσεις που εμφανίζονται μετά την έναρξη ενός φυσιολογικού δυναμικού ενέργειας, κατά τη διάρκεια της επαναπόλωσης στη φάση 2 ή 3 (πρώιμα μεταδυναμικά, EADs) ή μετά την επαναπόλωση στη φάση 4 του δυναμικού ενέργειας (όψιμα μεταδυναμικά, DADs). Οι εκπολώσεις αυτές αυξάνουν το δυναμικό της μεμβράνης και μπορούν να οδηγήσουν στη γένεση ενός παθολογικού δυναμικού ενέργειας και σε αρρυθμίες από πυροδοτούμενη δραστηριότητα (Εικόνα 10) [47].

Η δημιουργία EADs σχετίζεται κυρίως με την αύξηση της διάρκειας του δυναμικού ενέργειας (APD), λόγω αύξησης των εσομόλων (INaL, ICa) ή ελάττωσης των εξομόλων ιοντικών ρευμάτων επαναπόλωσης (IKr, IKs). Υπό αυτές τις συνθήκες, οι διάλυτοι Ca²⁺, μπορούν να επανενεργοποιηθούν με αποτέλεσμα αυξημένη είσοδο Ca²⁺ στο κύτταρο, στην οποία συμβάλλει και η απελευθέρωση Ca²⁺ από το σαρκοπλασματικό δίκτυο (ΣΔ) [48,49]. Η ενδοκυττάρια υπερφόρτωση Ca²⁺ προκαλεί είσοδο Na⁺ (μέσω του ανταλλάκτη Na⁺/Ca⁺), οδηγώντας σε εκπόλωση της μεμβράνης. Οι EADs έχουν επίσης συσχετιστεί και με βράχυνση της APD (Late phase 3 EADs) [47,49].

Τα DADs οφείλονται σε ενδοκυττάρια υπερφόρτωση Ca²⁺. Τα υψηλά επίπεδα ενδοκυττάρια Ca²⁺ ευνοούν την απελευθέρωση Ca²⁺ από το ΣΔ, ενεργοποιώντας παροδικά Ca²⁺-εξαρτώμενα παροδικά εσομόλα ιοντικά ρεύματα (INCX), τα οποία αυξάνουν το μεμβρανικό δυναμικό και ενεργοποιούν τους διαύλους Na⁺ με αποτέλεσμα την εκπόλωση της μεμβράνης [47,50].



Εικόνα 10. Πυροδοτούμενη δραστηριότητα από πρώιμα και όψιμα μεταδυναμικά. Normal AP: Φυσιολογικό δυναμικό ενέργειας, EAD: Πρώιμο μεταδυναμικό, DAD: Όψιμο μεταδυναμικό, Triggered action potential: Πυροδοτούμενο δυναμικό ενέργειας, Sustained triggered activity: Πυροδοτούμενη δραστηριότητα. Τα μεταδυναμικά απεικονίζονται με μαύρο χρώμα (κόκκινα βέλη). (ανατύπωση από: Sedej S, Pieske B. Mechanisms of Ca²⁺-Triggered Arrhythmias. Tachycardia. 2012).

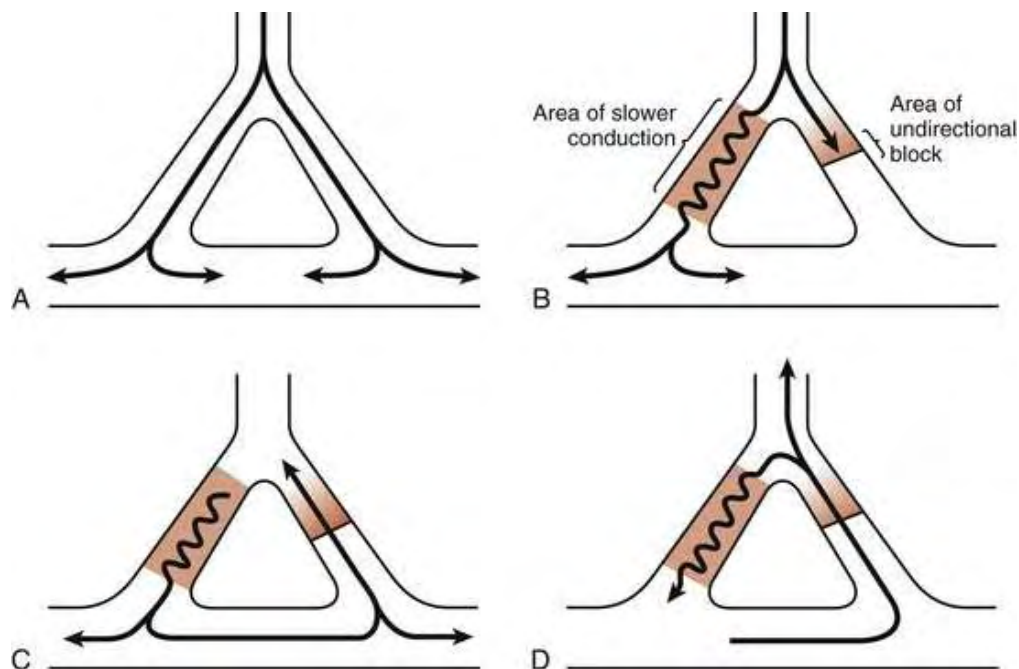
6.3 Ανατομική επανείσοδος (Anatomical reentry)

Στο έμφραγμα του μυοκαρδίου η ανατομική επανείσοδος αποτελεί τη συχνότερη μορφή μηχανισμού επανεισόδου, ιδιαίτερα σε μεγάλα εμφράγματα με ομοιογενή διατοιχωματική βλάβη. Η λειτουργική επανείσοδος (functional reentry) χαρακτηρίζεται όχι τόσο από την έκταση της βλάβης αλλά από μεταβολές της ανερεθίστου περιόδου. Η διαφορά μεταξύ των δύο μορφών επανεισόδου είναι ότι στη λειτουργική μορφή δεν υπάρχει χάσμα διεγερσιμότητας από εξωτερικά ερεθίσματα και οι αρρυθμίες έχουν συχνά μεγαλύτερη συχνότητα.

Ο μηχανισμός επανεισόδου χαρακτηρίζεται από τη συνεχή ταχεία κυκλική διάδοση ενός ηλεκτρικού ερεθίσματος γύρω από μία μη διεγερσιμη περιοχή του μυοκαρδίου (inexcitable core or obstacle), με ταχύτητα υπερκερασμού άλλων κέντρων διέγερσης συμπεριλαμβανομένου του φλεβοκόμβου. Οι προϋποθέσεις για τη δημιουργία ενός τέτοιου κυκλώματος είναι:

- (1) μονοδρομικός αποκλεισμός της αγωγής του ερεθίσματος,
- (2) βραδεία αγωγιμότητα σε άλλο σημείο του μυοκαρδίου με αποτέλεσμα καθυστέρηση της αγωγής του ερεθίσματος,
- (3) μικρότερη ανερεθίστη περίοδος από το μήκος του ανατομικού κυκλώματος, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται επαναδιέγερση του μυοκαρδίου από την αντίδρομη αγωγή του αρχικά αποκλεισμένου ερεθίσματος (Εικόνα 11) [47,48,51].

Η ισχαιμία και το έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι οι πιο συχνοί παράγοντες κοιλιακών αρρυθμιών επανεισόδου, οι οποίοι βασίζονται πάνω σε συγκεκριμένες ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές όπως οι τρεις που αναφέρθηκαν παραπάνω.



Εικόνα 11. Μηχανισμός επανεισόδου. **A:** δύο οδοί αγωγής του ερεθίσματος. **B:** Περιοχή μονοδρομικού αποκλεισμού (Area of unidirectional block) και περιοχή βραδείας αγωγιμότητας (Area of slower conduction). **C:** Το ερέθισμα διαδίδεται στην οδό βραδείας αγωγής και έπειτα στην οδό του μονοδρομικού αποκλεισμού, αντίδρομα **D:** Κυκλική διάδοση του ερεθίσματος. (Ανατύπωση από: Themes U. Defibrillation and Cardioversion. Anesthesia Key. <https://aneskey.com/defibrillation-and-cardioversion-2>)

7. ΚΟΙΛΙΑΚΕΣ ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

7.1 Παθοφυσιολογία κοιλιακών αρρυθμιών μετά από έμφραγμα μυοκαρδίου

Οι κοιλιακές ταχυαρρυθμίες (κοιλιακή ταχυκαρδία, κοιλιακή μαρμαρυγή) μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελούν σοβαρή επιπλοκή με υψηλό κίνδυνο αιφνίδιου καρδιακού θανάτου. Είναι αποτέλεσμα των ηλεκτροφυσιολογικών και ιστολογικών διαταραχών που προκαλούνται κατά την οξεία (πρώτες 48-72 ώρες), την υποξεία (3^η - 7^η ημέρα) και τη χρόνια φάση του εμφράγματος, οι οποίες ενεργοποιούν μηχανισμούς αρρυθμογένεσης (ανώμαλος αυτοματισμός, πυροδοτούμενη δραστηριότητα από μεταδυναμικά, επανείσοδος) [3,52].

7.1.2 Παθοφυσιολογία κοιλιακών αρρυθμιών στην οξεία φάση του εμφράγματος

Η οξεία ισχαιμία του μυοκαρδίου προκαλεί μια σειρά από δομικές και μεταβολικές διαταραχές που συσχετίζονται με ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές των μυοκαρδιακών κυττάρων. Συγκεκριμένα, οδηγεί σε ελάττωση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), συσσώρευση διφωσφορικής αδενοσίνης (ADP), αναερόβια γλυκόλυση και ενδοκυττάρια οξείδωση [52-54].

Η μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ATP οδηγεί σε αύξηση της διαπερατότητας των ATP-εξαρτώμενων διαύλων K^+ με αποτέλεσμα την μείωση της διάρκειας του δυναμικού ενέργειας και της ανερεθίστου περιόδου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της εισόδου Ca^{2+} στο κύτταρο και της κατανάλωσης οξυγόνου. Η εξωκυττάρια συσσώρευση K^+ οδηγεί σε λιγότερο αρνητικά δυναμικά ηρεμίας τα οποία όταν φτάσουν τον ουδό διέγερσης μπορεί να διευκολύνουν την εμφάνιση πρώιμων εκπολώσεων της κυτταρικής μεμβράνης [6,53-55].

Η ενδοκυττάρια οξείδωση κατά την οξεία φάση της ισχαιμίας ενεργοποιεί την αντλία Na^+/H^+ με αποτέλεσμα την υπερφόρτωση του κυττάρου με Na^+ . Στην αύξηση του ενδοκυττάρου Na^+ συμβάλλει και το αυξημένο $INaL$ καθώς και η δυσλειτουργία της αντλίας Na^+/K^+ , λόγω ανεπάρκειας ATP. Η υπερφόρτωση αυτή ενεργοποιεί την αναστροφή της λειτουργίας του ανταλλάκτη Na^+/Ca^{2+} με αποτέλεσμα την ενδοκυττάρια συσσώρευση Ca^{2+} και την πρόκληση Ca^{2+} -εξαρτώμενων αρρυθμιών, οι οποίες βασίζονται στα πρώιμα και όψιμα μεταδυναμικά (πυροδοτούμενη δραστηριότητα) [2,54].

7.1.3 Παθοφυσιολογία κοιλιακών αρρυθμιών στην υποξεία φάση του εμφράγματος

Στην υποξεία φάση του εμφράγματος, ο κύριος μηχανισμός κοιλιακών αρρυθμιών φαίνεται να είναι το κύκλωμα επανεισόδου. Σε αυτό συνηγορεί το γεγονός ότι οι αρρυθμίες αυτής της φάσης μπορεί να προκληθούν και να αναπαραχθούν με συγκεκριμένο μήκος κύματος ηλεκτρικών ερεθισμάτων μέσω προγραμματισμένης βηματοδότησης. Επίσης, η ιστολογική και ηλεκτροφυσιολογική ανομοιογένεια του εξελισσόμενου εμφράγματος δικαιολογεί την ύπαρξη διατοιχωματικών διαταραχών της αγωγιμότητας και της ανερεθίστου περιόδου των μυοκαρδιακών κυττάρων ως προϋπόθεση για επανείσοδο [56,57].

Συγκεκριμένα, κατά την υποξεία φάση του εμφράγματος παρατηρούνται μεταβολές στην μικροσκοπική αρχιτεκτονική του μυοκαρδίου, με τις μυϊκές ίνες να διατάσσονται στενά ή να απομακρύνονται λόγω οιδήματος. Επιπλέον, υπάρχει διαταραχή της οργάνωσης των χασματικών συνάψεων, κυρίως στην ισχαιμική ζώνη του εμφράγματος. Αυτή η αναδιαμόρφωση της ιστολογίας του μυοκαρδίου και της ηλεκτρικής σύνδεσης των κυττάρων εξυπηρετεί την εμφάνιση μηχανισμών επανεισόδου [58-62].

7.2 Αντιαρρυθμικά φάρμακα - Ταξινόμηση

Τα αντιαρρυθμικά φάρμακα κατά Vaughan-Williams κατατάσσονται σε τέσσερις κατηγορίες (I-IV) (Πίνακας 1):

Κατηγορία	Δράση	Φάρμακα
Ia	Αποκλεισμός διαύλων Na ⁺ Ελάττωση αγωγιμότητας Παράταση επαναπόλωσης	Κινιδίνη Προκαϊναμίδη Δισοπυραμίδη
Ib	Αποκλεισμός διαύλων Na ⁺ Ελάττωση αγωγιμότητας στο ισχαιμικό μυοκάρδιο	Λιδοκαΐνη Μεξιλετίνη
Ic	Αποκλεισμός διαύλων Na ⁺ Ισχυρή ελάττωση αγωγιμότητας Καμία επίδραση στην επαναπόλωση	Φλεκαϊνίδη Προπαφαινόνη
II	Αποκλειστές β-αδρενεργικών υποδοχέων Καρδιοεκλεκτικοί – Μη καρδιοεκλεκτικοί	Προπρανολόλη Μετοπρολόλη
III	Αποκλεισμός διαύλων K ⁺ Παράταση της επαναπόλωσης και της ανερεθίστου περιόδου	Αμιωδαρόνη Σοταλόλη
IV	Ανταγωνιστές Ca ²⁺	Βεραπαμίλη Διλτιαζέμη

Πίνακας 1. Οι κατηγορίες των αντιαρρυθμικών φαρμάκων σύμφωνα με την ταξινόμηση Vaughan-Williams και ο βασικός μηχανισμός δράσης (Vaughan-Williams, 1970).

Φάρμακα κατηγορίας I: Δρουν μέσω αποκλεισμού των διαύλων Na⁺. Χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση κοιλιακών και κολπικών αρρυθμιών. Διαίρουνται σε τρεις επιμέρους ομάδες βάσει της επίδρασης τους στην ηλεκτροφυσιολογία του μυοκαρδίου. Η ομάδα Ia προκαλεί ελάττωση της αγωγιμότητας (αποκλεισμός INa) και αύξηση της διάρκειας επαναπόλωσης (αποκλεισμός IKr). Η ομάδα Ib ελαττώνει την αγωγιμότητα μόνο στο ισχαιμικό μυοκάρδιο. Η ομάδα Ic προκαλεί ισχυρή ελάττωση της αγωγιμότητας, ενώ δεν επηρεάζει σημαντικά τη διάρκεια επαναπόλωσης [63-65].

Φάρμακα κατηγορίας II: Τα φάρμακα αυτά είναι αποκλειστές των β -αδρενεργικών υποδοχέων. Οι β -αποκλειστές ελαττώνουν τη συμπαθητική διέγερση του μυοκαρδίου και διακρίνονται σε καρδιοεκλεκτικούς (αποκλεισμός β_1 -υποδοχέων) και μη καρδιοεκλεκτικούς (αποκλεισμός β_1 - και β_2 -υποδοχέων). Χρησιμοποιούνται κυρίως σε υπερκοιλιακές ταχυκαρδίες [64,65].

Φάρμακα της κατηγορίας III: Τα φάρμακα αυτής της κατηγορίας προκαλούν αποκλεισμό των διαύλων K^+ , επιβραδύνοντας την επαναπόλωση και αυξάνοντας τη διάρκεια της ανερεθίστου περιόδου. Χρησιμοποιούνται σε κοιλιακές και υπερκοιλιακές ταχυαρρυθμίες [63,65].

Φάρμακα κατηγορίας IV: Ανταγωνιστές των διαύλων ασβεστίου. Ελαττώνουν την καρδιακή συχνότητα (αρνητική χρονότροπη δράση), τη σύσπαση του μυοκαρδίου (αρνητική ινότροπη δράση), καθώς και την αγωγή στον κολποκοιλιακό κόμβο. Χρησιμοποιούνται στις υπερκοιλιακές ταχυαρρυθμίες [64,65].

Από τα αντιαρρυθμικά φάρμακα που περιγράφονται στον πίνακα 1, εκτός από την αμιωδαρόνη, τους β -αποκλειστές και τη λιδοκαΐνη, όλα τα υπόλοιπα αντενδείκνυνται στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η πρόληψη και η αντιμετώπιση των κοιλιακών αρρυθμιών μετά την οξεία φάση του εμφράγματος γίνεται επίσης μόνο με τα τρία προαναφερθέντα φάρμακα. Πολλά από τα φάρμακα της κατηγορίας I και III έχουν προαρρυθμική δράση σε ασθενείς με ισχαιμική καρδιακή νόσο [1,63].

8. ΡΑΝΟΛΑΖΙΝΗ

8.1 Γενικά

Η Ρανολαζίνη αποτελεί παράγωγο της πιπεραζίνης, με δράση αναστολέα του όψιμου ρεύματος Na^+ (Εικόνα 12). Χρησιμοποιείται για την πρόληψη στηθαγχικών επεισοδίων σε ασθενείς με χρόνια σταθερή στηθάγχη.



Εικόνα 12. Χημική δομή ρανολαζίνης

(Ανατύπωση: Wang G. et al, State- and Use-Dependent Block of Muscle Nav1.4 and Neuronal Nav1.7 Voltage-Gated Na^+ Channel Isoforms by Ranolazine. *Molecular Pharmacology*. 2007;73(3):940-948)

8.2 Ιοντικές δράσεις στα μυοκαρδιακά κύτταρα

Η ρανολαζίνη αναστέλλει ιοντικά ρεύματα της μεμβράνης του μυοκαρδιακού κυττάρου (INaL, INa, IKr, ICaL). Η δράση του φαρμάκου είναι δοσοεξαρτώμενη και η συγκέντρωση με την οποία επιτυγχάνεται αναστολή των διαφόρων ιοντικών ρευμάτων ποικίλει [5].

Σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις (IC50: 5,85 μM) προκαλεί αναστολή του όψιμου ρεύματος Na^+ (INaL) ενώ για το ρεύμα K^+ (IKr) απαιτούνται 11-12 μM (IC50). Η επίδραση στο ρεύμα Ca^{2+} είναι αμελητέα στις παραπάνω συγκεντρώσεις (IC50: 296 μM). Η συγκέντρωση που απαιτείται για αποκλεισμό του ταχέως ρεύματος Na^+ (INa) στις κοιλίες είναι 294 μM [5,66]. Επομένως, σε θεραπευτικές συγκεντρώσεις η ρανολαζίνη δεν αναστέλλει το INa κι έτσι δεν μεταβάλλει την κοιλιακή αγωγιμότητα και δεν αυξάνει την μετα-επαναπολωτική ανερέθιστο περίοδο, σε αντίθεση με τους κόλπους [5,67,68].

8.3 Δράση της ρανολαζίνης στο διάυλο νατρίου

Η ρανολαζίνη δεσμεύεται σε ειδική θέση στον εσωτερικό πόρο του διαύλου Na^+ , στην περιοχή αλληλεπίδρασης των τοπικών αναισθητικών. Η θέση δέσμευσης βρίσκεται στο τμήμα S6 της περιοχής IV του διαύλου. Στο σημείο αυτό εντοπίζονται τα κατάλοιπα F1760 και Y1767, με σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση μεταξύ φαρμάκου και διαύλου (Εικόνα 13) [69,70]. Η πρόσβαση του φαρμάκου στο σημείο αυτό γίνεται από την κυτοσολική πλευρά του πόρου, γεγονός που πιθανότατα προϋποθέτει την ενεργοποίηση του διαύλου, καθώς το μεγάλο μέγεθος της ρανολαζίνης (μοριακό βάρος 427,5 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, μήκος $\sim 11\text{\AA}$) καθιστά δυσχερή τη διόδό της μέσω υδρόφοβων οδών [69,71].

Η ρανολαζίνη δεσμεύεται και μπλοκάρει το διάυλο Na^+ όταν είναι σε ανοικτή κατάσταση (open-state blocker), ενώ παγιδεύεται στο εσωτερικό του διαύλου καθ' όλη τη διάρκεια της επαναπόλωσης (trapping effect). Η αποδέσμευση του φαρμάκου από το διάυλο γίνεται τάχιστα όταν η κυτταρική μεμβράνη επανέλθει σε κατάσταση ηρεμίας (resting state), με αποτέλεσμα ο διάυλος να παραμένει ελεύθερος κατά τη διάρκεια της διαστολικής περιόδου [69,72].

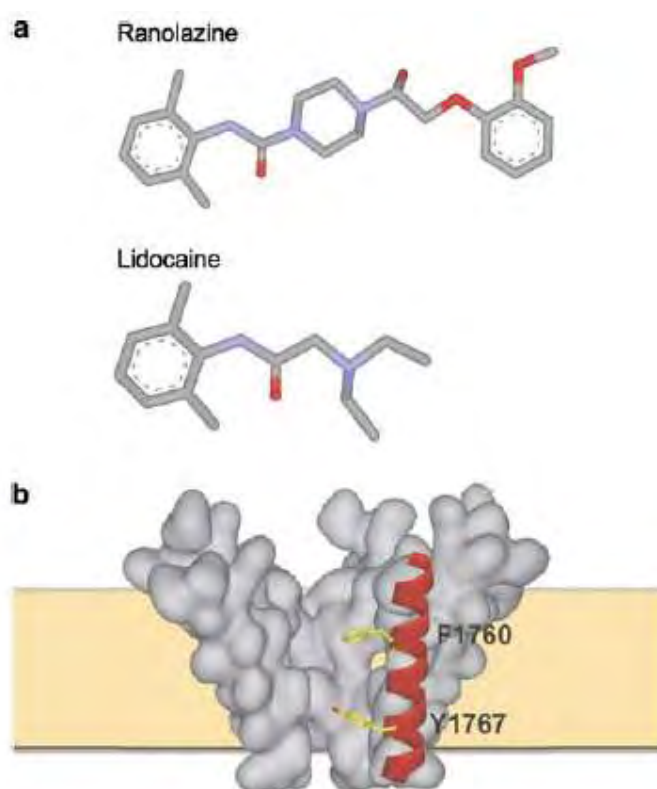
Η δράση της ρανολαζίνης στον αποκλεισμό των τασειοεξαρτώμενων διαύλων Na^+ είναι κολποεκλεκτική (αναστολή των κολπικών διαύλων Na^+ με χαμηλότερες συγκεντρώσεις φαρμάκου), με αποτέλεσμα η αναστολή του ταχέως INa και η προκαλούμενη ελάττωση της ταχύτητας αγωγιμότητας καθώς και η αύξηση της μετα-επαναπολωτικής ανερεθίστου περιόδου να αφορούν κυρίως τα κολπικά κύτταρα. Σύμφωνα με τον Zygmunt et al. [72], η κολποεκλεκτικότητα της ρανολαζίνης αναφορικά με το INa οφείλεται στις εξής ιδιότητες των κολπικών κυττάρων:

Πιο αρνητική καμπύλη απενεργοποίησης των διαύλων Na^+ . Συνεπώς, μεγαλύτερο ποσοστό διαύλων βρίσκεται σε απενεργοποιημένη κατάσταση, στην οποία η ρανολαζίνη παραμένει παγιδευμένη στο διάυλο (μεγαλύτερη διάρκεια αποκλεισμού στους κόλπους).

Λιγότερο αρνητικό κολλικό δυναμικό ηρεμίας. Οδηγεί επίσης σε μεγαλύτερο ποσοστό απενεργοποιημένων διαύλων Na^+ .

Βραδύτερη επαναπόλωση και βραχύτερη διαστολική περίοδος. Η μικρότερη διάρκεια διαστολικής περιόδου επιτρέπει τη συσσώρευση της δράσης του φαρμάκου (λόγω μικρότερου διαθέσιμου χρόνου αποδέσμευσης), ενώ οδηγεί σε θετικότερο σημείο εκκίνησης του δυναμικού ενέργειας σε υψηλές καρδιακές συχνότητες, γεγονός που ισοδυναμεί με μεγαλύτερο χρόνο παραμονής του διαύλου σε ανοικτή κατάσταση (open ή pre-open state).

Επομένως, στους κόλπους υπάρχει συσσώρευση της δράσης αποκλεισμού του διαύλου από τη ρανολαζίνη, καθώς το ποσοστό των διαύλων που βρίσκονται σε noninactivated state (κατά την οποία γίνεται αποδέσμευση του φαρμάκου από τον διάυλο) είναι μικρότερο [72].



Εικόνα 13. Δομή και θέση δράσης της ρανολαζίνης στο διάυλο Na^+ (a): Η δομή της ρανολαζίνης και της λιδοκαΐνης, (b): Απεικόνιση του πόρου του διαύλου Na^+ και των δύο σημαντικών καταλοίπων (F1760, Y1767) στη θέση δέσμευσης των τοπικών αναισθητικών στο διαμεμβρανικό τμήμα S6 της περιοχής IV του διαύλου. (Ανατύπωση από: Fredj S, Sampson K, Liu H, Kass R. Molecular basis of ranolazine block of LQT-3 mutant sodium channels: evidence for site of action. British Journal of Pharmacology. 2009;148(1):16-24)

Η ρανολαζίνη διαφέρει από άλλους αποκλειστές διαύλων Na^+ (π.χ. κατηγορίας IC) καθώς αποδεσμεύεται ταχύτατα στο τέλος της επαναπόλωσης (διαστολικό δυναμικό) και έτσι οι διάυλοι Na^+ ξεμπλοκάρονται και δεν επηρεάζεται η αγωγιμότητα σε κόλπους και κοιλίες. Συγκριτικά η προπαφαινόνη ή η φλεκαϊνίδη λόγω σημαντικά βραδύτερης αποδέσμευσης παραμένει δεσμευμένη στο διάυλο με αποτέλεσμα τη συσσώρευση της δράσης του φαρμάκου και τον σταθερό αποκλεισμό των διαύλων Na^+ . Με αυτόν τον τρόπο τα φάρμακα αυτά σε αντίθεση με τη ρανολαζίνη προκαλούν σημαντική ελάττωση της αγωγιμότητας στο κοιλιακό μυοκάρδιο και έχουν υψηλή προαρρυθμική δράση μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου [73].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ

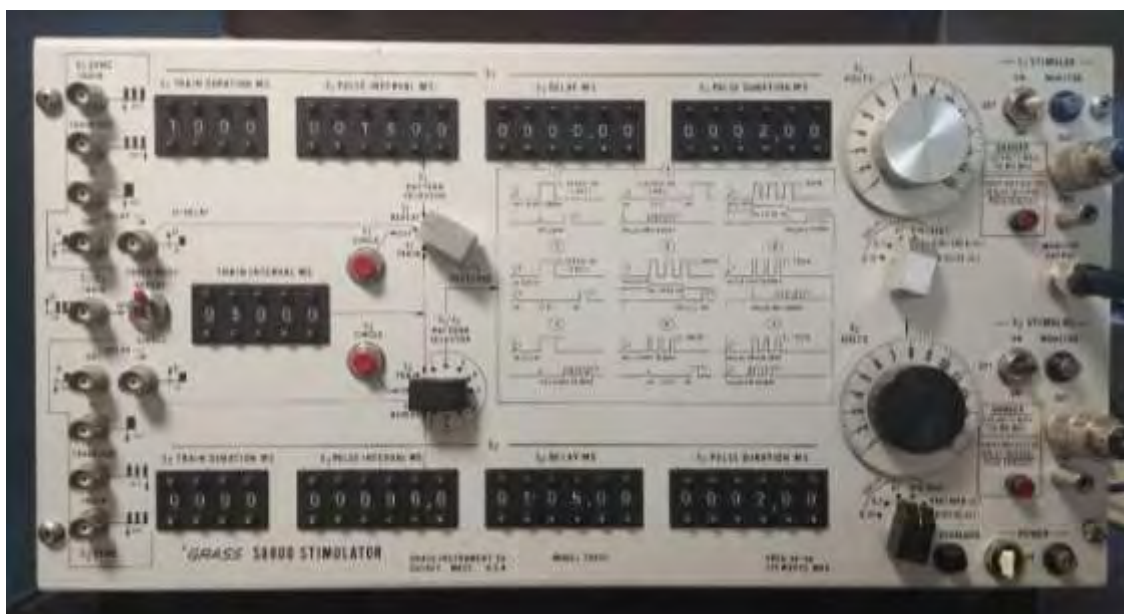
Τα πειράματα έγιναν στο Εργαστήριο Πειραματόζωων του τμήματος Ιατρικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Οι παρεμβάσεις κατά την διάρκεια των πειραμάτων ήταν σύμφωνες με τα διεθνή πρωτόκολλα και κανονισμούς.

Στην πειραματική εργασία χρησιμοποιήθηκαν:

- Λευκοί κόνικλοι Νέας Ζηλανδίας και των δύο φύλων, με βάρος σώματος 2,5-3,5 kg.
- Φαρμακευτικά σκευάσματα για την προνάρκωση, την αναισθησία και την διασωλήνωση:
 1. Μιδαζολάμη IM (Dormicum ®)
 2. Κεταμίνη διάλυμα im χορήγησης 100 mg/ml (Imalgene ®)
 3. Νατριούχος Θειοπεντάλη iv χορήγησης 1,0 g/20 ml NaCl
 4. Σιζατρακούριο διάλυμα iv χορήγησης 2 mg/ml (Nimbex ®)
- Τραχειοσωλήνας διαμέτρου 3-3,5 mm
- Αναπνευστήρας για μεγάλα ζώα, Harvard Apparatus dual phase control respirator, Holliston Massachusetts, 01746.
- Καθετήρας ηλεκτροδίου επαφής για την απαγωγή μονοφασικών δυναμικών με δυνατότητα ταυτόχρονης βηματοδότησης. Combination Catheter MAP-Stimulation 7F για μελέτες in-vivo, Harvard Apparatus-HUGO SACHS ELEKTRONIK, Germany. Ο καθετήρας περιλαμβάνει δύο ηλεκτρόδια Ag/AgCl που επιτρέπουν την απαγωγή ΜΔΕ και δύο ηλεκτρόδια βηματοδότησης στα πλάγια του καθετήρα.
- Πολυκαταγραφικό σύστημα ηλεκτροκαρδιογραφικών απαγωγών για την παρακολούθηση και καταγραφή ηλεκτροκαρδιογραφήματος και μονοφασικών δυναμικών.
Nihon Kohden RM-6000 polygraph amplifier system, Tokyo, Japan (Εικόνα 14)
- Προενισχυτής για την ενίσχυση των μονοφασικών δυναμικών.
High input impedance, MAP DC-coupled isolated differential preamplifier, AB-601 G Nihon Kohden
- Συσκευή βηματοδότησης δύο καναλιών.
Grass stimulator, Model S8800, Quincy, Massachusetts (Εικόνα 15)
- Μονάδα απομόνωσης ερεθίσματος.
Grass Stimulus Isolation Unit, Model SIU5
- Ηλεκτρικό θερμαινόμενο υπόστρωμα, IMETEC Model 017A2
- Απινιδωτής



Εικόνα 14. Πολυκαταγραφικό σύστημα ηλεκτροκαρδιογραφικών απαγωγών, Nihon Kohden RM-600 polygraph amplifier system



Εικόνα 15. Βηματοδότης δύο καναλιών, Grass Stimulator, Model S8800

ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα πειράματα έγιναν στο Εργαστήριο Πειραματόζωων του τμήματος Ιατρικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Οι παρεμβάσεις κατά την διάρκεια των πειραμάτων ήταν σύμφωνες με τους διεθνείς κανονισμούς πειραματόζωων.

Χειρουργική διαδικασία

Γενική προετοιμασία

Για την προνάρκωση των κονίκλων χρησιμοποιήθηκε μιδαζολάμη σε δόση 1 mg/kg im σε συνδυασμό με κεταμίνη 25-35 mg/kg im, ενώ για την αναισθησία έγινε αργή iv χορήγηση νατριούχου θειοπεντάλης 30 mg/kg. Για τη διευκόλυνση της διασωλήνωσης χορηγήθηκε σιζατρακούριο 1-2 mg ενδομυϊκά. Η διατήρηση της αναισθησίας καθ' όλη τη διάρκεια της επέμβασης διασφαλίστηκε με συμπληρωματικές iv δόσεις θειοπεντάλης. Ο αερισμός πραγματοποιούταν μέσω αναπνευστήρα με ατμοσφαιρικό αέρα και με αναπνευστική συχνότητα περίπου 40 αναπνοές/λεπτό και όγκο 7-10 ml/kg. Κατά τη διάρκεια της επέμβασης η θερμοκρασία των πειραματόζωων διατηρούταν περίπου στους 38-40°C με τη χρήση ηλεκτρικά θερμαινόμενου υποστρώματος. Για την ενδοφλέβια χορήγηση φαρμάκων χρησιμοποιήθηκε περιφερική φλεβική γραμμή στην κεντρική φλέβα του δεξιού ή αριστερού ωτίου.

Πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου

Η χειρουργική επέμβαση πραγματοποιήθηκε κάτω από άσηπτες συνθήκες και υπό συνεχή ηλεκτροκαρδιογραφική παρακολούθηση. Η διάνοιξη του θώρακα έγινε με μέση στερνοτομή και ακολούθησε διάνοιξη του περικαρδίου για την αποκάλυψη της καρδιάς και των στεφανιαίων αγγείων. Στα πειραματόζωα με επικρατούντα πρόσθιο κατιόντα κλάδο της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας (left anterior descending, LAD), η πρόκληση εμφράγματος έγινε με απολίνωση του εγγύς τμήματος του LAD κάτω από τον 1ο διαγώνιο κλάδο. Στα πειραματόζωα που δεν είχαν επικρατούντα πρόσθιο κατιόντα, ο οπίσθιος κατιών κλάδος της αριστερής περισπώμενης αρτηρίας (ramus interventricularis posterior) απολινώθηκε συμπληρωματικά κατά το τελικό κορυφαίο τμήμα του. Στόχος ήταν να προκληθεί διατοίχωματικό έμφραγμα, αιμοδυναμικά σταθερό και ομοιογενές ώστε να έχει το υπόστρωμα για εμμένουσες ταχυκαρδίες επανεισόδου.

Η πρόκληση οξείας ισχαιμίας επιβεβαιώθηκε ηλεκτροκαρδιογραφικά από τις ανασπάσεις του διαστήματος ST και με άμεση επισκόπηση από την τοπική κυάνωση του επικαρδίου μετά το σημείο απολίνωσης (Εικόνα 16). Μετά την πρόκληση εμφράγματος ακολούθησε σύγκλιση του

θώρακα με συρραφή και αποσωλήνωση. Τα πειραματόζωα μεταφέρθηκαν σε ειδικά κελιά για παρακολούθηση. Από τους 15 κονίκλους που υποβλήθηκαν σε οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, 2 κατέληξαν την πρώτη ώρα μετά την στεφανιαία απόφραξη, 1 κατά τη διαδικασία νάρκωσης και άλλοι 2 κατά τη διάρκεια της δεύτερης ημέρας μετά το χειρουργείο.



Εικόνα 16. Διάταξη της χειρουργικής μεθόδου με εμφανή την κύνωση του μυοκαρδίου στην φάση της οξείας ισχαιμίας που προκλήθηκε από την απολίνωση της στεφανιαίας αρτηρίας. Τα βέλη δείχνουν τα όρια μεταξύ ισχαιμικού (αριστερά) και υγιούς (δεξιά) μυοκαρδίου (demarcation zone).

Ηλεκτροφυσιολογική μελέτη

Σύστημα καταγραφής

Οι 10 από τους 15 κονίκλους που επέζησαν μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, υποβλήθηκαν σε ηλεκτροφυσιολογική μελέτη υπό αναισθησία μεταξύ 3ης και 7ης μετεμφραγματικής ημέρας. Κατά τη διάρκεια του ηλεκτροφυσιολογικού πρωτοκόλλου τα ζώα ήταν υπό ηλεκτροκαρδιογραφική παρακολούθηση με απαγωγές των άκρων (limb lead ECG) και

μία προκάρδια απαγωγή οι οποίες απεικονίζονταν σε ένα πολυκαταγραφικό σύστημα (Nihon Kohden RM-6000 polygraph amplifier system). Για την απαγωγή ΜΔΕ χρησιμοποιήθηκε καθετήρας ηλεκτροδίου επαφής (FRANZ MAP –PACING catheter), ο οποίος μέσω της δεξιάς σφαγιτίδας φλέβας προωθήθηκε στη δεξιά κοιλία. Για την ενίσχυση του σήματος χρησιμοποιήθηκε διαφορικός ενισχυτής με σύνθετη αντίσταση εισόδου 22 MΩ και απόκριση συχνότητας από DC-5000 Hz.

Πρωτόκολλο βηματοδότησης

Οι κόνικλοι υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένη και ταχεία κοιλιακή βηματοδότηση (Grass Stimulator, Model S8800) για τον προσδιορισμό της διάρκειας των ΜΔΕ (MAPD), της δραστικής ανερεθίστου περιόδου (VERP) και την πρόκληση κοιλιακών ταχυαρρυθμιών. Τα βηματοδοτικά ερεθίσματα είχαν διάρκεια 2 ms, ένταση διπλάσια της ισχύος του ουδικού ερεθίσματος και εύρος 8 V. Για την προκλητότητα κοιλιακών ταχυκαρδιών χρησιμοποιήθηκε επίσης η τεχνική ταχείας βηματοδότησης με επαναλαμβανόμενες ριπές σταθερά αυξανόμενης συχνότητας (high rate burst pacing). Η ηλεκτροφυσιολογική μελέτη γινόταν πριν την έγχυση ρανολαζίνης και κατά τα πρώτα 15-30 λεπτά μετά το τέλος της έγχυσης του φαρμάκου.

Για την απαγωγή των μονοφασικών δυναμικών (ΜΔΕ) έγινε βηματοδότηση με σταθερό μήκος κύματος 200 ms. Η διάρκεια των ΜΔΕ υπολογίστηκε στο 50% και στο 90% της επαναπόλωσης (MAPD50 και MAPD90 αντιστοίχως). Ο προσδιορισμός της VERP έγινε μέσω μεταβολής του μήκους κύματος πρώιμων ερεθισμάτων μετά από ακολουθία 5-7 σταθερού μήκους κύματος ερεθισμάτων (basic drive pacing stimuli). Το μήκος κύματος του πρώιμου ερεθίσματος μειωνόταν σταδιακά κατά 20 ms μέχρι την απουσία κοιλιακής απάντησης, και εν συνεχεία αυξανόταν κατά 5 ms έως την εμφάνιση ενός τοπικού αλλά όχι μεταδιδόμενου ερεθίσματος ικανού να προκαλέσει κοιλιακή συστολή. Η τοπική απάντηση ορίστηκε με βάση το κοιλιακό ΜΔΕ ενώ η μεταδιδόμενη από την εμφάνιση QRS συμπλέγματος στο καρδιογράφημα επιφανείας. Η μέγιστη τιμή του μήκους κύματος του πρώιμου ερεθίσματος το οποίο προκάλεσε τοπική αλλά όχι μεταδιδόμενη κοιλιακή διέγερση ορίστηκε ως κοιλιακή δραστική ανερέθιστη περίοδος (ventricular effective refractory period, VERP).

Τα καταληκτικά σημεία του πρωτοκόλλου βηματοδότησης ήταν η αναπαραγωγή εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας πριν τη χορήγηση ρανολαζίνης (έλεγχος) και μετά από ενδοφλέβια χορήγηση ρανολαζίνης 2.4 mg/kg και 4.8 mg/kg (αθροιστική δόση). Η ίδια μορφολογικά εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία η οποία μπορούσε να προκληθεί τουλάχιστον 2 φορές κατά τον έλεγχο και μετά από ρανολαζίνη, ελαμβάνετο ως ταχυκαρδία αναφοράς για την εκτίμηση της αντιαρρυθμικής δράσης του φαρμάκου.

Ορισμοί αρρυθμιών και προαρρυθμικής δράσης

Ως επαναλαμβανόμενες κοιλιακές απαντήσεις (repetitive ventricular responses, RVR) ορίστηκαν οι ακολουθίες 3-6 αυτόματων συστολών κατά τη διάρκεια βηματοδότησης. Ως μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία (nsVT) ορίστηκε κάθε ταχυκαρδία με περισσότερα από 6 κοιλιακά συμπλέγματα και αυτόματη ανάταξη εντός 30 sec. Κάθε αιμοδυναμικά σταθερή κοιλιακή ταχυκαρδία (VT) αποτελούμενη από τουλάχιστον 100 μονόμορφα κοιλιακά συμπλέγματα ή με διάρκεια άνω των 30 sec, ορίστηκε ως εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία (sVT), ανεξάρτητα από τον τρόπο ανάταξης (αυτόματα ή με υπερκέραση).

Η μετατροπή της nsVT που προκλήθηκε κατά τη βηματοδότηση ελέγχου σε sVT ή κοιλιακή μαρμαρυγή θεωρήθηκε ως προαρρυθμική δράση του φαρμάκου, όπως επίσης και η ελάττωση του μήκους κύματος της sVT ή η μετατροπή της σε κοιλιακή μαρμαρυγή. Η εμφάνιση νέας κοιλιακής ταχυκαρδίας με μεγαλύτερη συχνότητα μετά τη φαρμακευτική παρέμβαση, η οποία δεν προκλήθηκε κατά τον έλεγχο, θεωρήθηκε επίσης προαρρυθμική δράση του φαρμάκου.

Στατιστική ανάλυση

Paired *t*-test χρησιμοποιήθηκε για την σύγκριση των μετρήσεων σε ηλεκτροφυσιολογικές παραμέτρους πριν και μετά τη χορήγηση ρανολαζίνης στο ίδιο πειραματόζωο. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (mean ± SD). Τιμή $P < 0.05$ χαρακτηρίστηκε ως στατιστικά σημαντική. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το Primer of Biostatistics 7th edition, by Stanton A. Glantz (2017).

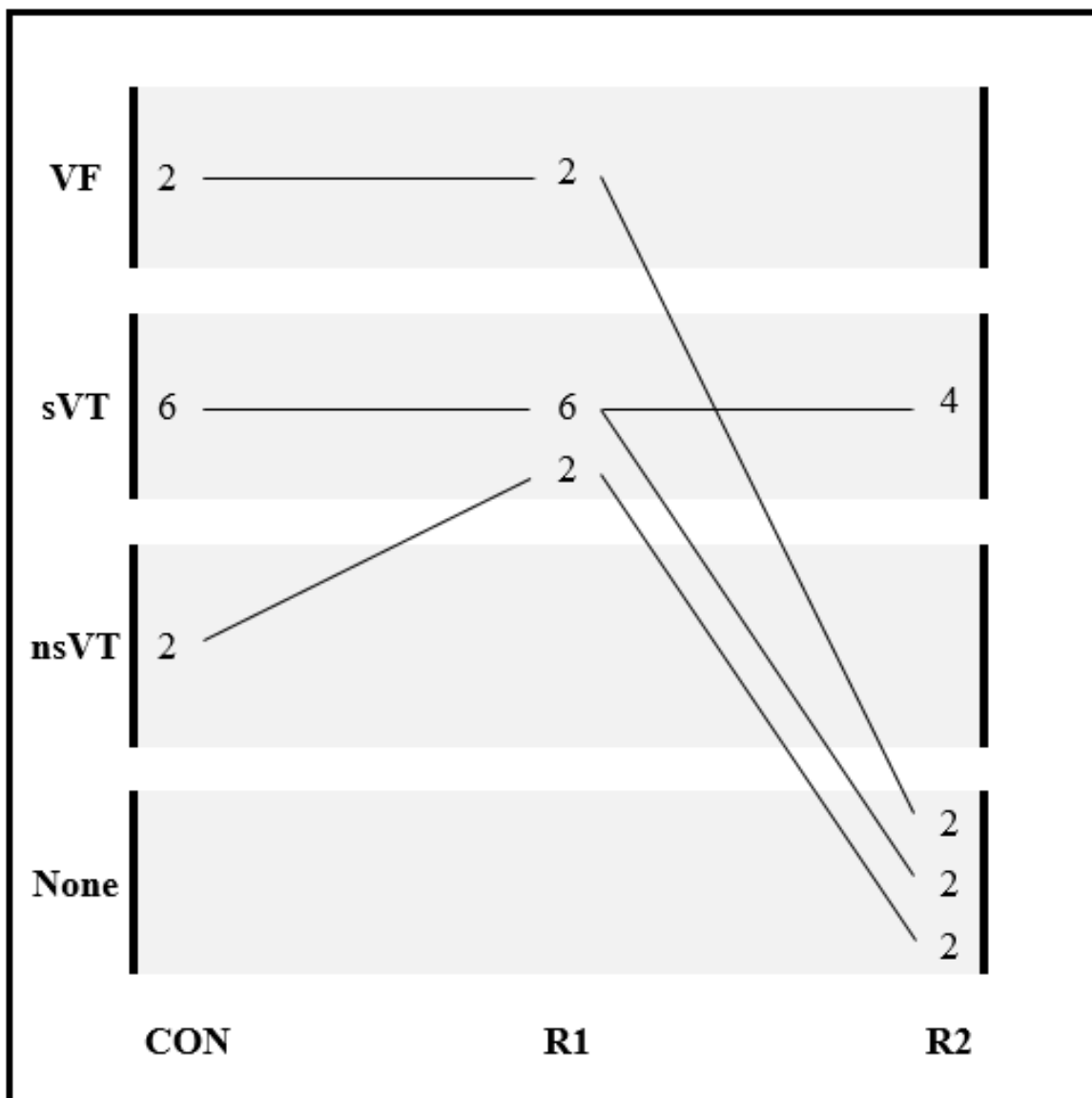
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όλα τα ζώα τα οποία επέζησαν μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (n= 10) υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένη κοιλιακή βηματοδότηση σε συνθήκες αναισθησίας και τεχνητού αερισμού με κλειστό θώρακα.

Σε 6 κονίκλους προκλήθηκε εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία (sVT) κατά τον έλεγχο (control), ενώ σε 2 άλλα ζώα προκλήθηκε κοιλιακή μαρμαρυγή (VF) και στα υπόλοιπα 2 μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία (nsVT) (Σχήμα 1). Η εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία τερματιζόταν με ταχεία βηματοδότηση υπερκερασμού ή με απινίδωση (50 J), ενώ η μαρμαρυγή με διαθωρακική απινίδωση (200-400 J). Μετά από κάθε απινίδωση έπρεπε να περάσουν τουλάχιστον 15 λεπτά για την συνέχιση του πρωτοκόλλου. Εκτός από την κοιλιακή μαρμαρυγή, σε όλες τις άλλες αρρυθμίες γίνονταν προσπάθεια αναπαραγωγής των αρρυθμιών 2-3 φορές.

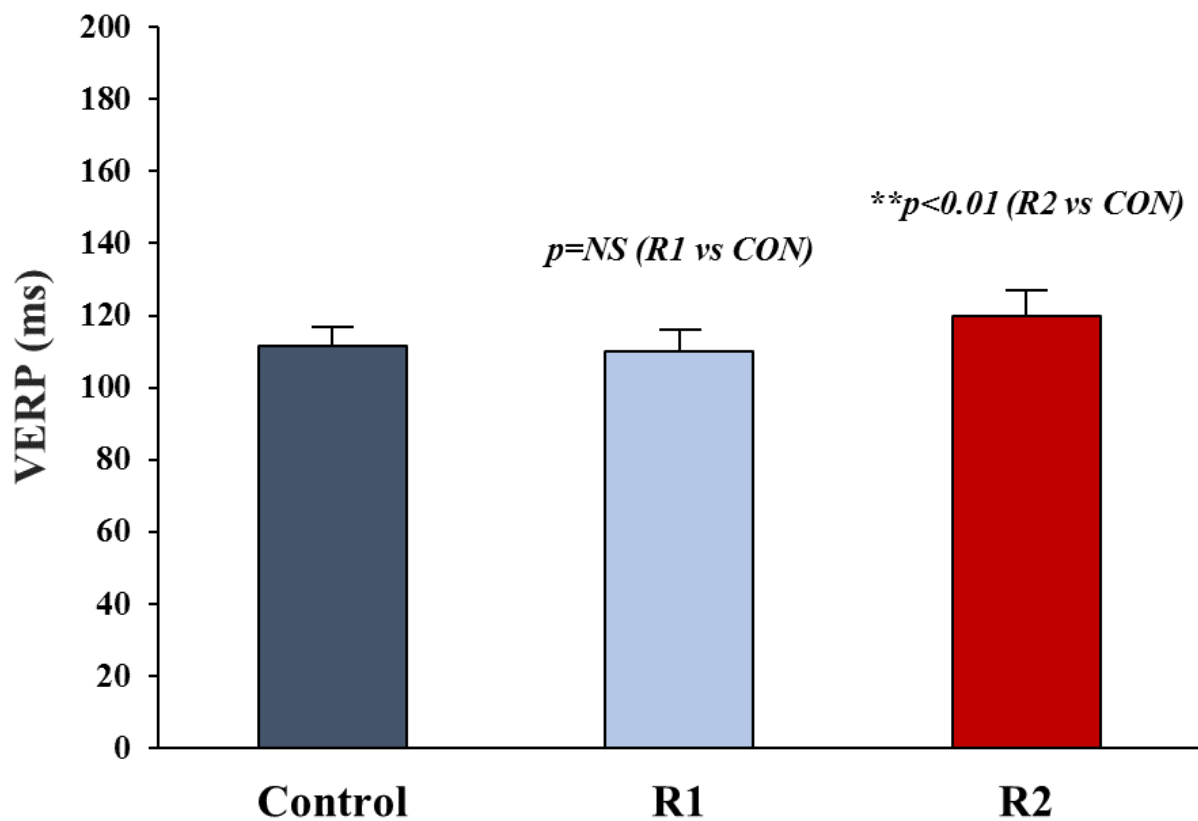
Μετά την 1η δόση ρανολαζίνης (2.4 mg/kg i.v./1 λεπτό έγχυσης), εφαρμόστηκε το ίδιο πρωτόκολο βηματοδότησης όπως στον έλεγχο. Στα 6 πειραματόζωα με εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία η ρανολαζίνη όχι μόνο δεν εμπόδισε την πρόκλησή της αλλά είχε μια τάση αύξησης της συχνότητάς της (βράχυνση του μήκους κύματος της ταχυκαρδίας), ενώ σε 2 από τα 6 ζώα η ταχυκαρδία υποτροπίασε σε μαρμαρυγή. Επίσης, η μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία σε 2 κονίκλους κατά τον έλεγχο μεταβλήθηκε σε εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία, ενώ στα υπόλοιπα 2 πειραματόζωα με κοιλιακή μαρμαρυγή η 1η δόση ρανολαζίνης δεν εμπόδισε την αναπαραγωγή της (Σχήμα 1).

Σε σύγκριση με την 1η δόση ρανολαζίνης, η 2η δόση (συνολικά 4.8 mg/kg i.v.) η οποία χορηγήθηκε μετά από 30 λεπτά από την 1η δόση, είχε αντιαρρυθμική δράση. Τα 4 ζώα με κοιλιακές ταχυαρρυθμίες (2 με μαρμαρυγή και 2 με υποτροπιάζουσα μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία) δεν είχαν καμία αρρυθμία μετά τη 2η δόση. Σε 4 από τα 6 πειραματόζωα με εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία μειώθηκε σημαντικά η συχνότητα της ταχυκαρδίας (αύξηση του μήκους κύματος), ενώ στα 2 από τα 6 η 2η δόση ρανολαζίνης εμπόδισε την αναπαραγωγή της.



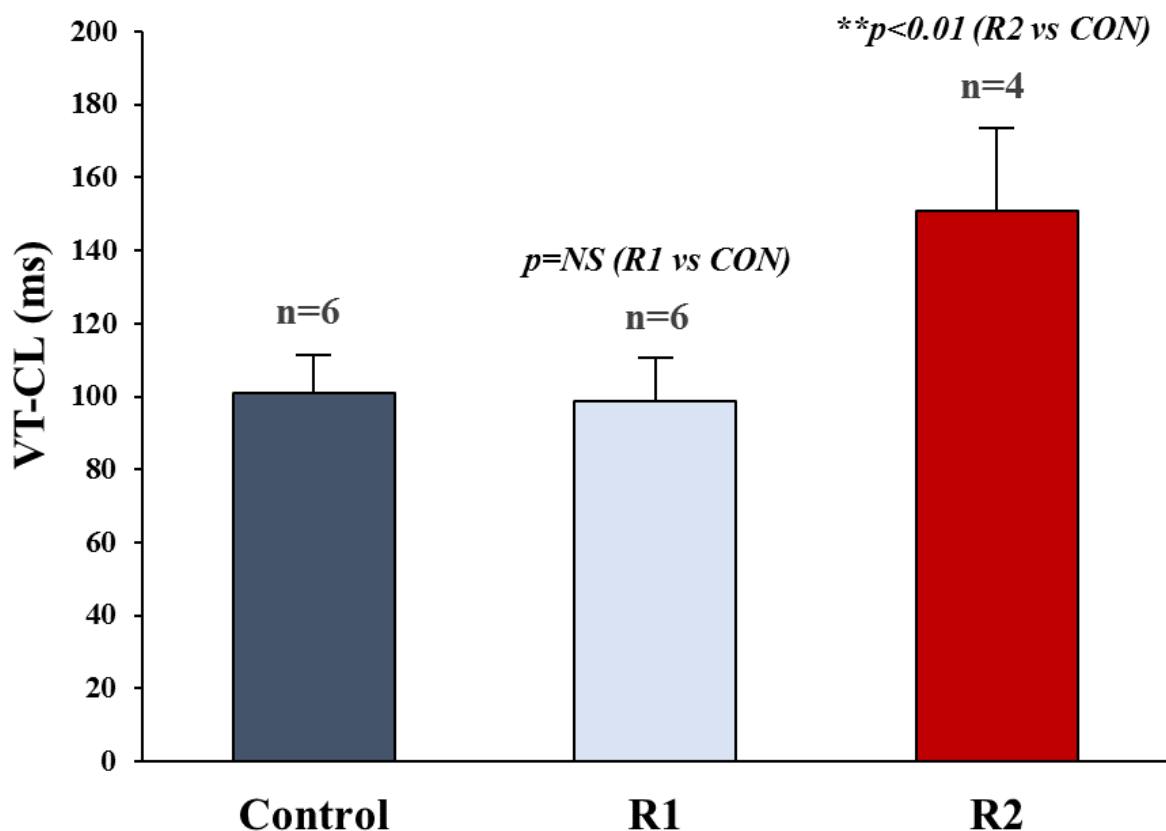
Σχήμα 1. Απεικόνιση της επίδρασης της πρώτης δόσης (2.4 mg/kg) και της δεύτερης δόσης (4.8 mg/kg) ρανολαζίνης στην πρόκληση αρρυθμιών. VF: Κοιλιακή μαρμαρυγή, sVT: Εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία, nsVT: Μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία, None: καμία αρρυθμία. CON: Πριν από τη χορήγηση ρανολαζίνης, R1: Μετά τη χορήγηση της πρώτης δόσης ρανολαζίνης. R2: Μετά τη χορήγηση της δεύτερης δόσης ρανολαζίνης.

Η ρανολαζίνη στη δόση των 2.4 mg/kg δεν άλλαξε σημαντικά την δραστική ανερέθιστη περίοδο της δεξιάς κοιλίας στο κορυφαίο τμήμα της (VERP, Εικόνα 17). Συγκεκριμένα, σε 7/10 πειραματόζωα μείωσε ελαφρά την VERP ενώ στα υπόλοιπα 3 την άφησε σχεδόν ανεπηρέαστη. Συνολικά υπήρξε μία τάση μείωσης της μέσης VERP μετά την 1η δόση ρανολαζίνης από 111.7 ± 5 σε 110 ± 6 ms, $p=NS$ (Εικ. 17, R1). Αντίθετα η δεύτερη δόση αύξησε σημαντικά την VERP σε 120 ms κατά μέσο όρο και εμπόδισε την αναπαραγωγή της κοιλιακής ταχυκαρδίας σε 2 κονίκλους, η οποία προκλήθηκε κατά τον έλεγχο και την 1η δόση ρανολαζίνης (Σχήμα 1).



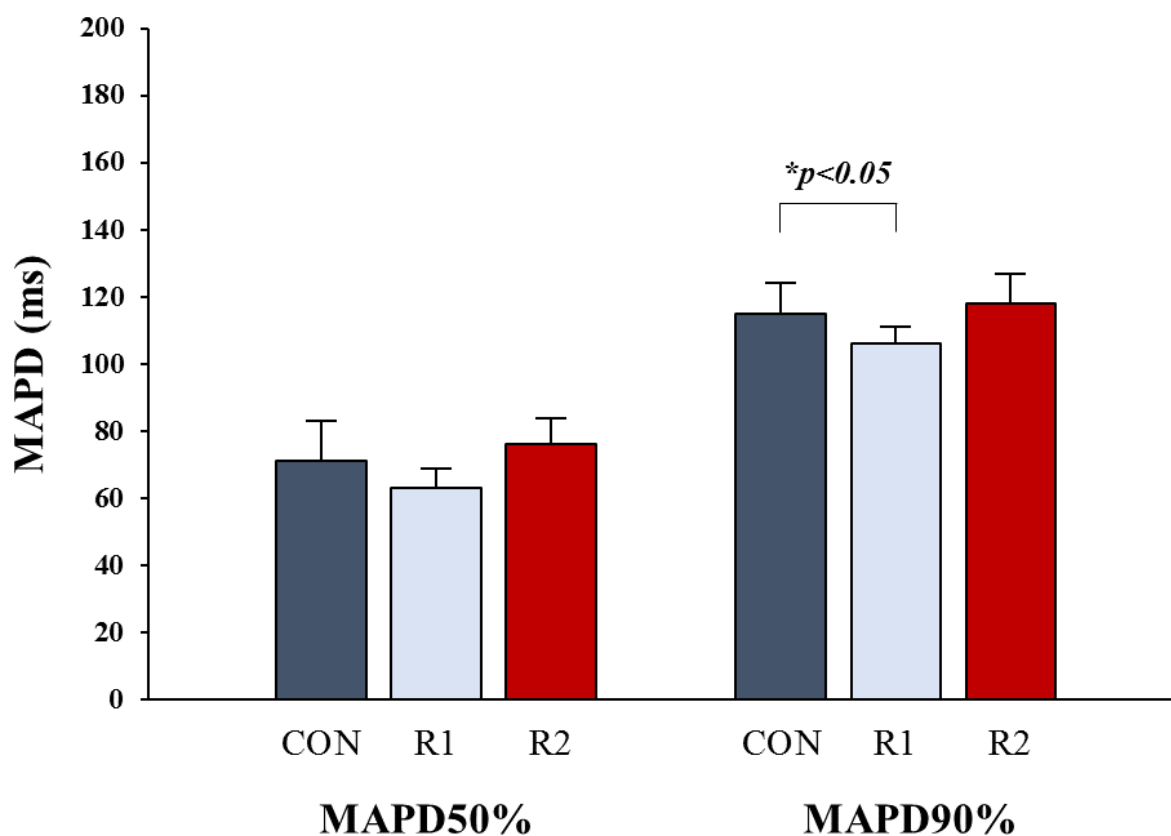
Εικόνα 17. Η διάρκεια της δραστηκής ανερεθίστου περιόδου στο ενδοκάρδιο της δεξιάς κοιλίας πριν και μετά τη χορήγηση ρανολαζίνης. Control (CON): ομάδα ελέγχου, R1: ρανολαζίνη 2.4 mg/kg, R2: ρανολαζίνη 4.8 mg/kg, VERP: διάρκεια κοιλιακής ανερεθίστου περιόδου ενδοκαρδίου σε ms. NS: not significant.

Στην Εικ. 18 φαίνεται η ελαφρά αύξηση της συχνότητας της εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας μετά την 1η δόση ρανολαζίνης σε 6 πειραματόζωα (μικρή ελάττωση του μήκους κύματος), ενώ μετά από τη 2^η δόση η συχνότητα της ταχυκαρδίας μειώθηκε σημαντικά, όπως αυτό αντανακλάται από την αύξηση του μήκους κύματος της ταχυκαρδίας από 100.8 σε 150.8 ms κατά μέσο όρο (4 πειράματα).



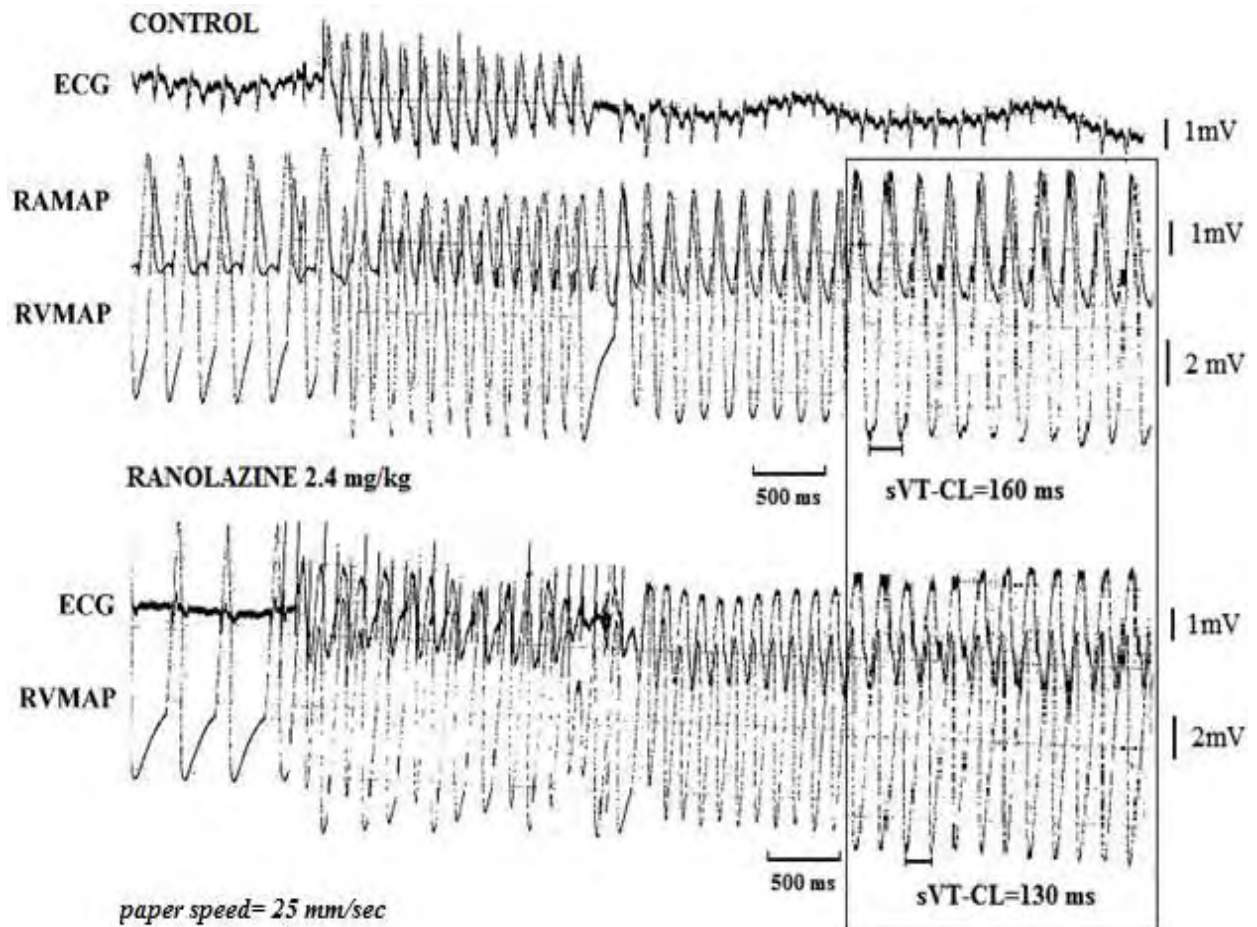
Εικόνα 18. Μήκος κύκλου εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας πριν και μετά τη χορήγηση ρανολαζίνης. Control (CON): ομάδα ελέγχου, R1: ρανολαζίνη 2.4 mg/kg, R2: ρανολαζίνη 4.8 mg/kg, VT-CL: Μήκος κύματος κοιλιακής ταχυκαρδίας, n= αριθμός πειραμάτων, NS= not significant

Η Εικ. 19 απεικονίζει την επίδραση των δύο δόσεων ρανολαζίνης στη μέση τιμή της διάρκειας των μονοφασικών δυναμικών κατά το 50% και 90% της επαναπόλωσης (MAPD50% και MAPD90%). Η 1η δόση ελάττωσε σημαντικά τη MAPD90% από 115±9 ms σε 106±5 ms, ενώ η MAPD50% δεν μειώθηκε σημαντικά (από 71±12 ms σε 63±6 ms). Η 2η δόση δεν προκάλεσε σημαντική μεταβολή στη MAPD50% και MAPD90% (76±8 ms και 118±9 ms ως προς τον έλεγχο, αντίστοιχα).



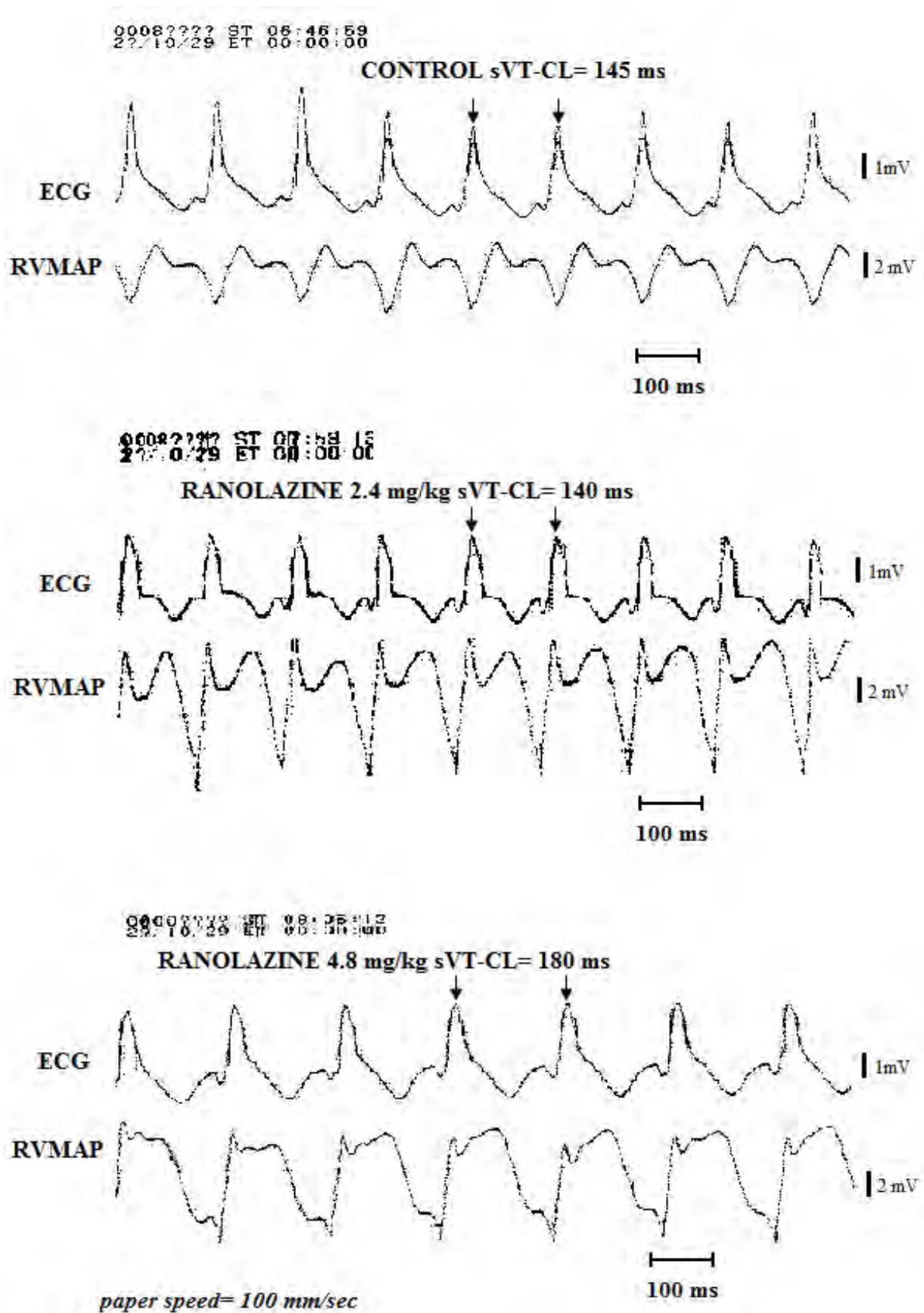
Εικόνα 19. Η διάρκεια των μονοφασικών δυναμικών από το ενδοκάρδιο της δεξιάς κοιλίας πριν και μετά τη χορήγηση ρανολαζίνης στο 50% και στο 90% της επαναπόλωσης. MAPD50%: Διάρκεια ΜΔΕ στο 50% της επαναπόλωσης, MAPD90%: Διάρκεια ΜΔΕ στο 90% της επαναπόλωσης, CON: έλεγχος, R1: Ρανολαζίνη 2.4 mg/kg, R2: Ρανολαζίνη 4.8 mg/kg, NS= not significant

Η Εικ. 20 δείχνει ένα παράδειγμα υποτροπής της ταχυκαρδίας που προκλήθηκε με ταχεία βηματοδότηση κατά τον έλεγχο. Η 1η δόση ρανολαζίνης (2.4 mg/kg) μείωσε το μήκος κύματος της ταχυκαρδίας από 160 σε 130 ms και αύξησε την συχνότητά της. Η ταχυκαρδία αυτή μετατράπηκε σε κοιλιακή μαρμαρυγή η οποία ανατάχθηκε αυτόματα σε φλεβόκομβο. Μετά τη 2^η δόση το συγκεκριμένο ζώο δεν παρουσίασε κοιλιακή ταχυκαρδία. Χαρακτηριστικό της δράσης της ρανολαζίνης είναι η μείωση της καρδιακής συχνότητας η οποία διαφαίνεται από τα μεγαλύτερα διαστήματα πριν την έναρξη της ταχείας βηματοδότησης.



Εικόνα 20. Προαρρυθμική δράση της 1ης δόσης ρανολαζίνης σε αναισθητοποιημένο κόνικλο 5 ημέρες μετά από οξύ έμφραγμα και εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία κατά τον έλεγχο (control). Το πλαίσιο απεικονίζει τις απαγωγές των MAP σε μεγέθυνση. ECG: Ηλεκτροκαρδιογράφημα, RAMAP: Μονοφασικό δυναμικό από το ενδοκάρδιο του δεξιού κόλπου, RVMAP: Μονοφασικό δυναμικό από το ενδοκάρδιο της δεξιάς κοιλίας, sVT-CL: Μήκος κύματος εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας.

Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται η επίδραση της 1ης και 2ης δόσης ρανολαζίνης σε εμμένουσα αιμοδυναμικά σταθερή κοιλιακή ταχυκαρδία σε αναισθητοποιημένο κόνικλο. Η 1η δόση ρανολαζίνης (2.4 mg/kg) μείωσε το μήκος κύματος της ταχυκαρδίας από 145 σε 140 ms αυξάνοντας λίγο τη συχνότητά της. Αντίθετα, η 2η δόση ρανολαζίνης (4.8 mg/kg) αύξησε το μήκος κύματος της ταχυκαρδίας σε 180 ms ελαττώνοντας τη συχνότητά της (αντιαρρυθμικό αποτέλεσμα).



Εικόνα 21. Δράση της 1ης και 2ης δόσης ρανολαζίνης στο μήκος κύματος εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας (sVT-CL). ECG: Ηλεκτροκαρδιογράφημα, RVMAP: Μονοφασικό δυναμικό δεξιάς κοιλίας.

Η επίδραση της πρώτης και δεύτερης δόσης του φαρμάκου δεν μείωσε σημαντικά την αρτηριακή πίεση στα πειραματόζωα κατά τη διάρκεια φλεβοκομβικού ρυθμού πριν και 15 λεπτά αργότερα στις αντίστοιχες δόσεις. Τα αποτελέσματα σχετικά με συνεχή καταγραφή πίεσης μέσω της καρωτιδικής αρτηρίας ήταν ελλιπή ένεκα των συνεχών ταχυαρρυθμιών και της συχνής απόφραξης του στομίου της κάνουλας στην σχετικά μικρή καρωτίδα του κονίκλου.

Παράμετρος	CON	R1	R2
VERP	111.7±5	110±6	120±7**
sVT-CL	100.8±10.6	98.6±12	150.8±22.9**
MAPD50%	71±12	63±6	76±8
MAPD90%	115±9	106±5*	118±9

Πίνακας 2. Η μέση τιμή και η σταθερή απόκλιση των παραμέτρων που μελετήθηκαν πριν και μετά από τη χορήγηση της 1ης και 2ης δόσης ρανολαζίνης. CON: Έλεγχος, R1: 1η δόση ρανολαζίνης (2.4 mg/kg), R2: 2η δόση ρανολαζίνης (4.8 mg/kg). VERP: Κοιλιακή δραστική ανερέθιστη περίοδος, sVT-CL: Μήκος κύματος εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας, MAPD50%/90%: Η διάρκεια του μονοφασικού δυναμικού κατά το 50% και 90% της επαναπόλωσης. Οι παράμετροι εκφράστηκαν σε ms (mean±SD), * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control, Student's paired t-test.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, τα 2.4 mg/kg ρανολαζίνης (μέση θεραπευτική δόση) δεν είχαν καμία αντιαρρυθμική δράση σε μετεμφραγματικά προκληθείσες κοιλιακές ταχυαρρυθμίες. Αντίθετα, το σκεύασμα στην παραπάνω δόση διευκόλυνε τη μετατροπή εμμένουσας κοιλιακής ταχυκαρδίας σε πιο επικίνδυνες μορφές και σε κοιλιακή μαρμαρυγή. Συγκριτικά, η 2η δόση των 4.8 mg/kg (ανώτερη θεραπευτική δόση) έδειξε αντιαρρυθμική δράση εμποδίζοντας την πρόκληση κοιλιακών ταχυαρρυθμιών ή μετατρέποντας την εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία σε ηπιότερη μορφή μειώνοντας τη συχνότητά της.

Πρόσφατη πειραματική μελέτη που αφορούσε την επίδραση του φαρμάκου στις κοιλιακές αρρυθμίες της οξείας φάσης του εμφράγματος έδειξε πως η ρανολαζίνη (10 μM) διευκόλυνε τον τερματισμό των κοιλιακών αρρυθμιών ελαττώνοντας την επαγόμενη από το αυξημένο INaL εστιακή δραστηριότητα στην ισχαιμική ζώνη του εμφράγματος [6]. Επίσης σύμφωνα με τους συγγραφείς της μελέτης, η ρανολαζίνη έδρασε αντιαρρυθμικά εμποδίζοντας τη βράχυνση του δυναμικού ενέργειας και της ανερεθίστου περιόδου πιθανόν λόγω αναστολής του ταχέος ρεύματος K^+ χωρίς να επηρεάσει την κοιλιακή αγωγιμότητα [6].

Άλλοι ερευνητές όπως ο Nieminen et al. βρήκαν ότι η ρανολαζίνη αυξάνει τον ουδό πρόκλησης κοιλιακής μαρμαρυγής σε συνθήκες οξείας ισχαιμίας. Η δράση αυτή της ρανολαζίνης αποδόθηκε κυρίως στην αναστολή του INaL και όχι στην αναστολή του IKr, καθώς σε σοβαρή ισχαιμία η χορήγηση αναστολέα του IKr δεν αύξησε τον ουδό κοιλιακής μαρμαρυγής. Επίσης, σύμφωνα με την ίδια μελέτη η αναστολή του INaL περιορίζει την προκαλούμενη από την ισχαιμία αύξηση της διασποράς της επαναπόλωσης [74]. Η ρανολαζίνη ως ένας INaL αναστολέας ελαττώνει την αυξημένη διατοιχωματική διασπορά της επαναπόλωσης και της ανερεθίστου περιόδου σε συνθήκες ισχαιμίας, εμποδίζοντας την ενεργοποίηση κυκλωμάτων επανεισόδου.

Στη μελέτη του Dhalla et al., σε πειραματικό μοντέλο οξείας ισχαιμίας 20 min η ρανολαζίνη είχε σημαντική δοσοεξαρτώμενη αντιαρρυθμική δράση, ελαττώνοντας τη συχνότητα και τη διάρκεια επεισοδίων κοιλιακής ταχυκαρδίας και κοιλιακής μαρμαρυγής. Τα αποτελέσματα ήταν εμφανή ακόμα και μετά τη χορήγηση χαμηλής δόσης (2-4 μM) αποδίδοντας έτσι την αντιαρρυθμική δράση στην αναστολή του INaL [75]. Η μελέτη του Kloner et al., επιβεβαιώνει τα ευρήματα τα προηγούμενης μελέτης αναφορικά με την αντιαρρυθμική δράση της ρανολαζίνης σε χαμηλές δόσεις (2-4 μM) και το σημαντικό ρόλο της αναστολής του INaL [76]. Η αντιαρρυθμική δράση στις κοιλιακές αρρυθμίες ειδικά του οξέος εμφράγματος αποδίδεται κυρίως στην αναστολή του INaL η οποία εμποδίζει την ενδοκυττάρια υπερφόρτωση Na^+ και Ca^{2+} και τη δημιουργία πρώιμων και όψιμων μεταδυναμικών.

Στη φάση του υποξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου η δράση της ρανολαζίνης δεν έχει ερευνηθεί. Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η 1η δόση ρανολαζίνης (2.4 mg/kg) προκάλεσε στατιστικά σημαντική ελάττωση της MAPD90% χωρίς σημαντική μεταβολή της VERP. Η δράση αυτή φαίνεται εν μέρει να σχετίζεται με το προαρρυθμικό προφίλ της φαρμακευτικής ουσίας στη δόση αυτή. Αντίθετα, η 2η δόση του σκευάσματος αύξησε σημαντικά τη διάρκεια της VERP ενώ δε μετέβαλλε τη MAPD90% ως προς τον έλεγχο, αλλά επανέφερε τη μείωσή της από την πρώτη δόση.

Η αύξηση της VERP μετά τη 2η δόση έδρασε ενδεχομένως αντιαρρυθμικά προστατεύοντας το υγιές μυοκάρδιο από ενεργά κυκλώματα επανεισόδου σε ισχαιμικές περιοχές. Υποθετικά η αύξηση της ERP σε περι-εμφραγματικές περιοχές υγιούς μυοκαρδίου μπορεί να εμποδίσει την μετάδοση μαρμαρυγικών κυμάτων και την εξάπλωσή τους στον καρδιακό μυ. Σε περιπτώσεις όμως ταυτόχρονης ενεργοποίησης πολλαπλών κυκλωμάτων επανεισόδου ή ανώμαλων αυτοματικών κέντρων, ο προστατευτικός αυτός μηχανισμός είναι λιγότερο αποτελεσματικός.

Το γεγονός ότι η αύξηση της δραστηκής ανερεθίστου περιόδου παρατηρείται μόνο μετά τη χορήγηση της 2ης δόσης, καθιστά ως πιθανότερο μηχανισμό την αναστολή του ταχέος ρεύματος K^+ (IKr), δεδομένου ότι η αναστολή του IKr προκαλείται σε συγκεντρώσεις 11-12 μM , ενώ σε θεραπευτικές δόσεις (1η δόση) η δράση του φαρμάκου περιορίζεται σχεδόν αποκλειστικά στην αναστολή του INaL [5]. Το εύρημα ότι η πυκνότητα των IKr διαύλων είναι ελαττωμένη στο ισχαιμικό μυοκάρδιο δεν αναιρεί ότι οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του φαρμάκου μετά τη 2η δόση δεν αποκλείουν μεγαλύτερο αριθμό υπαρχόντων IKr διαύλων [55].

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δεν αποκλείουν την επίδραση της ρανολαζίνης και στους INa διαύλους στον εμφραγματικό ιστό, όπου διαμέσου αυτού του μηχανισμού μπλοκάρεται η αργή αγωγιμότητα περιοχών με ενεργά κυκλώματα επανεισόδου. Υπέρ αυτού του μηχανισμού δράσης συνηγορεί το γεγονός ότι στην ισχαιμική ζώνη τα κύτταρα είναι σε διαρκή υπο-ουδική εκπόλωση (θετικοποίηση του δυναμικού ηρεμίας λόγω αύξησης του εξωκυττάριου K^+) και ως εκ τούτου οι διάλυτοι Na^+ είναι ενεργοποιήσιμοι. Έτσι η ρανολαζίνη μπορεί να τους μπλοκάρει περισσότερο και να μειώσει σημαντικά την αγωγιμότητα στον ισχαιμικό ιστό καταστέλλοντας κυκλώματα επανεισόδου ιδιαίτερα σε υψηλές συχνότητες. Η ρανολαζίνη ακολουθεί τη συμπεριφορά της λιδοκαΐνης η οποία δεν έχει καμία επίδραση στο υγιές μυοκάρδιο αλλά στο ισχαιμικό μυοκάρδιο μειώνει την κοιλιακή αγωγιμότητα επειδή βρίσκει περισσότερους ανοικτούς διαύλους Na τους οποίους μπλοκάρει.

Η δόσο-εξαρτώμενη δράση της ρανολαζίνης στην αγωγιμότητα του κοιλιακού μυοκαρδίου υποστηρίζεται από τα αποτελέσματα της μελέτης του Szél et al. [77], σύμφωνα με την οποία η ρανολαζίνη σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις (5-20 μM) και σε υψηλές καρδιακές συχνότητες προκαλεί ελάττωση της αγωγιμότητας μέσω αναστολής του INa. Η δράση αυτή της ρανολαζίνης

ενισχύεται στο ισχαιμικό μυοκάρδιο από την αυξημένο αριθμό ανοικτών διαύλων Na (Gettes et al., 1991) [78].

Συμπέρασμα

Βάσει των ευρημάτων της παρούσας πειραματικής μελέτης φαίνεται ότι η ρανολαζίνη έχει δοσοεξαρτώμενη αντιαρρυθμική δράση σε κοιλιακές ταχυαρρυθμίες επανεισόδου, κατά την υποξεία φάση του εμφράγματος του μυοκαρδίου σε κονίκλους. Η δράση του φαρμάκου στην ισχαιμική ζώνη χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για να κατανοηθεί καλύτερα ο αντιαρρυθμικός της μηχανισμός για την πρόληψη μετεφραγματικών αρρυθμιών. Αν και τα αποτελέσματα της μελέτης δεν μπορούν άμεσα να μεταφερθούν στον άνθρωπο, εν τούτοις πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι η θεραπευτική δόση ρανολαζίνης η οποία αναστέλλει κυρίως το όψιμο ρεύμα νατρίου στο κοιλιακό μυοκάρδιο μπορεί να μειώσει την ανερέθιστο περίοδο και να έχει προαρρυθμική δράση σε ασθενείς μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bhar-Amato J, Davies W, Agarwal S. Ventricular Arrhythmia after Acute Myocardial Infarction: ‘The Perfect Storm’. *Arrhythmia & Electrophysiology Review*. 017;6(3):134-139
2. Aidonidis I.S, Rizos I.K, Molyvdas P.A, Poyatzi A.D, Lymberi M.K, Dontas I, Karayannakos P, Stavridis I.C, Toutouzas P.K. Early afterdepolarizations form the main mechanism of nonreentrant arrhythmias following acute coronary occlusion in anesthetized pigs. *Hellenic Journal of Cardiology*. 1995;36(5):533-542
3. Di Diego J, Antzelevitch C. Ischemic ventricular arrhythmias: Experimental models and their clinical relevance. *Heart Rhythm*. 2011;8(12):1963-1968.
4. Restivo M, Gough W, el-Sherif N. Ventricular arrhythmias in the subacute myocardial infarction period. High-resolution activation and refractory patterns of reentrant rhythms. *Circulation Research*. 1990;66(5):1310-1327.
5. Antzelevitch C, Burashnikov A, Sicouri S, Belardinelli L. Electrophysiologic basis for the antiarrhythmic actions of ranolazine. *Heart Rhythm*. 2011;8(8):1281-1290.
6. Ogawa T, Honjo H, Yamazaki M, Kushiya Y, Sakuma I, Kodama I et al. Ranolazine Facilitates Termination of Ventricular Tachyarrhythmia Associated With Acute Myocardial Ischemia Through Suppression of Late Na-Mediated Focal Activity. *Circulation Journal*. 2017;81(10):1411-1428.
7. Scirica B, Morrow D, Hod H, Murphy S, Belardinelli L, Hedgepeth C et al. Effect of Ranolazine, an Antianginal Agent With Novel Electrophysiological Properties, on the Incidence of Arrhythmias in Patients With Non–ST-Segment–Elevation Acute Coronary Syndrome. *Circulation*. 2007;116(15):1647-1652.
8. Scirica B, Braunwald E, Belardinelli L, Hedgepeth C, Spinar J, Wang W et al. Relationship Between Nonsustained Ventricular Tachycardia After Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndrome and Sudden Cardiac Death: Observations From the Metabolic Efficiency With Ranolazine for Less Ischemia in Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndrome–Thrombolysis in Myocardial Infarction 36 (MERLIN-TIMI 36) Randomized Controlled Trial. *Circulation*. 2010;122(5):455-462.
9. Backer C, Cook A, Hlavacek A, Spicer D, Anderson R. Wilcox's Surgical Anatomy of the Heart. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2013.
10. CASTELLANOS A. H-V Intervals in LBBB. *Circulation*. 1973;47(5):1133-1134.
11. Κάνδυλας Ι., Ηλεκτροφυσιολογία Αρρυθμιολογία, 1^η Έκδοση, 1^{ος} Τόμος, Αθήνα, Εκδόσεις Τεχνόγραμμα, 1998: 45-57

12. Morad M, Tung L. Ionic events responsible for the cardiac resting and action potential. *The American Journal of Cardiology*. 1982;49(3):584-594.
13. Fozzard H, Hanck D. Structure and function of voltage-dependent sodium channels: comparison of brain II and cardiac isoforms. *Physiological Reviews*. 1996;76(3):887-926.
14. Xu H, Guo W, Nerbonne J. Four Kinetically Distinct Depolarization-activated K⁺ Currents in Adult Mouse Ventricular Myocytes. *The Journal of General Physiology*. 1999;113(5):661-678.
15. Perez-Reyes E. Molecular Physiology of Low-Voltage-Activated T-type Calcium Channels. *Physiological Reviews*. 2003;83(1):117-161.
16. Bers D. Ca channels in cardiac myocytes: structure and function in Ca influx and intracellular Ca release. *Cardiovascular Research*. 1999;42(2):339-360.
17. Schmitt N, Grunnet M, Olesen S. Cardiac Potassium Channel Subtypes: New Roles in Repolarization and Arrhythmia. *Physiological Reviews*. 2014;94(2):609-653. doi:10.1152/physrev.00022.2013
18. Yang S, Kittnar O. New Insights Into Application of Cardiac Monophasic Action Potential. *Physiol Res*. 2010;59(5):645-50
19. Tse G, Wong S, Tse V, Yeo J. Monophasic action potential recordings: which is the recording electrode?. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2016;27(5):457-462
20. MOORE H, FRANZ M. Monophasic Action Potential Recordings in Humans. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2007;18(7):787-790
21. Zipes D. *Cardiac electrophysiology*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2014:657-658
22. Franz M. Current status of monophasic action potential recording: theories, measurements and interpretations. *Cardiovascular Research*. 1999;41(1):25-40
23. Mangold K, Brumback B, Angsutararux P, Voelker T, Zhu W, Kang P et al. Mechanisms and models of cardiac sodium channel inactivation. *Channels*. 2017;11(6):517-533.
24. Zipes D. *Cardiac electrophysiology*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2014:1-7
25. Balser J. Structure and function of the cardiac sodium channels. *Cardiovascular Research*. 1999;42(2):327-338.
26. Catterall W. Voltage-gated sodium channels at 60: structure, function and pathophysiology. *The Journal of Physiology*. 2012;590(11):2577-2589.
27. Chadda K, Jeevaratnam K, Lei M, Huang C. Sodium channel biophysics, late sodium current and genetic arrhythmic syndromes. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. 2017;469(5-6):629-641.

28. Silva J. Voltage Gated Sodium Channels. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2014;221:33-49.
29. MALTSEV V, UNDROVINAS A. A multi-modal composition of the late Na⁺ current in human ventricular cardiomyocytes. *Cardiovascular Research*. 2006;69(1):116-127.
30. Makielski J. Late sodium current: A mechanism for angina, heart failure, and arrhythmia. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2016;26(2):115-122.
31. Belardinelli L, Giles W, Rajamani S, Karagueuzian H, Shryock J. Cardiac late Na⁺ current: Proarrhythmic effects, roles in long QT syndromes, and pathological relationship to CaMKII and oxidative stress. *Heart Rhythm*. 2015;12(2):440-448.
32. Antzelevitch C, Nesterenko V, Shryock J, Rajamani S, Song Y, Belardinelli L. The Role of Late I_{Na} in Development of Cardiac Arrhythmias. *Voltage Gated Sodium Channels*. 2014;:137-168.
33. Zablocki J, Elzein E, Li X, Koltun D, Parkhill E, Kobayashi T et al. Discovery of Dihydrobenzoxazepinone (GS-6615) Late Sodium Current Inhibitor (Late INa_i), a Phase II Agent with Demonstrated Preclinical Anti-Ischemic and Antiarrhythmic Properties. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016;59(19):9005-9017.
34. Kassmann M, Hansel A, Leipold E, Birkenbeil J, Lu S, Hoshi T et al. Oxidation of multiple methionine residues impairs rapid sodium channel inactivation. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. 2008;456(6):1085-1095.
35. Erickson J, He B, Grumbach I, Anderson M. CaMKII in the Cardiovascular System: Sensing Redox States. *Physiological Reviews*. 2011;91(3):889-915.
36. Aiba T, Hesketh G, Liu T, Carlisle R, Villa-Abrille M, O'Rourke B et al. Na⁺ channel regulation by Ca²⁺/calmodulin and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in guinea-pig ventricular myocytes†. *Cardiovascular Research*. 2009;85(3):454-463.
37. Hund T, Koval O, Li J, Wright P, Qian L, Snyder J et al. A βIV-spectrin/CaMKII signaling complex is essential for membrane excitability in mice. *Journal of Clinical Investigation*. 2010;120(10):3508-3519
38. Ashpole N, Herren A, Ginsburg K, Brogan J, Johnson D, Cummins T et al. Ca²⁺/Calmodulin-dependent Protein Kinase II (CaMKII) Regulates Cardiac Sodium Channel NaV1.5 Gating by Multiple Phosphorylation Sites. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(24):19856-19869.
39. Murray K, Hu N, Daw J, Shin H, Watson M, Mashburn A et al. Functional Effects of Protein Kinase C Activation on the Human Cardiac Na⁺ Channel. *Circulation Research*. 1997;80(3):370-376

40. Ward C, Giles W. Ionic mechanism of the effects of hydrogen peroxide in rat ventricular myocytes. *The Journal of Physiology*. 1997;500(3):631-642.
41. MAKIELSKI J, FARLEY A. Na⁺ Current in Human Ventricle: Implications for Sodium Loading and Homeostasis. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2006;17(s1):S15-S20
42. Gautier M, Zhang H, Fearon I. Peroxynitrite formation mediates LPC-induced augmentation of cardiac late sodium currents. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2008;44(2):241-251
43. SAINT D. The Role of the Persistent Na⁺ Current During Cardiac Ischemia and Hypoxia. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2006;17(s1):S96-S103.
44. Ahern G, Hsu S, Klyachko V, Jackson M. Induction of Persistent Sodium Current by Exogenous and Endogenous Nitric Oxide. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(37):28810-28815
45. Shryock J, Song Y, Rajamani S, Antzelevitch C, Belardinelli L. The arrhythmogenic consequences of increasing late I_{Na} in the cardiomyocyte. *Cardiovascular Research*. 2013;99(4):600-611
46. Unudurthi S, Hund T. Late sodium current dysregulation as a causal factor in arrhythmia. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2016;14(5):545-547.
47. Antzelevitch C, Burashnikov A. Overview of Basic Mechanisms of Cardiac Arrhythmia. *Cardiac Electrophysiology Clinics*. 2011;3(1):23-45
48. Tse G. Mechanisms of cardiac arrhythmias. *Journal of Arrhythmia*. 2016;32(2):75-81.
49. Weiss J, Garfinkel A, Karagueuzian H, Chen P, Qu Z. Early afterdepolarizations and cardiac arrhythmias. *Heart Rhythm*. 2010;7(12):1891-1899.
50. Katra R. Cellular Mechanism of Calcium-Mediated Triggered Activity in the Heart. *Circulation Research*. 2005;96(5):535-542.
51. Antzelevitch C. Basic mechanisms of reentrant arrhythmias. *Current Opinion in Cardiology*. 2001;16(1):1-7
52. Jugdutt B. Suppression of Ventricular Arrhythmias After Myocardial Infarction by AT₁ Receptor Blockade: Role of the AT₂ Receptor and Casein Kinase 2/Kir2.1 Pathway. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2015;29(3):201-206
53. Carmeliet E. Cardiac Ionic Currents and Acute Ischemia: From Channels to Arrhythmias. *Physiological Reviews*. 1999;79(3):917-1017
54. Janse M, Wit A. Electrophysiological mechanisms of ventricular arrhythmias resulting from myocardial ischemia and infarction. *Physiological Reviews*. 1989;69(4):1049-1169

55. Pinto J, Boyden P. Electrical remodeling in ischemia and infarction. *Cardiovascular Research*. 1999;42(2):284-297.
56. Restivo M, Gough W, el-Sherif N. Ventricular arrhythmias in the subacute myocardial infarction period. High-resolution activation and refractory patterns of reentrant rhythms. *Circulation Research*. 1990;66(5):1310-1327.
57. Gough W, Mehra R, Restivo M, Zeiler R, el-Sherif N. Reentrant ventricular arrhythmias in the late myocardial infarction period in the dog. 13. Correlation of activation and refractory maps. *Circulation Research*. 1985;57(3):432-442.
58. Peters N, Wit A. Myocardial Architecture and Ventricular Arrhythmogenesis. *Circulation*. 1998;97(17):1746-1754.
59. Gardner P, Ursell P, Fenoglio J, Wit A. Electrophysiologic and anatomic basis for fractionated electrograms recorded from healed myocardial infarcts. *Circulation*. 1985;72(3):596-611.
60. Dillon S, Allessie M, Ursell P, Wit A. Influences of anisotropic tissue structure on reentrant circuits in the epicardial border zone of subacute canine infarcts. *Circulation Research*. 1988;63(1):182-206.
61. Peters N, Coromilas J, Severs N, Wit A. Disturbed Connexin43 Gap Junction Distribution Correlates With the Location of Reentrant Circuits in the Epicardial Border Zone of Healing Canine Infarcts That Cause Ventricular Tachycardia. *Circulation*. 1997;95(4):988-996
62. Ciaccio E, Coromilas J, Ashikaga H, Cervantes D, Wit A, Peters N et al. Reprint of 'Model of unidirectional block formation leading to reentrant ventricular tachycardia in the infarct border zone of postinfarction canine hearts'. *Computers in Biology and Medicine*. 2015;65:256-266.
63. Chaudhry G, Haffajee C. Antiarrhythmic agents and proarrhythmia. *Critical Care Medicine*. 2000;28(Supplement):N158-N164.
64. Zipes D. *Cardiac electrophysiology*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2014:529-535
65. Borchard U, Berger F, Hafner D. Classification and action of antiarrhythmic drugs. *European Heart Journal*. 1989;10(suppl E):31-40.
66. Antzelevitch C. Electrophysiological Effects of Ranolazine, a Novel Antianginal Agent With Antiarrhythmic Properties. *Circulation*. 2004;110(8):904-910
67. Aidonidis I, Doulas K, Hatziefthimiou A, Tagarakis G, Simopoulos V, Rizos I et al. Ranolazine-Induced Postrepolarization Refractoriness Suppresses Induction of Atrial Flutter and Fibrillation in Anesthetized Rabbits. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 2012;18(1):94-101

68. Belardinelli L. Inhibition of the late sodium current as a potential cardioprotective principle: effects of the late sodium current inhibitor ranolazine. *Heart*. 2006;92(4):6-14
69. Nesterenko V, Zygmunt A, Rajamani S, Belardinelli L, Antzelevitch C. Mechanisms of atrial-selective block of Na⁺ channels by ranolazine: II. Insights from a mathematical model. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2011;301(4):H1615-H1624
70. Fredj S, Sampson K, Liu H, Kass R. Molecular basis of ranolazine block of LQT-3 mutant sodium channels: evidence for site of action. *British Journal of Pharmacology*. 2009;148(1):16-24
71. Caves R, Cheng H, Choisy S, Gadeberg H, Bryant S, Hancox J et al. Atrial-ventricular differences in rabbit cardiac voltage-gated Na⁺ currents: Basis for atrial-selective block by ranolazine. *Heart Rhythm*. 2017;14(11):1657-1664
72. Zygmunt A, Nesterenko V, Rajamani S, Hu D, Barajas-Martinez H, Belardinelli L et al. Mechanisms of atrial-selective block of Na⁺ channels by ranolazine: I. Experimental analysis of the use-dependent block. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2011;301(4):H1606-H1614
73. Burashnikov A, Belardinelli L, Antzelevitch C. Atrial-Selective Sodium Channel Block Strategy to Suppress Atrial Fibrillation: Ranolazine versus Propafenone. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2011;340(1):161-168
74. Nieminen T, Nanbu D, Datti I, Vaz G, Tavares C, Pegler J et al. Antifibrillatory effect of ranolazine during severe coronary stenosis in the intact porcine model. *Heart Rhythm*. 2011;8(4):608-614.
75. Dhalla A, Wang W, Dow J, Shryock J, Belardinelli L, Bhandari A et al. Ranolazine, an antianginal agent, markedly reduces ventricular arrhythmias induced by ischemia and ischemia-reperfusion. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2009;297(5):H1923-H1929.
76. Kloner R, Dow J, Bhandari A. The Antianginal Agent Ranolazine is a Potent Antiarrhythmic Agent that Reduces Ventricular Arrhythmias: Through a Mechanism Favoring Inhibition of Late Sodium Channel. *Cardiovascular Therapeutics*. 2010;29(4):e36-e41.
77. Szél T, Koncz I, Jost N, Baczkó I, Husti Z, Virág L et al. Class I/B antiarrhythmic property of ranolazine, a novel antianginal agent, in dog and human cardiac preparations. *European Journal of Pharmacology*. 2011;662(1-3):31-39.
78. Gettes, L.S. The electrophysiology of acute ischemia. *Cardiac Electrophysiology and Arrhythmias*, Elsevier, New York, 1991: 13–24.