



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Θέμα: «Ο ρόλος της απομακρυσμένης ισχαιμικής προετοιμασίας στην εμφάνιση μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής σε ασθενείς μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη με τη χρήση εξωσωματικής κυκλοφορίας»

Παπαδόπουλος Ελευθέριος

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- Αηδονίδης Ισαάκ: Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσιολογίας (Επιβλέπων)
- Γερμενής Αναστάσιος: Καθηγητής Ανοσολογίας
- Ασπροδίνη Ευτυχία: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φαρμακολογίας

Λάρισα, Φεβρουάριος 2016



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCE
FACULTY OF MEDICINE



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

MASTER THESIS

Title: “Remote ischemic preconditioning on the incidence of postoperative atrial fibrillation in patients undergoing on-pump CABG surgery”

by

Papadopoulos Eleftherios

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- Αηδονίδης Ισαάκ: Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσιολογίας (Επιβλέπων)
- Γερμενής Αναστάσιος: Καθηγητής Ανοσολογίας
- Ασπροδίνη Ευτυχία: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φαρμακολογίας

Larisa, February 2016

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
Ευχαριστίες	5
Περίληψη	6
Abstract	8
Εισαγωγή	10

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΚΟΛΠΙΚΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

Δομή του κοιλιακού μυός	12
Φάσεις της κοιλιακής αιμοδυναμικής λειτουργίας	12
Κοιλιακά Δυναμικά Ενέργειας	13
Δεξιού κόλπου	14
Κτενοειδούς μυός	14
Ωτίου	14
Περιοχής του δακτυλίου της τριγλώχινος βαλβίδας	14
Τελικού ακρολοφίου	14
Αριστερού κόλπου	14
Βασικές ηλεκτροφυσιολογικές παράμετροι	
Δυναμικό ηρεμίας	15
Δυναμικό Ενέργειας	15
Ουδός διέγερσης	15
Ανερέθιστος περίοδος	15
Μηχανισμοί κοιλιακής μαρμαρυγής	16

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Ο ΑΤΡ-εξαρτώμενος διάυλος K^+ (K_{ATP} channel)	18
Ο διάυλος mPTP	19
Φλεγμονώδης αντίδραση	19
Κυτταρικές μεταβολές κατά την ισχαιμία	20
Επαναιμάτωση του μυοκαρδίου	21
Το φαινόμενο της μη επαναροής (No-reflow phenomenon)	22

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Ισχαιμική προετοιμασία του μυοκαρδίου	24
Απομακρυσμένη ισχαιμική προετοιμασία	24
Προστατευτικοί μηχανισμοί απομακρυσμένης ισχαιμικής προετοιμασίας	24
Ο ρόλος του οξειδωτικού στρες κατά την ισχαιμία-επαναιμάτωση στη μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή	26
Άλλοι δείκτες μυοκαρδιακής βλάβης από ισχαιμία–επαναιμάτωση	27

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Μεθοδολογία	28
Αποτελέσματα	30
Συμπεράσματα – Συζήτηση	33
Παράρτημα 1	37
Παράρτημα 2	39
ΠΗΓΕΣ – ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	40

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή της Ιατρικής Φυσιολογίας κ. Αηδονίδη Ισαάκ, ο οποίος με υπομονή αλλά και επιμονή με καθοδήγησε σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της ερευνητικής διπλωματικής εργασίας.

Ακόμη, ευχαριστώ τον καθηγητή του εργαστηρίου Βιοχημείας του τμήματος ιατρικής του πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Λιάκο Παναγιώτη και την κ. Μπεφάνη Χριστίνα που με την άψογη συνεργασία τους συνέβαλαν στη μέτρηση του οξειδωτικού στρες, καθώς και τις κυρίες Χατζηευθυμίου Αποστολία, αναπληρώτρια καθηγήτρια Ιατρικής Φυσιολογίας, και Σταματίου Ροδόπη για την πολύτιμη βοήθειά τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Γενικά

Μια από τις πιο συχνές επιπλοκές μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη είναι η κολπική μαρμαρυγή. Στόχος της μελέτης ήταν να αναδείξει την επίδραση της απομακρυσμένης ισχαιμικής προετοιμασίας (ΑΙΠ) στην συχνότητα εμφάνισης της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής (ΚΜ) μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη.

Μεθοδολογία

Μελετήθηκαν 67 ασθενείς, 49 από αυτούς (42 άνδρες/7 γυναίκες, 65±8 ετών) υποβλήθηκαν σε δοκιμασία ΑΙΠ (3 διαδοχικοί κύκλοι διάρκειας 5 λεπτών ισχαιμίας-επαναιμάτωσης), ενώ οι υπόλοιποι 18 ασθενείς (16 άνδρες/2 γυναίκες, 63±9 ετών) δεν υποβλήθηκαν σε δοκιμασία (ομάδα ελέγχου). Προσδιορίστηκαν οι παρακάτω παράμετροι: η συνολική διάρκεια της εξωσωματικής κυκλοφορίας και ο χρόνος αποκλεισμού της αορτής, το κλάσμα εξωθήσεως της αριστερής κοιλίας, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), η κινάση της φωσφορικής κρεατίνης (CPK), βιοχημικοί δείκτες, η Τροπονίνη T (cTnT), το οξειδωτικό στρες (H₂O₂), ως επίσης και βασικές ηλεκτροκαρδιογραφικές μεταβλητές.

Αποτελέσματα

Το 24.5% (12/49) των ασθενών της ομάδας ΑΙΠ και 38.9% (7/18) της ομάδας ελέγχου εμφάνισαν ΚΜ (συχνότητα εμφάνισης ΚΜ στην ομάδα ΑΙΠ έναντι ομάδας ελέγχου, chi-square statistic, $p=0.25$, not significant-NS). Η διαφορά στο χρόνο αποκλεισμού της αορτής μεταξύ των δύο ομάδων (63.7±25.2 min και 68.6±18.6 min, ομάδα ελέγχου και ΑΙΠ αντίστοιχα, $p=NS$) δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Το οξειδωτικό στρες στην ομάδα εφαρμογής ΑΙΠ όπως και στην ομάδα ελέγχου ήταν σημαντικά αυξημένο (25.5±19.9 μM/L έναντι 8.8±6 μM/L και 39±15.5 μM/L έναντι 8.5±5.1 μM/L μετά την ισχαιμία έναντι πριν την ισχαιμία, $p<0.001$). Οι τιμές του H₂O₂ ήταν σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα ελέγχου σε σύγκριση με την ομάδα ΑΙΠ (ΑΙΠ έναντι ομάδα ελέγχου, $p=0.038$). Η τιμή της cTnT 18-24 ώρες μετεγχειρητικά ήταν αυξημένη στην ομάδα ελέγχου έναντι εκείνης με ΑΙΠ (524.3±212.7 έναντι 447.5.3±350.9 ng/L, $p=0.031$), ενώ μετά από 48-72 ώρες η διαφορά ήταν 420±293 έναντι 254.8±240.6 ng/L ($p=0.021$). Οι τιμές της CRP και στις δύο ομάδες κυμάνθηκαν σε φυσιολογικά επίπεδα (0.32-0.46 mg/dl) και δε συσχετίστηκαν με τη συχνότητα εμφάνισης ΚΜ. Οι τιμές της ουρίας στην ομάδα ΑΙΠ ήταν σημαντικά χαμηλότερες από την ομάδα ελέγχου (38.3±19.8 vs 46.9±23.9

mg/dl, $p=0.006$). Η διάρκεια του κύματος P στους ασθενείς της ομάδας εφαρμογής της ΑΙΠ που εμφάνισαν ΚΜ ήταν μεγαλύτερη από τη διάρκεια αυτών που δεν την εμφάνισαν (91 ± 6 ms και 79 ± 2 ms, με ΚΜ και χωρίς ΚΜ αντίστοιχα, $p=0.021$).

Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν μία στατιστικά σημαντική μείωση του οξειδωτικού στρες και της τροπονίνης Τ σε μετεγχειρητικούς ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ΑΙΠ. Σε αυτούς τους ασθενείς παρατηρήθηκε ελάττωση των επεισοδίων ΚΜ κατά 14,4% συγκριτικά με εκείνους χωρίς ΑΙΠ. Τα ποσοστά ΚΜ σε ασθενείς μετά από ΑΙΠ (24.5%) αντιστοιχούν στα κατώτερα ποσοστά των ασθενών που εμφάνισαν ΚΜ χωρίς προετοιμασία και τα οποία κυμαίνονται από 25-45% σε πολυκεντρικές μελέτες.

ABSTRACT

Background

Atrial fibrillation is the most common arrhythmia complicating CABG surgery. The present study aims to highlight the effects of remote ischemic preconditioning (Remote Ischemic PreConditioning - RIPC) on the incidence of postoperative atrial fibrillation (POAF) after CABG.

Methods

A total of 67 pts were enrolled, 18 pts (16 m/2 f, 63±9 years) were not preconditioned and served as control group, while 49 pts (42 m/7 f, 65±8 years) were subjected to RIPC. Primary endpoint was the incidence of POAF. Secondary endpoints included, 1) oxidative stress assessed by hydrogen peroxide (H₂O₂) plasma concentrations, 2) cardiac troponin T (cTnT) , and 3) CRP plasma levels. P-wave duration (PWD) in all RIPC pts was also determined as a variable of atrial conduction. Measured values are expressed as mean±SD.

Results

From the 49 RIPC pts 24.5% (12/49) developed POAF whereas 38.9% (7/18) pts belonging to the control Group revealed this arrhythmia (RIPC group vs control group, chi-square statistic, $p=0.25$, not significant-NS). Mean ACC times amounted to 68.6±18.6 vs 63.7±25.2 min (RIPC vs control group, $P=NS$). Oxidative stress in RIPC and control pts was significantly increased in both Groups (25.5±19.9 vs 8.8±6 $\mu\text{M/L}$ and 39±15.5 vs 8.5±5.1 $\mu\text{M/L}$, ACC-produced ischemia vs pre-ischemia values, $P<.001$). However, H₂O₂ levels were significantly higher in the control Group compared to RIPC pts ($P=.038$). cTnT 18-24 h postoperatively reached values of 447.5.3±350.9 vs 524.3±212.7 ng/L (RIPC vs control pts, $P=.031$), while 48-72 h later 254.8 ± 240.6 vs 420±293 ng/L (RIPC vs control pts, $P=.021$). CRP mean values ranged within normal limits in both Groups of pts (0.32-0.46 mg/dl). There was found no significant correlation between CRP levels and POAF ($P=NS$). Urea in RIPC pts was significantly lower than in control pts (38.3±19.8 vs 46.9±23.9 mg/dl, $P=.006$). PWD was 91±6 and 79±2 msec in RIPC pts with POAF and without POAF, respectively ($p=0.021$).

Conclusion

The results indicate a statistically significant reduction in oxidative stress and cTnT in RIPC patients. This group showed a markedly lower incidence of POAF compared to control group.

The mean percentage of POAF in RIPC patients (24.5%) corresponded to the lower limit of patients not receiving RIPC, as reported by multicenter trials revealing rates of POAF ranging between 25-45%.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από το 1986, όταν ο Murry και οι συνεργάτες του εφήρμοσαν την τεχνική της ισχαιμικής προετοιμασίας σε καρδιές σκύλων, έχουν γίνει πολλές έρευνες από την ιατρική επιστημονική κοινότητα τόσο για τον τρόπο εφαρμογής της ισχαιμικής προετοιμασίας στον άνθρωπο όσο και για τα οφέλη της.

Η απομακρυσμένη ισχαιμική προετοιμασία αναφέρεται στο γεγονός όπου η ισχαιμία προεγχειρητικά δεν εφαρμόζεται άμεσα στο ίδιο το όργανο αλλά σε άλλο, όπου με διάφορους μηχανισμούς παρέχει προστασία στο όργανο-στόχο (γίνεται ειδική αναφορά στο ειδικό μέρος). Σήμερα εφαρμόζεται και για την προστασία άλλων οργάνων πέραν της καρδιάς, όπως των πνευμόνων, των νεφρών, του ήπατος, του γαστρεντερικού συστήματος και του εγκεφάλου. Είναι μια αναίμακτη μέθοδος εύκολη σε εφαρμογή με τη χρήση περιχειρίδας στα άνω ή κάτω άκρα, όπου ο ασθενής υποβάλλεται προεγχειρητικά σε διαδοχικούς κύκλους ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Αν και πολλές μελέτες έχουν δείξει με τη μετεγχειρητική μέτρηση βιοδεικτών ότι μετά από καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις ο ασθενής έχει όφελος [1,2,3], ωστόσο κάποιες δεν επιβεβαιώνουν τα οφέλη αυτά [4,5]. Η συντριπτική πλειοψηφία όμως των ερευνών αναγνωρίζει τη θετική της επίδραση διεγχειρητικά και μετεγχειρητικά, μειώνοντας τις μετεγχειρητικές επιπλοκές, το μέγεθος της μυοκαρδιακής βλάβης επαναιμάτωσης, την αναδιαμόρφωση, και τη θνησιμότητα.

Στην καρδιοχειρουργική, η συχνότερη μετεγχειρητική επιπλοκή είναι η κολπική μαρμαρυγή. Το γεγονός αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την παρατεταμένη διαμονή των ασθενών στη μονάδα εντατικής θεραπείας και την κλινική του νοσοκομείου όπου νοσηλεύονται, τον αυξημένο κίνδυνο εμφράγματος, εγκεφαλικών επεισοδίων, οξεία καρδιακή και νεφρική ανεπάρκεια μετά την επέμβαση αλλά και τον αιφνίδιο θάνατο.

Σήμερα, πλήθος ερευνητών εργάζονται προς την κατεύθυνση της κατανόησης των μηχανισμών της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής [6,7]. Παρά ταύτα ο μηχανισμός πρόκλησης της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής παραμένει υποθετικός και πολυπαραγοντικός. Συγκεκριμένα, σε ασθενείς μετά από bypass, σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών (οξειδωτικό στρες) σε συνδυασμό με την αύξηση του ενδοκυττάρου Ca^{++} μετά την επαναιμάτωση του μυοκαρδίου.

Μυοκαρδιακά κύτταρα τα οποία βρίσκονται περιφερικά της ισχαιμικής ζώνης θα υποστούν αποπτωτικό θάνατο μετά την επαναιμάτωση. Σε άλλα κύτταρα θα αυξηθεί η συγκέντρωση Ca^{++} και θα προκαλέσει αρρυθμίες «εκ πυροδοτήσεως» μέσω Ca^{++} -εξαρτώμενων

μεταδυναμικών. Το οξειδωτικό στρες θα αυξήσει το όψιμο ρεύμα Na^+ (I_{NaL}) προκαλώντας περαιτέρω αύξηση του Ca^{++} και αρρυθμίες. Μία από τις πρόσφατες κλινικές μελέτες μας έδειξε ότι η χορήγηση ρανολαζίνης (αναστολέας του I_{NaL}) μείωσε σημαντικά την εμφάνιση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής σε ασθενείς μετά από bypass, επιβεβαιώνοντας εν μέρει τον ρόλο του I_{NaL} στην πρόληψη της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής (Tagarakis et al [8,9]). Επίσης, οι ψηλές τιμές τροπονίνης T μετά από bypass τις πρώτες 3 μέρες καταδεικνύουν την βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Η μεγάλη αύξηση Ca^{++} σε κύτταρα που βρίσκονται μεταξύ ζωής και θανάτου από την ισχαιμία αλλά και το φαινόμενο μη επαναρροής (no-reflow phenomenon) μετά την διενέργεια της επαναιμάτωσης είναι οι κύριες αιτίες της βλάβης επαναιμάτωσης, των καρδιακών αρρυθμιών και του απόπληκτου μυοκαρδίου.

Βασικός στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί κατά πόσο μία απλή, μη επεμβατική, μη φαρμακευτική διαδικασία όπως είναι η απομακρυσμένη ισχαιμική προετοιμασία μπορεί να μειώσει το οξειδωτικό στρες και την τροπονίνη T σε ασθενείς μετά από bypass, βελτιώνοντας την κλινική έκβαση των ασθενών κυρίως όσον αφορά την εμφάνιση της μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΚΟΛΠΙΚΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

Δομή του κοιλιακού μυός

Το τοίχωμα των κόλπων είναι λεπτότερο από αυτό των κοιλιών. Κάποιες από τις κοιλιακές αρρυθμίες έχουν συνδεθεί με τη δομή του δεξιού κόλπου και τα ανατομικά του στοιχεία, όπως το τελικό ακρολοφίο που διαχωρίζει το φλεβικό μέρος του κόλπου από το ωτίο του δεξιού κόλπου. Είναι μια μυϊκή λωρίδα σε σχήμα C ανάμεσα στο λείο μυϊκό τοίχωμα του φλεβικού μέρους και του τραχέως τοιχώματος του ωτίου. Θεωρείται η πιο συχνή πηγή αρρυθμογένεσης, ακολουθούμενη από τον στεφανιαίο κόλπο, την περιοχή του δεματίου του His και σπανίως η περιοχή περιμετρικά της τριγλώχινας βαλβίδας.

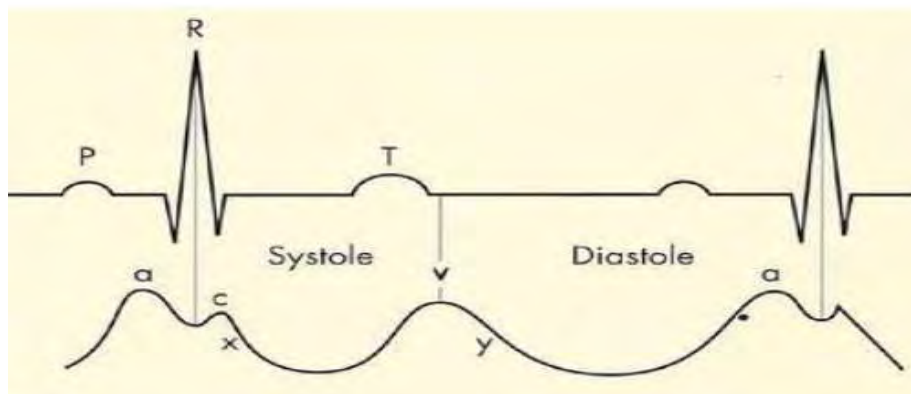
Οι ίνες του μυοκαρδίου των κόλπων αποτελούν συνέχεια των ινών του φλεβόκομβου κατά τέτοιο τρόπο, ώστε το οποιοδήποτε δυναμικό δράσης που εμφανίζεται στο φλεβόκομβο να διαδίδεται αμέσως προς το μυοκάρδιο των κόλπων.

Χαρακτηριστικό του φλεβόκομβου είναι ότι αποτελείται από συνεκτικό ιστό, κυρίως κολλαγόνο και ινοβλάστες, το ποσοστό του οποίου διαφέρει ανάλογα με το είδος του οργανισμού. Στο κέντρο του φλεβόκομβου τα κύτταρα έχουν πολύ φτωχή οργάνωση, με διάμετρο 5-10 μm . Στον άνθρωπο, τα κεντρικά φλεβοκομβικά κύτταρα είναι κύτταρα τύπου P και αποτελούν το κέντρο ενεργοποίησης του φλεβόκομβου. Από το κέντρο προς την περιφέρεια του φλεβόκομβου τα κύτταρα γίνονται πιο οργανωμένα, και το σχήμα και η διάταξή τους γίνεται περισσότερο κανονική. Μπορούν να βρεθούν όλα τα στάδια της μετάβασης, με κύτταρα να είναι καθαρά φλεβοκομβικά έως και κύτταρα καθαρά κοιλιακά ή μικτές μορφές με μεγαλύτερη εκπολωτική συχνότητα από εκείνη του κέντρου του φλεβόκομβου.

Φάσεις της κοιλιακής αιμοδυναμικής λειτουργίας

Αν και σε φυσιολογικά άτομα η κοιλιακή συστολή έχει μικρή μόνο συμβολή στην πλήρωση των κοιλιών, η αποτελεσματικότητά της φαίνεται σε περιπτώσεις ταχυκαρδίας, όπου η διάρκεια της παθητικής πλήρωσης είναι πολύ μικρή. Και σε στενωτικές βλάβες των κοιλιοκοιλιακών βαλβίδων, η αυξημένη αντίσταση που προβάλλεται κατά την πλήρωση των κοιλιών με αίμα υπερνικάται με τη σύσπαση των κόλπων. Η φυσιολογική κυματομορφή της αιμοδυναμικής του κόλπου περιλαμβάνει πέντε επάρματα, τρία θετικά (a, c, v) και δύο αρνητικά (x, y). Το κύμα a,

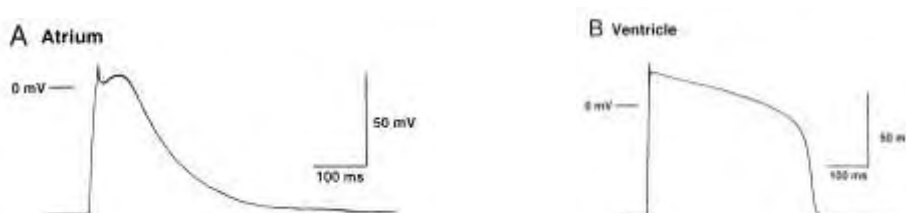
αποτέλεσμα της κοιλιακής σύσπασης, εμφανίζεται αμέσως μετά το κύμα P του καρδιογραφήματος. Με τη σύγκλιση της τριγλώχινας βαλβίδας και την έναρξη της ισοογκικής κοιλιακής συστολής δημιουργείται το κύμα c αμέσως μετά το έπαρμα R στο καρδιογράφημα. Στο διάστημα RT, μετά το κύμα c δημιουργείται το αρνητικό κύμα x από την μετασυστολική κοιλιακή χάλαση. Το κύμα v αντιστοιχεί στην φλεβική πλήρωση των κόλπων κατά το τέλος της κοιλιακής συστολής, ενώ η τριγλώχινα βαλβίδα παραμένει κλειστή. Ακολουθεί το αρνητικό κύμα y από την ταχεία εκκένωση του δεξιού κόλπου μετά τη διάνοιξη της τριγλώχινας βαλβίδας και λαμβάνει χώρο από το τέλος του επάρματος T έως την αρχή του P (Εικόνα 1).



Εικόνα 1 (journals.lww.com/em-news/blog/spontaneouscirculation/pages/post.aspx?PostID=7)

Κολπικά Δυναμικά Ενέργειας

Τα κολπικά δυναμικά ενέργειας είναι παρόμοια με αυτά των κοιλιών. Χαρακτηρίζονται από την ταχεία φάση εκπόλωσης με την αθρόα είσοδο ιόντων νατρίου, τη σημαντικά μικρότερη διάρκεια της φάσης 2 (plateau) εξαιτίας της μειωμένης ποσότητας ιόντων ασβεστίου που εισέρχεται στο κύτταρο, ενώ η μακρύτερης διάρκειας επαναπόλωση (φάση 3) υποδεικνύει την ύπαρξη μικρότερης έντασης επαναπολωτικών ρευμάτων (Εικόνα 2).



Εικόνα 2

Shin-Ichi Koumi et al., Circulation, 1995;92:164-174. Copyright © American Heart Association, Inc. All rights reserved

Οι διαφορές των δυναμικών ενέργειας και των ιοντικών ρευμάτων των διαφόρων περιοχών των κόλπων θα μπορούσε να συμβάλλει σημαντικά στην πρόκληση κολπικής μαρμαρυγής. Τα επαναπολωτικά ρεύματα, ωστόσο, δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των περιοχών των δύο κόλπων.

Δεξιού κόλπου

Ο μυς του δεξιού κόλπου δύναται να άγει τα ηλεκτρικά ερεθίσματα προς τον αριστερό μέσω του μυός της κοιλότητας εκβολής των στεφανιαίων αγγείων (coronary sinus).

Κτενοειδούς μυός

Η διάρκεια του δυναμικού ενέργειας του κτενοειδούς μυός είναι ενδιάμεσης διάρκειας σε σχέση με άλλες περιοχές των κόλπων (180 – 190 ms).

Ωτίου

Έχει μέσης διάρκειας δυναμικό, όπως και ο κτενοειδής μυς. Τα δυναμικά του ωτίου έχουν μικρή διάρκεια της φάσης 1, καθώς το εκπολωτικό ρεύμα νατρίου είναι σημαντικά μικρότερο.

Περιοχής του δακτυλίου της τριγλώχινας βαλβίδας

Έχουν τη μικρότερη διάρκεια (160 ms) και την μικρότερη τιμή ρεύματος ασβεστίου.

Τελικού ακρολοφίου

Η περιοχή του τελικού ακρολοφίου δύναται να παράγει τα δικά της δυναμικά ενέργειας με αυθόρμητες εκπολώσεις κατά τη φάση 4. Η διάρκεια του δυναμικού της είναι η μεγαλύτερη από όλες της περιοχές των κόλπων (270 ms) λόγω του υψηλότερου ρεύματος ασβεστίου και αποτελεί συχνή εστία κολπικής αρρυθμογένεσης [10].

Αριστερού κόλπου

Το οπίσθιο τοίχωμα του αριστερού κόλπου, που βρίσκεται πλησίον των εκβολών των πνευμονικών φλεβών, αποτελεί μια αρρυθμογενή περιοχή συμβάλλοντας στην εμφάνιση της κολπικής μαρμαρυγής.

Ο βαθμός εκπόλωσης κατά τη φάση 0 καθώς και η διάρκεια του δυναμικού ενέργειας, είναι μεγαλύτερα στην περιοχή των πνευμονικών φλεβών απ'ότι στη μέση και κατώτερη περιοχή του κόλπου, ενώ στο δυναμικό ηρεμίας δεν παρατηρούνται διαφορές. Η διάρκεια του δυναμικού ενέργειας στο πλάγιο τοίχωμα του αριστερού κόλπου είναι μικρότερη από αυτή κεντρικά του

οπισθίου τοιχώματος και πιθανόν η κλίση αυτή να εξυπηρετεί την ενδοκολπική μετάδοση του ερεθίσματος [11].

Η τρωτή φάση του αριστερού κόλπου, όπου μπορεί να υπάρξει νέα εκπόλωση, είναι μεγαλύτερη από αυτή του δεξιού, που ερμηνεύεται ως μηχανισμός προστασίας έναντι των κολπικών αρρυθμιών. Το δυναμικό ενέργειας του αριστερού κόλπου μπορεί να καταγραφεί και από τον στεφανιαίο κόλπο.

Βασικές ηλεκτροφυσιολογικές παράμετροι

Δυναμικό ηρεμίας

Η πόλωση που δημιουργείται από τη διαφορά συγκέντρωσης ιόντων εκατέρωθεν της κυτταρικής μεμβράνης ονομάζεται δυναμικό ηρεμίας και είναι χαρακτηριστικό για κάθε είδος κυττάρου.

Δυναμικό Ενέργειας

Η πρόκληση αντίδρασης σε ένα διεγέρσιμο κύτταρο με μεταβολή του μεμβρανικού δυναμικού οδηγεί στο δυναμικό ενέργειας. Διακρίνουμε τη φάση εκπόλωσης κατά την αρχή του με την αθρόα είσοδο ιόντων νατρίου και τη φάση επαναπόλωσης στο τέλος του δυναμικού με την είσοδο ιόντων καλίου και την απομάκρυνση των ιόντων νατρίου.

Ουδός διέγερσης

Ονομάζεται η ελάχιστη τιμή της έντασης του ρεύματος η οποία μπορεί να ανοίξει τον αναγκαίο αριθμό διαύλων Na^+ και να προκαλέσει εκπόλωση. Υποουδικά ερεθίσματα δεν δύνανται να εκπολώσουν το κύτταρο, παρά μόνο να προκαλέσουν τοπικές εκπολώσεις οι οποίες δεν έχουν την ικανότητα μετάδοσης.

Ανερέθιστος περίοδος

Κατά την απόλυτη ανερέθιστη περίοδο (absolute refractory period), κανένα ερέθισμα οποιασδήποτε ισχύος δεν μπορεί να εκπολώσει το κύτταρο. Στην ακόλουθη δραστική ανερέθιστη περίοδο (effective refractory period), το ερέθισμα μπορεί να προκαλέσει τοπική εκπόλωση με φθίνουσα αγωγιμότητα, μία από τις βασικές συνθήκες του μηχανισμού αρρυθμογένεσης από επανείσοδο (Reentry). Κατά την σχετική ανερέθιστη περίοδο (relative refractory period) η εκπόλωση μπορεί να μεταδοθεί, με ταχύτητα όμως μικρότερη της φυσιολογικής, όταν το ερέθισμα πέσει μετά το τέλος της επαναπόλωσης.

Μηχανισμοί κολπικής μαρμαρυγής

Εξ ορισμού στην κολπική μαρμαρυγή κυριαρχεί η χαώδης κολπική ηλεκτρική δραστηριότητα χωρίς να υπάρχει αιμοδυναμική λειτουργία των κόλπων. Το σύμπλεγμα QRS παραμένει φυσιολογικό με άνισα όλα τα διαστήματα R-R (απόλυτος αρρυθμία).

Συνήθη αίτια κολπικής μαρμαρυγής είναι οι βαλβιδοπάθειες, η στεφανιαία νόσος, η αρτηριακή υπέρταση, ο υπερθυρεοειδισμός και η καρδιακή ανεπάρκεια.

Η κολπική μαρμαρυγή διακρίνεται σε πρωτοεμφανιζόμενη, επαναλαμβανόμενη (αν έχει διαγνωστεί και παλαιότερα), παροξυσμική (όταν τερματίζεται αυθόρμητα σε διάστημα <48 ωρών), σε εμμένουσα (όταν απαιτείται φαρμακευτική αγωγή ή ηλεκτρική ανάταξη για τον τερματισμό της) και σε μόνιμη, όπου η διάρκειά της είναι πάνω από ένα έτος και δεν ενδείκνυται η ανάταξή της.

Η κολπική μαρμαρυγή ανατάσσεται με φάρμακα ή ηλεκτρικά μέσω καρδιοανάταξης. Ως πρόληψη της κολπικής μαρμαρυγής προτείνεται η κατάλυση με υψίσυχο ρεύμα ή τελευταία ως εναλλακτική λύση η κρυοκατάλυση μέσω ειδικών καθετήρων σε εξειδικευμένα κέντρα.

Οι μηχανισμοί πρόκλησης της κολπικής μαρμαρυγής αλλά και της διάρκειάς της ποικίλλουν ανάλογα με το αίτιο. Ένας μηχανισμός πρόκλησης έκτοπης διέγερσης μπορεί να ξεκινά από εστίες ταχείας εκπόλωσης εντός των κόλπων (ανώμαλος αυτοματισμός). Ο αυξημένος συμπαθητικός τόνος προάγει τον ανώμαλο αυτοματισμό και την ταχύτητα εκπόλωσης έκτοπων υπερκοιλιακών κέντρων, ενώ ο αυξημένος τόνος του παρασυμπαθητικού μπορεί να προκαλέσει κολπική μαρμαρυγή βραχύνοντας τη διάρκεια της επαναπόλωσης και της ανερεθίστου περιόδου μέσω της αύξησης του ρεύματος καλίου από διαύλους οι οποίοι εξαρτώνται από την ακετυλοχολίνη (IK_{Ach}).

Ένας άλλος μηχανισμός υπεύθυνος για την πρόκληση αρρυθμιών είναι η πυροδοτούμενη δραστηριότητα (μηχανισμός μη-επανεϊσόδου), κατά την οποία τα κύτταρα εκπολώνονται στη διάρκεια της επαναπόλωσης. Η πρώιμη εκπόλωση των κυττάρων αυτών οφείλεται στην ύπαρξη ουδικών μεταδυναμικών των οποίων ο μηχανισμός αποδίδεται σε τασεοεξαρτώμενα ρεύματα Na^+ και Ca^{++} .

Οι αρρυθμίες από ανατομική επανείσοδο (anatomic reentry), προϋποθέτουν την ύπαρξη ορθόδρομου αποκλεισμού της αγωγιμότητας, αντίδρομη καθυστέρηση αγωγιμότητας και διεγέρσιμου χάσματος (η ανερέθιστη περίοδος είναι μικρότερη του ανατομικού μήκους του κυκλώματος). Το ερέθισμα διαδίδεται από άλλη παράλληλη οδό, περνά παλίνδρομα μέσα από την περιοχή και διεγείρει εκ νέου το κύτταρο, επαναλαμβάνοντας συνεχώς τον ίδιο κύκλο. Αν η διάρκεια της απόλυτης ανερεθίστου περιόδου αυξηθεί, το χάσμα αυτό βραχύνεται και επομένως η διεγερσιμότητα μειώνεται (δράση αντιαρρυθμικών φαρμάκων). Επίσης, ο μηχανισμός

επανεισόδου μπορεί να ανασταλεί με φάρμακα τα οποία μειώνουν περαιτέρω την αντίδρομη αγωγιμότητα και την καταστέλλουν (ανταγωνιστές των διαύλων Na^+).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Ο ATP–εξαρτώμενος διάυλος K^+ (K_{ATP} channel)

Ο μιτοχονδριακός ATP–ευαίσθητος διάυλος Καλίου (mK_{ATP} channel) εντοπίζεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και ανακαλύφθηκε το 1991 [12]. Για τη μοριακή του δομή γνωρίζουμε μόνο ότι είναι τετραμερές, αποτελούμενο από τέσσερις πρωτεΐνες επονομαζόμενες $K_{ir}6.1$ και $K_{ir}6.2$ της οικογενείας διαύλων υπεύθυνη για την επαναπρόσληψη ιόντων K^+ (inward rectifier potassium channel family).

Κατά τη διάρκεια της υποξίας, με τις χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου μέσα στο κύτταρο μειώνεται ο μεταβολισμός στα μιτοχόνδρια, μειώνοντας την οξειδωση των λιπαρών οξέων και την παραγωγή ενέργειας (ATP, τριφωσφορική αδενοσίνη – adenosin triphosphate). Καθώς ο διάυλος δεν μπορεί να λειτουργήσει σωστά αφού εξαρτάται άμεσα από το ATP, προοδευτικά διαταράσσεται η ομοιοστασία ιόντων και πρωτεϊνών προκαλώντας οίδημα, ρήξη μιτοχονδρίων και συσσώρευση Ca^{++} και K^+ ενδοκυτταρικά. Το αυξημένο ασβέστιο προκαλεί με τη σειρά του μεταδυναμικά. Τα καρδιακά κύτταρα τείνουν να γίνουν λιγότερο διεγέρσιμα, επιβραδύνοντας ή ακόμη και αποκλείοντας την αγωγή των ηλεκτρικών ερεθισμάτων.

Πέραν του μιτοχονδριακού διαύλου διακρίνουμε ακόμη τον σαρκοπλασματικό ($sarcK_{ATP}$) και τον πυρηνικό ($nucK_{ATP}$) ATP-εξαρτώμενο διάυλο καλίου. Αυτοί είναι οκταμερείς, αποτελούμενοι από 4 διαμεμβρανικές πρωτεϊνικές υπομονάδες $K_{ir}6.1$ ή $K_{ir}6.2$, που σχηματίζουν τον πόρο του διαύλου και 4 υποδοχείς σουλφονυλουρίας (sulfonylurea receptors) SUR1, SUR2A και SUR2B. Κάθε υποδοχέας είναι ευαίσθητος στη σουλφονυλουρία, προκαλώντας τη διάνοιξή του και παρουσιάζει 3 διαμεμβρανικά τμήματα με δύο θέσεις δέσμευσης νουκλεοτιδίων στην κυτταροπλασματική του πλευρά ως ανιχνευτές της μεταβολικής κατάστασης, ρυθμίζοντας με τον τρόπο αυτό τη λειτουργία του διαύλου υπό οποιοσδήποτε συνθήκες.

Ο διάυλος mPTP

Ο διάυλος μετάπτωσης της μιτοχονδριακής διαπερατότητας (mitochondrial permeability transition pore – mPTP) ανακαλύφθηκε το 1979 από τους Haworth και Hunter. Εντοπίζεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και είναι ένας μη ειδικός διάυλος, διαπερατός από πρωτεΐνες μεγάλου μοριακού βάρους και ιόντα.

Αν και δεν έχει μελετηθεί πολύ καλά, η αρχική υπόθεση πως αποτελείται από μόρια VDAC (Voltage Dependent Anion Channel) και ANT (Adenine Nucleotide Translocase) διαψεύστηκε πειραματικά [13,14,15,16]. Σήμερα, τα μόνα αποδεδειγμένα στοιχεία του διαύλου είναι η κυκλοφιλίνη D (Cyc-D ή Cyclophilin D) [17] και ο TSPO (Translocator protein, γνωστός και ως περιφερικός υποδοχέας βενζοδιαζεπίνης) [18].

Έρευνες έχουν δείξει πως ο διάυλος παραμένει κλειστός κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας, ανοίγει όμως με την έναρξη της επαναιμάτωσης [19]. Επίσης, ενεργοποιείται (ανοίγει) σε περίπτωση μείωσης των ενεργειακών αποθεμάτων, οξειδωτικού stress του κυττάρου (δημιουργία ελεύθερων δραστικών ριζών - ROS) ή σε συσσώρευση ιόντων ασβεστίου κυτταροπλασματικά [20], με αποτέλεσμα την παρατεταμένη διάρκεια εκπόλωσης της μεμβράνης των μιτοχονδρίων και απώλεια του μιτοχονδριακού μεμβρανικού δυναμικού [21,22]. Ιόντα και μοριακές ενώσεις διέρχονται ανεξέλεγκτα μέσα και έξω από τα μιτοχόνδρια, σταματά η παραγωγή ATP, δημιουργούνται εκ νέου ROS, παρατηρείται συσσώρευση ασβεστίου και καλίου κυτταροπλασματικά και προκαλείται απώλεια κυτοχρώματος c με τελικό αποτέλεσμα την απόπτωση.

Η καταστολή του διαύλου mPTP, διατηρώντας δηλαδή τον διάυλο κλειστό, παρέχει προστασία ενάντια στη βλάβη από επαναιμάτωση μετά από ισχαιμία. Η Cyclosporin A (CsA) και Sanglifehrin A (SfA) επιρεάζουν άμεσα τη λειτουργία του διαύλου διατηρώντας τον κλειστό [23], ενώ έμμεσα μπορεί να επιτευχθεί με μείωση των επιπέδων ασβεστίου, των ROS και του pH (propofol, αντλία Na^+/H^+ , AΠΠ - απομακρυσμένη ισχαιμική προετοιμασία).

Φλεγμονώδης αντίδραση

Κατά την ισχαιμία, ο οργανισμός με μια σειρά διαδικασιών, την φλεγμονώδη αντίδραση, προσπαθεί να ισορροπίσει τις βλάβες που προκαλούνται. Η αρχική προσκόλληση λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο, σε συνάρτηση με την αυξημένη διαπερατότητά του, επιτρέπουν την είσοδο των μακροφάγων στο εσωτερικό των αγγείων. Τα μακροφάγα με τη σειρά τους, εκλύοντας αγγειοτενσίνη II και κυτταροκίνες όπως TNF α και Interleukin 1 β , συμβάλλουν στη δημιουργία ελευθέρων ριζών, διεγείρουν ινοβλάστες να παράξουν ινώδη ιστό και οδηγούν το κύτταρο σε απόπτωση. Τα αιμοπετάλια απελευθερώνουν αυξητικούς

παράγοντες, επιτείνοντας την όλη κατάσταση. Η ενδοθηλίνη-1 που εκκρίνεται από τα κύτταρα του ισχαιμικού ενδοθηλίου προκαλεί αγγειοσπασση, αυξάνει τη διάρκεια του ηλεκτρικού δυναμικού στις κοιλίες, βραχύνει το ηλεκτρικό δυναμικό στους κόλπους και καθιστά την καρδιά ευάλωτη στην εμφάνιση αρρυθμιών. Η απελευθέρωση NO (nitric oxide – νιτρικό οξείδιο) από τα ίδια κύτταρα προκαλεί αγγειοδιαστολή, αναστέλλει την προσκόλληση αιμοπεταλίων και συμβάλλει έτσι στην αποφυγή απόφραξης μικρών αρτηριδίων. Τέλος, η παραγόμενη αδενοσίνη ενεργοποιεί τους ενδοθηλιακούς K_{ATP} διαύλους και διεγείρει την παραγωγή του NO.

Κυτταρικές μεταβολές κατά την ισχαιμία

Κατά την αναστρέψιμη φάση της ισχαιμίας, για το μέγεθος της κυτταρικής βλάβης σημαντικό ρόλο έχει όχι μόνο η διάρκεια και ο βαθμός της υποξίας αλλά και οι απαιτήσεις του κύτταρου σε οξυγόνο. Στα κύτταρα που χρησιμοποιούν κυρίως λίπη για την παραγωγή ενέργειας, καλύπτοντας έτσι τις ανάγκες τους όπως η καρδιά, διαταράσσεται ο οξειδωτικός καταβολισμός των λιπαρών οξέων.

Η αμυντικής φύσεως βραχυπρόθεσμη προσαρμογή έχει ως στόχο την δημιουργία μιας νέας ισορροπίας μεταξύ ζήτησης και προσφοράς οξυγόνου και επιτυγχάνεται με τη μείωση της συσταλτικότητας και την αύξηση της αναερόβιας γλυκόλυσης.

Η δημιουργηθείσα υποξία φέρεται ως υπεύθυνη για μια σειρά κυτταρικών σημάτων και διεργασιών, ενεργοποιώντας όχι μόνο ανενεργούς προστατευτικούς μηχανισμούς αλλά και τον γενετικό επαναπρογραμματισμό (απόπτωση ή νέκρωση) για να εξασφαλίσει την επιβίωση του ιστού. Η μειωμένη παροχή οξυγόνου μειώνει δραστικά την παραγόμενη ενέργεια σε μορφή ATP, ενώ το κύτταρο καταναλώνει αφενός τα αποθέματά του και ελαττώνει αφετέρου την επανασύνθεσή του. Βέβαια, η περιορισμένη προσφορά σε ATP δεν οφείλεται μόνο στην έλλειψη οξυγόνου. Με την ισχαιμία ενεργοποιούνται και μεταβολικά μονοπάτια που καταναλώνουν ενέργεια χωρίς να ωφελείται το ισχαιμικό μυοκάρδιο.

Το ισοζύγιο του ασβεστίου διατηρείται με τους εξής τρόπους: α) ενεργή μεταφορά μέσω ATP-εξαρτώμενου διαύλου β) με την αντλία Na^+/Ca^{++} και τη διαφορά συγκέντρωσης εκατέρωθεν της μεμβράνης γ) αποθήκευση ασβεστίου στο ενδοπλασματικό δίκτυο με κατανάλωση ATP και δ) πρόσληψη ασβεστίου από τα μιτοχόνδρια με την αντλία SERCA (Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca^{++} -ATPase). Με την απώλεια ενέργειας κατά την ισχαιμία, απενεργοποιούνται οι τρεις από τους τέσσερεις μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την ομοιοστασία του ασβεστίου. Ως αποτέλεσμα, ασβέστιο εισέρχεται στο κύτταρο που αρχικά αποθηκεύεται στα μιτοχόνδρια. Η αύξηση του ασβεστίου ενεργοποιεί μεμβρανικές φωσφολιπάσες και πρωτεϊνικές κινάσες που βλάπτουν τη δομή των μεμβρανών του κυττάρου.

Η καταστροφή των μιτοχονδριακών μεμβρανών επιφέρει επιπλέον συσσώρευση ασβεστίου ενδοκυτταρικά και προκαλείται βλάβη των συστατικών πρωτεϊνών.

Διαταραχές στην αντλία Na^+/K^+ επιφέρει αύξηση Na^+ ενδοκυτταρικά προκαλώντας οίδημα [24]. Παράλληλα, η μείωση του pH βλάπτει τα μιτοχόνδρια, ενώ το γαλακτικό οξύ αυξάνει τη βλάβη που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες. Με την επερχόμενη οξέωση, εισέρχονται στο κύτταρο ακόμη περισσότερα ιόντα νατρίου σε ανταλλαγή με ιόντα υδρογόνου μέσω της αντλίας Na^+/H^+ , αυξάνοντας τον κίνδυνο μιτοχονδριακής βλάβης και ρήξης του κυττάρου λόγω της αυξανόμενης ενδοκυτταρικής οσμωτικής πίεσης.

Κατά την ισχαιμία παρατηρείται ακόμη απώλεια ιόντων καλίου προς τον εξωκυττάριο χώρο μέσω της αντλίας Na^+/K^+ αλλά και ένεκα του καταβολισμού του ATP σε αδενοσίνη (ενεργοποίηση των K_{ATP} διαύλων). Μέσω αυτού του μηχανισμού βραχύνεται το δυναμικό ενέργειας και μειώνεται το ρεύμα Ca^{++} (προστατευτικός μηχανισμός ΑΠΠ).

Επαναιμάτωση του μυοκαρδίου

Η βλάβη επαναιμάτωσης εξαρτάται κυρίως από τη διάρκεια της προηγηθείσης ισχαιμίας. Όταν η διάρκεια της ισχαιμίας είναι μικρότερη των 20 λεπτών, τότε η επαναιμάτωση δεν προκαλεί πρόσθετη μυοκαρδιακή βλάβη. Μετά τα 20 λεπτά ισχαιμίας, και κυρίως μετά τα 45 λεπτά όπως αναφέρεται σε κλινικές και εργαστηριακές μελέτες, παρατηρείται σημαντική επιπρόσθετη βλάβη από την επαναιμάτωση.

Κατά την επαναιμάτωση, παρά την προσφορά οξυγόνου στους ιστούς και την έκπλυση των μεταβολικών προϊόντων, παρατηρείται ένας άλλος τύπος μυοκαρδιακής βλάβης. Συγκεκριμένα, κατά τη βλάβη επαναιμάτωσης οι διάλυτοι K_{ATP} και mPTP, καθώς καταναλώνεται το ATP, ανοίγουν και καταρρέει η ιοντική ομοιοστασία οδηγώντας μέσω απόπτωσης ή νέκρωσης σε κυτταρικό θάνατο.

Κατά την απόπτωση, δεν παρατηρείται ρήξη της μεμβράνης των κυττάρων και δεν συνοδεύεται, ή συνοδεύεται σε μικρό βαθμό, από στοιχεία φλεγμονής. Οι πυρήνες είναι συρρικνωμένοι με πυκνό εσωτερικό περιβάλλον που οφείλεται στην πύκνωση της χρωματίνης. Έπεται ο κατακερματισμός της χρωματίνης και ακολούθως του DNA. Το κύτταρο συρρικνώνεται, καθώς το κυτταρόπλασμα συμπυκνώνεται, με ελαφρά περιέλιξη της κυτταρικής και πυρηνικής μεμβράνης. Η έκθεση της φωσφατιδυλσερίνης στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης σηματοδοτεί την αφομοίωση αποπτωτικών κυττάρων, ακόμη και από τα υγιή περιβάλλοντα κύτταρα [25,26].

Στη νέκρωση, σε αντίθεση με την απόπτωση, μετά την πρόκληση οιδήματος καταστρέφεται η κυτταρική μεμβράνη, το DNA παραμένει με τη μορφή της διπλής έλικας και διασπάται, ενώ δεν εκτίθεται η φωσφατιδυλσερίνη.

Η αυξημένη προσφορά οξυγόνου κατά την επαναιμάτωση ευνοεί τον σχηματισμό ROS. Οι ελεύθερες ρίζες είναι δραστικά μόρια με ένα ελεύθερο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τους ηλεκτρονική στοιβάδα. Οι πιο κοινές είναι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (O_2^-) και η ρίζα υδροξυλίου (OH^-) που σχηματίζουν κατά την αντίδρασή τους το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2). Το υπεροξειδίο του υδρογόνου είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο γιατί δεν έχει φορτίο, αποτελεί ουδέτερο σύμπλεγμα και εξουδετερώνεται δυσκολότερα. Μπορεί να αντιδράσει με ιόντα χλωρίου σχηματίζοντας το υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$). Το NO που εκκρίνεται από το ενδοθήλιο αποτελεί από μόνο του ελεύθερη ρίζα με οξειδωτική και αντιοξειδωτική δράση. Μειώνει την ενδοκυττάρια ποσότητα ασβεστίου, έχει αγγειοδιασταλτικές ικανότητες και προστατευτικές για το ενδοθήλιο. Σε αφθονία όμως, δημιουργούνται τα πάρα πολύ δραστικά περοξυνιτρώδη ($O_2^- + NO = ONOO^-$).

Κύρια πηγή ελευθέρων ριζών και δραστικών μορφών οξυγόνου είναι τα μιτοχόνδρια, όπου δημιουργούνται είτε ως τελικό προϊόν είτε ως υποπροϊόν κατά την παραγωγή ενέργειας [27,28]. Η αύξηση των ROS εντός των μιτοχονδρίων μπορεί να οφείλεται και στην παρουσία ιόντων Ca^{++} , τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία τους διαταράσσοντας την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Η συσσώρευση ιόντων ασβεστίου διευκολύνεται από τη σύνθεση της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, πιθανότατα εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητάς της σε καρδιολιπίνη. Η ηλεκτραρνητική κεφαλή της πρωτεΐνης αυτής μπορεί να αναπτύξει ισχυρούς δεσμούς με τα ιόντα ασβεστίου. Με την αυξημένη παρουσία ιόντων ασβεστίου όμως, λαμβάνουν χώρο οξειδωτικές αλλοιώσεις της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης με αποτέλεσμα να διαταράσσεται το μεμβρανικό δυναμικό και να μεταβάλλεται η διαπερατότητά της (διάνοιξη mPTP διαύλων) [29].

Το φαινόμενο της μη επαναρροής (No-reflow phenomenon)

Με την άρση του αγγειακού αποκλεισμού στο τέλος της περιόδου ισχαιμίας, η αποκατάσταση της ιστικής αιμάτωσης μπορεί να μην επέλθει, χωρίς ωστόσο να είναι ορατό ανατομικά αλλά και αγγειογραφικά κάποιο εμπόδιο. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται no-reflow (μη επαναρροής). Είναι ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο, όπου η αποκατάσταση της αγγειακής βλάβης δεν οδηγεί στην επιθυμητή άρδευση του ιστού, παρά την ικανοποιητική αρτηριακή πίεση.

Ο συνδυασμός ενδοθηλιακού οιδήματος που ανιχνεύεται μικροσκοπικά, το οίδημα των μυϊκών κυττάρων που περιβάλλουν τα αιμοφόρα αγγεία, το οίδημα των τριχοειδών αγγείων

λόγω αύξησης της διαπερατότητας του τοιχώματός τους αλλά και η απόφραξή τους από τα λευκά αιμοσφαίρια, τα οποία με την επαναιμάτωση φτάνουν στα σημεία αυτά και σε συνάρτηση με την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων κυττάρων και των αιμοπεταλίων, οδηγούν στο φαινόμενο αυτό [30,31]. Το οίδηματώδες μυοκάρδιο κατά τη σύσπασή του επιδεινώνει την όλη κατάσταση, συμπιέζοντας ακόμη περισσότερο μικρής διαμέτρου περιφερικά αγγεία.

Κατά την επαναιμάτωση εισέρχονται και ουδετερόφιλα στην ισχαιμική περιοχή που βλάπτουν το ενδοθήλιο και ενεργοποιείται η παραγωγή ROS, τα οποία με τη σειρά τους μπορούν να προκαλέσουν ενδοθηλιακές βλάβες και αγγειοσύσπαση. Η εκκρινόμενη Endothelin-1 κατά την ισχαιμία αλλά και την επαναιμάτωση, αυξάνει τη σύσπαση των στεφανιαίων αγγείων και εμποδίζει την αιμάτωση του μυοκαρδίου. Επιπλέον, η μειωμένη παραγωγή αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως το NO από το ενδοθήλιο ευνοεί την παραγωγή αγγειοσυσταλτικών.

Το φαινόμενο της μη επαναρροής μπορεί να οδηγήσει και στη μετischαιμική αποπληξία του μυοκαρδίου (stunning myocardium). Ο μηχανισμός με τον οποίο η καρδιά κατά την επαναιμάτωση έχει μειωμένη λειτουργικότητα δεν έχει διερευνηθεί ακόμη πλήρως. Ως πιθανότερη αιτία πάντως κρίνεται ένοχη η ομοιοστασία του Ca^{++} σε κυτταρικό επίπεδο, είτε αυτή οφείλεται σε έλλειψη Ca^{++} ενδοκυτταρικά είτε σε διαταραχή πρόσληψής του από το ενδοπλασματικό δίκτυο ή τα μιτοχόνδρια είτε λόγω ανικανότητας αντίδρασης των συσταλτών πρωτεϊνών σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις Ca^{++} (απευαισθητοποίηση). Στην υπόθεση αυτή οδηγήθηκαν ερευνητές μετά τη διαπίστωση πως το μυοκάρδιο ανταποκρίνεται ικανοποιητικά σε ινότροπη διέγερση με κατεχολαμίνες ή χορήγηση Ca^{++} ενδοφλεβίως [32,33,34].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Ισχαιμική προετοιμασία του μυοκαρδίου

Ονομάζουμε την υποβολή του οργάνου σε μικρής διάρκειας περίοδο ισχαιμίας αποκλείοντας απευθείας στεφανιαίες αρτηρίες άπαξ ή σε επαναλαμβανόμενα διαστήματα, προετοιμάζοντας το όργανο για την επικείμενη, μεγαλύτερης διάρκειας, περίοδο ισχαιμίας. Σκοπός είναι να προστατευθεί και να ανταπεξέλθει το όργανο καλύτερα στις συνθήκες υποξίας, μειώνοντας το μέγεθος του εμφράγματος και τις βλάβες κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση.

Απομακρυσμένη ισχαιμική προετοιμασία

Η μείωση της βλάβης μετά από ισχαιμία – επαναιμάτωση εξακολουθεί να είναι ένας δύσκολα προσεγγίσιμος στόχος, παρά την ύπαρξη πολλών, φαρμακευτικά και μη, τρόπων προφύλαξης του μυοκαρδίου κατά τη διάρκεια καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων.

Η απομακρυσμένη ισχαιμική προετοιμασία (ΑΙΠ) του μυοκαρδίου έχει προταθεί ως μια μέθοδος μείωσης της βλάβης επαναιμάτωσης μετά από μια περίοδο παρατεταμένης ισχαιμίας. Εργαστηριακές έρευνες έχουν αναφέρει βελτίωση της συσταλτικής δραστηριότητας και μείωση της βλάβης επαναιμάτωσης του μυοκαρδίου μετά από καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις με ΑΙΠ, ωστόσο ο ρόλος της σε κλινικό επίπεδο παραμένει υπό διερεύνηση λόγω αντικρουόμενων μελετών [35,36,37,38].

Προστατευτικοί μηχανισμοί απομακρυσμένης ισχαιμικής προετοιμασίας

Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων παρέχεται προστασία στο μυοκάρδιο μετά από ισχαιμία-επαναιμάτωση δεν έχουν διερευνηθεί ακόμη πλήρως. Έχουν επικρατήσει 3 υποθέσεις για τον τρόπο προστασίας, με κοινό χαρακτηριστικό την πρόκληση ισχαιμίας σε απομακρυσμένο όργανο με ακολουθούμενη επαναιμάτωση [39], ενώ δεν αποκλείεται η αλληλεπίδραση των υποτιθέμενων μηχανισμών.

1. Νευρογενής προστασία. Η αδενοσίνη, η βραδυκίνη και η καλσιτονίνη [calcitonin gene-related peptide (CGRP)] που εκλύονται, σύμφωνα με την υπόθεση της νευρογενούς προστασίας, ενεργοποιούν απαγωγές νευρικές ίνες του οργάνου εφαρμογής ισχαιμίας, με τη σειρά τους διεγείρουν προσαγωγές νευρικές ίνες στην καρδιά προετοιμάζοντάς την για την επικείμενη ισχαιμία [40,41]. Η CGRP εκλύεται στο αίμα από αισθητικά νεύρα ευαίσθητα στην καψαϊκίνη, τα οποία έχουν ενεργοποιηθεί από το NO που παράγεται από το ισχαιμικό ενδοθήλιο. Στη συνέχεια ξεκινούν ενδοκυτταρικά μονοπάτια της πρωτεϊνικής

κινάσης ε (PKC-ε), μια καρδιοπροστατευτική ισομορφή της πρωτεϊνικής κινάσης. Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση οργάνων, η νευρογενής οδός προστασίας δεν υφίσταται, καθώς τα μεταμοσχευμένα όργανα είναι απονευρωμένα.

2. Χυμική προστασία. Κατά την υπόθεση της χυμικής προστασίας, στην πρώιμη φάση οι εκκρινόμενες ουσίες από το όργανο πρόκλησης ισχαιμίας μεταφέρονται μέσω της αιματικής οδού στο όργανο στόχο, την καρδιά, όπου με την πρόσδεσή τους στους αντίστοιχους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης ενεργοποιούνται ενδοκυτταρικά μονοπάτια. Τα οπιοειδή που παράγονται κατά την τοπική ισχαιμία δρουν στους υποδοχείς κ- και δ-οπιοειδών των μυοκαρδιακών κυττάρων, ενώ στην καρδιοπροστασία δεν συμμετέχουν οι μ-οπιοειδής υποδοχείς [42]. Τα ενδοκανναβινοειδή ενεργοποιούν τους CB2 υποδοχείς στο μυοκάρδιο και ακολουθεί μια αλληλουχία αντιδράσεων ενδοκυτταρικά, με αποτέλεσμα την μυοκαρδιακή προστασία. Πειραματικά έχει διαπιστωθεί πως η εκκρινόμενη αδενosίνη και η νοραδρεναλίνη δεν αποτελούν χυμικούς παράγοντες καρδιοπροστασίας. Το NO που επίσης εκκρίνεται στην ισχαιμική περιοχή, είναι υπεύθυνο για την έκκριση της CGRP στο αίμα. Το μονοπάτι της PKC-ε που ακολουθείται στη συνέχεια, είναι το ίδιο που ακολουθείται μετά την ενεργοποίηση των υποδοχέων της βραδυκινίνης-2 στην εξωτερική επιφάνεια των καρδιομυοκυττάρων. Το NO όταν είναι ποσοτικά αυξημένο συμπεριφέρεται σαν δραστική ελεύθερη ρίζα. Όπως και άλλες ελεύθερες ρίζες που παράγονται τόσο στην ισχαιμική περιοχή όσο και στο όργανο-στόχο ενδοκυτταρικά, με την επιβλαβή τους δράση προκαλούν την βλάβη επαναιμάτωσης και τον κυτταρικό θάνατο, ενώ κατά την όψιμη φάση, ως μέρος της ενδοκυτταρικής σηματοδότησης, προάγουν τις κυτταροπροστατευτικές ιδιότητες. Αυτές είναι η επαγωγή αντιοξειδωτικών μορίων, η νεοσύνθεση πρωτεϊνών και η μεταγραφή γονιδίων, ενώ η παρεμπόδιση της διάνοιξης τόσο των mK_{ATP} διαύλων όσο και των $mPTP$ διαύλων αποτελεί ισχυρό προστατευτικό μηχανισμό από τη βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης.

3. Συστημική προστασία. Η υπόθεση της συστημικής απάντησης βασίζεται στην καταστολή γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες για προσκόλληση, μετανάστευση, εξωκύτωση, ανοσολογική απάντηση, σύνθεση κυτταροκινών και απόπτωση μετά την ενεργοποίηση ενδοκυτταρικών μονοπατιών από ROS. Επιπλέον, προάγεται η έκφραση αντιφλεγμονοδών παραγόντων όπως HSP 70 και καλπαστατίνη [43]. Τίθενται σε λειτουργία αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί, όπως η δράση της καταλάσης που αποικοδομεί το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και το υπεροξειδίο της δισμουτάσης που διασπά το υπεροξειδικό ανιόν [44,45]. Επίσης, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης αποτοξινώνει το κύτταρο από υδροξυπεροξειδία και H_2O_2 . Η υπεροξυρεδοξίνη, η θειορεδοξίνη και η αναγωγάση της θειορεδοξίνης συμμετέχουν σε πληθώρα διεργασιών, καταλύοντας την παραγωγή αντιοξειδωτικών μορίων που επάγονται από

το οξειδωτικό στρες. Εκτός των παραπάνω ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών περιλαμβάνονται και μη ενζυμικά ενδοκυτταρικά μόρια όπως η βιταμίνες E, C και β-καροτένιο καθώς και πρωτεΐνες όπως η μεταλλοθειονίνη [46,47], τα οποία ενισχύουν την κυτταροπροστασία.

Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν πως η ενεργοποίηση των ενδοκυτταρικών μονοπατιών των MAPK (mitogen-activated protein kinases), Erk 1/2 και JNK (c-Jun N-terminal kinase) στο απομακρυσμένο όργανο συμβάλλουν επίσης στην προστασία του μυοκαρδίου μετά από ΑΙΠ.

Ο ρόλος του οξειδωτικού στρες κατά την ισχαιμία-επαναιμάτωση στη μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή

Το οξειδωτικό στρες μέσω H_2O_2 αποτελεί έναν μηχανισμό πρόκλησης μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Ο Song και συν. απέδειξαν πειραματικά την αρρυθμογόνο δράση του H_2O_2 μέσω αύξησης του όψιμου ρεύματος Na^+ και πρώιμων μεταδυναμικών [48]. Επομένως η μείωση του H_2O_2 μετά από ισχαιμία-επαναιμάτωση μπορεί να εμποδίσει το όψιμο ρεύμα Na^+ και να προφυλάξει από αρρυθμίες ένεκα του οξειδωτικού στρες το οποίο προκαλεί αύξηση του ρεύματος Na^+ και Ca^{++} και της διάρκειας του δυναμικού ενέργειας.

Η συνθάση του NO (Nitric Oxide Synthase – NOS) και το NO, που είναι υποπροϊόν της NOS, συμβάλλουν επίσης στην παθογένεση της κολπικής μαρμαρυγής. Η NOS με την ενζυματική της δραστηριότητα παράγει υπεροξειδικά ανιόντα, πειραματικά οδηγεί σε μειωμένη διάρκεια της ανερεθίστου περιόδου στα κολπικά κύτταρα, με αποτέλεσμα την αύξηση εμφάνισης μαρμαρυγής.

Η ενδοθηλίνη-1 που εκκρίνεται από τα κύτταρα του ισχαιμικού ενδοθηλίου αυξάνει τη διάρκεια του ηλεκτρικού δυναμικού στις κοιλίες, βραχύνει το ηλεκτρικό δυναμικό στους κόλπους και καθιστά την καρδιά ευάλωτη στην εμφάνιση αρρυθμιών όπως η κολπική μαρμαρυγή.

Τα υψηλά επίπεδα ROS είναι γνωστό πως αυξάνουν τη συγκέντρωση Ca^{++} στο κυτταρόπλασμα, μηχανισμός που μπορεί να προκαλέσει πρώιμα μεταδυναμικά και επαναλαμβανόμενη ηλεκτρική δραστηριότητα. Τα ROS παίζουν σημαντικό ρόλο και στην ηλεκτρική και δομική αναδιαμόρφωση των κόλπων μετά από ισχαιμία που μπορεί επίσης να οδηγήσει σε αρρυθμογένεση. In vitro βρέθηκε πως επιδρούν στους L-τύπου διαύλους του Ca^{++} , στους υποδοχείς ρυανοδίνης, στην αντλία SERCA, και στην αντλία Na^+/Ca^{++} [49,50]. Για την δομική αναδιαμόρφωση ευθύνεται η παραγωγή ROS από ενεργοποιημένα λευκά πολυμορφοπύρρηνα.

Άλλοι δείκτες μυοκαρδιακής βλάβης από ισχαιμία – επαναιμάτωση

Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-Reactive Protein – CRP) ανακαλύφθηκε το 1930 από τους Tillet και Francis. Συντίθεται στο ήπαρ σε οξεία φάση κάποιας λοίμωξης, κακοήθειας, αρθρίτιδας ή άλλης φλεγμονώδους κατάστασης. Οι τιμές τις αυξάνονται μέσα στις πρώτες 6 ώρες και επανέρχονται σε φυσιολογικά επίπεδα εντός 4 ημερών αφού καταπολεμηθεί το αίτιο. Τα επίπεδά της αντανακλούν το βαθμό της ιστικής βλάβης ή το μέγεθος της φλεγμονώδους κατάστασης. Φυσιολογικά κυμαίνεται από μηδέν έως 0,7 mg/dl.

Η τροπονίνη είναι μια πρωτεΐνη που εδράζει στο μόριο της ακτίνης των σκελετικών και καρδιακών μυϊκών κύτταρων και λαμβάνει μέρος στη συστολή των κυττάρων. Εμφανίζεται σε τρεις ισομερείς μορφές (I, C, T). Στα μυοκαρδιοκύτταρα οι τροπονίνες έχουν τις ισομορφές cTnC, cTnI και cTnT – cardiac Troponin C, I, T) που είναι εξαιρετικοί ειδικοί και ευαίσθητοι βιολογικοί δείκτες μυοκαρδιακής βλάβης. Σε μετρήσεις της cTnT μπορεί να υπάρξουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε καταστάσεις όπως χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και μυοπάθειες. Με τη νέκρωση του κυττάρου, οι τροπονίνες εκλύονται στην κυκλοφορία του αίματος και είναι ανιχνεύσιμες με ειδικά αντιδραστήρια. Ακόμη και μικρή άνοδος των τιμών cTnT και cTnI υποδεικνύει μυοκαρδιακή βλάβη, με την cTnI να πλεονεκτεί ως προς την εξειδίκευση, ενώ η cTnC δεν χρησιμοποιείται ως καρδιακός δείκτης. Φυσιολογικά δεν ανιχνεύεται cTnT ή δεν ξεπερνά το 0,01 ng/ml. Σε εμφράγματα ή μετά από καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις αυξάνεται σε διάστημα 3 – 4 ωρών, ενώ επίμονες αυξήσεις πέραν της 3^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας σχετίζονται με το μέγεθος του εμφράγματος και υποδηλώνουν μη αναστρέψιμη νέκρωση του μυοκαρδίου.

Η CPK (κινάση της φωσφορικής κρεατίνης) είναι ένζυμο και αντανακλά την ενεργειακή εφεδρεία για τους μύες, αφού με τη βοήθειά της μπορεί γρήγορα να αναπληρωθεί το ATP που καταναλώνεται. Συναντάται σε τρεις μορφές στο ανθρώπινο σώμα: CK-BB (στον εγκέφαλο), CK-MB (κυρίως στην καρδιά) και CK-MM (στους σκελετικούς μύες και την καρδιά). Αποτελεί έναν δείκτη της κατάστασης των κυττάρων και συγκρίνεται με προηγούμενες τιμές του ίδιου ατόμου. Οι τιμές της αυξάνονται σε παθολογικές καταστάσεις, όπως σε περιπτώσεις μυϊκής δυστροφίας, νόσων του κεντρικού νευρικού συστήματος στον υποθυρεοειδισμό, αλλά και σε έντονη σωματική άσκηση. Σε περίπτωση ισχαιμίας του μυοκαρδίου η έως και εξαπλάσια αύξηση ξεκινά 4-8 ώρες μετά την έναρξη της ισχαιμίας, φτάνει τη μεγαλύτερή της τιμή 12-24 ώρες μετά και επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα μετά από 2-3 ημέρες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Μεθοδολογία

Οι ασθενείς επιλέχθηκαν με τυχαία σειρά, όπως προσέρχονται στο χειρουργείο κατά το τακτικό καθημερινό πρόγραμμα χειρουργείου της κλινικής και χωρίστηκαν σε 2 ομάδες. Στην ομάδα ελέγχου εκτελούνται όλα όπως ακριβώς και στην ομάδα εφαρμογής, πλην της πρόκλησης ισχαιμίας του άνω άκρου. Και στις δύο ομάδες τοποθετείται περιχειρίδα μέτρησης αναίμακτης πίεσης στο αριστερό ή δεξί άνω άκρο τους (στο άκρο όπου δεν έχει τεθεί αρτηριακός καθετήρας για τη μέτρηση αιματικής πίεσης).

Η εισαγωγή της ενδοφλέβιας αναισθησίας γίνεται με Dormicum, Fentanyl, Hypnomidate και Pancuronium σε δοσολογία ανάλογη με τη σωματική διάπλαση των ασθενών καθώς και με πτητικό αέριο Sevoflurane, ενώ διεγχειρητικά χορηγείται ενδοφλεβίως Propofol και Ultiva με αντλία.

Μετά τη διασωλήνωση του ασθενούς από τους αναισθησιολόγους, λαμβάνεται αίμα σε ένα φιαλίδιο βιοχημικού εργαστηριακού ελέγχου και φυγοκεντρείται άμεσα για 5 λεπτά της ώρας στις 3500 στροφές ανά λεπτό και θερμοκρασία 27 βαθμών Κελσίου στο μηχάνημα φυγοκέντρησης Eppendorf Centrifuge 5810 R. Το πλάσμα του αίματος μοιράζεται σε τρία φιαλίδια του 1ml και το υπόλοιπο πλάσμα με τα ερυθρά αιμοσφαίρια στο φιαλίδιο βιοχημικού εργαστηριακού ελέγχου μαζί με τα τρία φιαλίδια του 1ml καταψύχονται σε βαθιά κατάψυξη στους -82 βαθμούς Κελσίου.

Στη συνέχεια ξεκινά η διαδικασία της εφαρμογής απομακρυσμένης ισχαιμίας. Φουσκώνεται η περιχειρίδα στα 200 mmHg και με μία λαβίδα φράσσεται ο αεραγωγός της προκαλώντας ισχαιμία στο άκρο για πέντε λεπτά. Με το πέρας των 5 λεπτών ανοίγει η λαβίδα και ξεφουσκώνει η περιχειρίδα, επιτρέποντας την επαναιμάτωση του άκρου για 5 λεπτά. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται άλλες 2 φορές και έχει ολοκληρωθεί σε συνολικά 30 λεπτά.

Δύο και τέσσερις ώρες μετά την εφαρμογή της ισχαιμίας αλλά και 5 λεπτά μετά την άρση του αποκλεισμού της αορτής κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης, λαμβάνεται από ένα φιαλίδιο αίματος βιοχημικού εργαστηριακού ελέγχου και ακολουθεί η προαναφερόμενη διαδικασία φυγοκέντρησης και κατάψυξης.

Ο προσδιορισμός του H_2O_2 πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφηκε από τον Franz και τους συνεργάτες του το 2003 [51]. Τα πρότυπα διαλύματα του H_2O_2 (0–1000 μM) προετοιμάζονται. 10 μL από πρότυπα και δείγματα επωάζονται με 200 μL του μίγματος αντίδρασης, αποτελούμενου από HRP (25 mU), TMB και διάλυμα υποστρώματος σε μία αναλογία 1:10:100 σε ακάλυπτες πλάκες. Μετά από 15 λεπτά (± 5 λεπτά) επώαση, η αντίδραση διακόπτεται με προσθήκη διαλύματος 2N HCl και η απορρόφηση προσδιορίζεται στα 450 nm (αναφορά: 620 nm ή 570 nm). Τα επίπεδα του υπεροξειδίου στον ορό υπολογίζονται σε σχέση με την απορρόφηση στην πρότυπη καμπύλη του υπεροξειδίου, ενώ τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $\mu M H_2O_2$.

Η μέτρηση της τροπονίνης T γίνεται σε μηχάνημα της εταιρείας Roche με τις ακόλουθες διαβαθμίσεις: <50 ng/L για αρνητικό αποτέλεσμα, 50 – 100 ng/L για αποτέλεσμα που θέλει συνεκτίμηση ή περαιτέρω διερεύνηση και ένδειξη αριθμού σε ng/L για το ύψος του θετικού αποτελέσματος. Λήψεις αίματος για τα μέτρησή της γίνονται πριν την εφαρμογή της ισχαιμίας, κατά τη μεταφορά του ασθενούς στην ΑΚΑ (Ανάληψη Καρδιοχειρουργημένων Ασθενών), 3-4 ώρες μετά το χειρουργείο, 6-8 ώρες, 18-24 ώρες, 48 ώρες και 72 ώρες μετά.

Προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά καταγράφονται ο χρόνος στην εξωσωματική κυκλοφορία, ο χρόνος αποκλεισμού της αορτής, το κλάσμα εξωθήσεως, τα βιοχημικά εργαστηριακά ευρήματα, η φαρμακευτική αγωγή, η εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής και στα καρδιογραφήματα μετράται η διάρκεια PWD (P-Wave Duration), τα διαστήματα P-Q, Q-T, QT_c , T_p-T_e , και QRS. Τα στοιχεία όλα συλλέγονται σε φύλλο εργασίας Excel και επεξεργάζονται με το πρόγραμμα GraphPad Prism 5 για την εξαγωγή στατιστικών στοιχείων.

Κατά την Εξωσωματική Κυκλοφορία διατηρείται μια μέση αρτηριακή πίεση 50 – 70 mmHg, ροή αίματος από 3 – 5 l/min ανάλογα με τις ανάγκες του ασθενούς και η ελάχιστη θερμοκρασία σώματος δεν είναι χαμηλότερη των 32 βαθμών Κελσίου. Διεγχειρητικά το pH του αίματος διατηρείται σε φυσιολογικά επίπεδα, ο ACT (Activated Clotting Time – χρόνος ενεργοποιημένης πήξης) κυμαίνεται μεταξύ 500 και 650 sec και γίνεται χρήση του μηχανήματος cell saver (αυτομετάγγισης ερυθρών αιμοσφαιρίων) για την ελαχιστοποίηση των μεταγγίσεων. Για καρδιοπληγία χρησιμοποιείται κρυσταλλικό διάλυμα St. Thomas σε σταθερή ανάμειξη με αίμα 4:1 ορθόδρομα και νορμοθερμικά. Ο οξυγονωτής και το σετ σωλήνων εξωσωματικής κυκλοφορίας είναι με βιοσυμβατή επικάλυψη του ίδιου κατασκευαστικού οίκου και σε όλους τους ασθενείς χρησιμοποιούνται τα ίδια μηχανήματα με τα αναλώσιμά τους.

Από την έρευνα εξαιρούνται οι ασθενείς με σοβαρή πνευμονοπάθεια, νεφρική και ηπατική ανεπάρκεια, περιφερική αγγειοπάθεια άνω ή κάτω άκρων, ιστορικό κολπικής

μαρμαρυγής ή προεγχειρητική μαρμαρυγή, προηγούμενη καρδιοχειρουργική επέμβαση και αυτοί που λαμβάνουν σουλφονυλουρία και τα παράγωγά της.

Η χρήση ορισμένων αναισθητικών φαρμάκων αποδείχθηκε πως έχουν προστατευτική δράση στο μυοκάρδιο, όμοια με αυτή του RIPC [52]. Τα πτητικά αναισθητικά Isoflurane και Sevoflurane, για παράδειγμα, ενεργοποιούν τον δίαυλο mK_{ATP} , βελτιώνοντας την μετεγχειρητική πορεία των ασθενών με την εξοικονόμηση ενέργειας υπό μορφή ATP. Η προποφόλη (propofol) με την καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος συμβάλλει στη διατήρηση χαμηλών επιπέδων ROS και ασβεστίου, ενώ παράλληλα προάγει την έκφραση της αντιφλεγμονώδους πρωτεΐνης HSP₇₀. Στην παρούσα εργασία τα αναισθησιολογικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται είναι τα ίδια και στις δύο ομάδες ασθενών και για το λόγο αυτό παρά την προστατευτική τους δράση μελετάται η επίδραση της ΑΠΠ.

Η ομάδα των διαβητικών αποτελεί μια ιδιαίτερη κατηγορία ασθενών, καθώς αυτοί έχουν αυξημένο κίνδυνο ξαφνικού θανάτου από απόφραξη στεφανιαίων αγγείων και είναι πιο ευάλωτοι στις μετεγχειρητικές αρρυθμίες εξαιτίας της βράχυνσης της διάρκειας του δυναμικού δράσης που προκύπτει από την απώλεια ιόντων καλίου προς τον εξωκυττάριο χώρο. Στους διαβητικούς οι δίαυλοι K_{ATP} δεν λειτουργούν σωστά, μη μπορώντας να αναστρέψουν τις παθολογικές συνθήκες που επικρατούν μετά την ισχαιμία και επαναιμάτωση. Ακόμη, η χορήγηση αντιδιαβητικών φαρμάκων όπως Glibenclamide (Metformin), έναν μη εκλεκτικό αναστολέα των διαύλων K_{ATP} , διατηρεί τον δίαυλο ανοικτό [53] επιτείνοντας την κατάσταση και καθιστώντας την ΑΠΠ χωρίς ευεργετικό αποτέλεσμα. Παρά ταύτα μελετάται η επίδραση της ΑΠΠ και σε αυτούς, στην προσπάθεια να αναδειχθούν και άλλοι μηχανισμοί προστασίας.

Αποτελέσματα

Συνολικά συμπεριλήφθηκαν στην ομάδα ΑΠΠ 49 ασθενείς (42 άνδρες/7 γυναίκες), από τους οποίους οι 12 (24.5%) εμφάνισαν μετεγχειρητική κολπική μαρμαρυγή (KM). Την ομάδα ελέγχου αποτελούν συνολικά 18 ασθενείς (16 άνδρες/2γυναίκες), από τους οποίους οι 7 (38,9%) εμφάνισαν KM (συχνότητα εμφάνισης KM στην ομάδα ΑΠΠ έναντι ομάδας ελέγχου, chi-square statistic, $p=0.25$, not significant-NS). Οι ηλικίες των ασθενών στις δύο ομάδες ήταν 63.89 ± 9.13 έτη και 65.41 ± 8.53 έτη (ομάδα ελέγχου και ΑΠΠ αντίστοιχα, $p=0.53$).

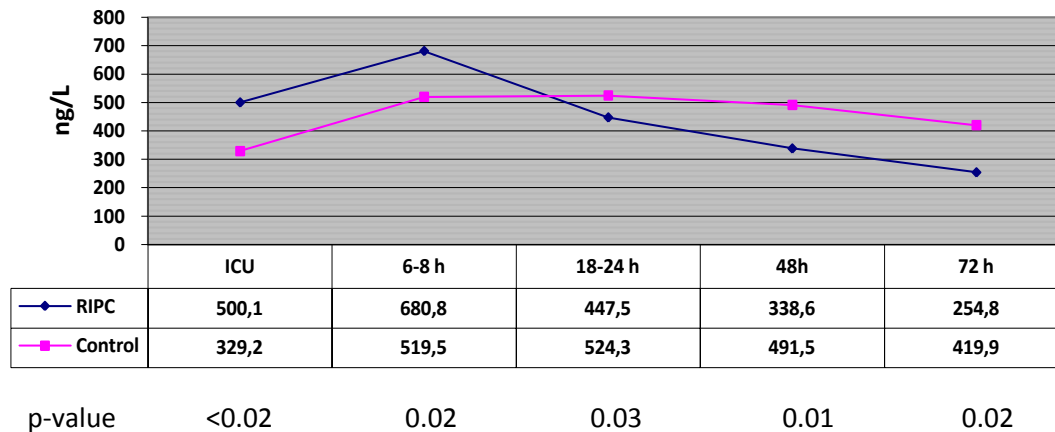
Κατά μέσο όρο το κλάσμα εξώθησης (Ejection Fraction – EF) της ομάδας ελέγχου ήταν 44.17 ± 10.61 % και της ομάδας εφαρμογής 47.86 ± 10.99 % ($p=0.2$). Στην ομάδα εφαρμογής της ΑΠΠ οι 35 είχαν προεγχειρητικά EF μεγαλύτερο του 40% και 9 από αυτούς εμφάνισαν KM (25.71%). Κλάσμα εξώθησης $\leq 40\%$ είχαν 14 και 3 από αυτούς εμφάνισαν KM (21.43%). Στην ομάδα ελέγχου, οι 9 είχαν προεγχειρητικά κλάσμα εξώθησης μεγαλύτερο του 40% και 3 από

αυτούς εμφάνισαν ΚΜ (33.33%). Κλάσμα εξώθησης $\leq 40\%$ είχαν 9 και 4 από αυτούς εμφάνισαν ΚΜ (44.44%).

Οι τιμές της CRP και στις δύο ομάδες κυμάνθηκαν σε φυσιολογικά επίπεδα (0.32 – 0.46 mg/dl), ενώ δε συσχετίστηκε με τη συχνότητα εμφάνισης ΚΜ (p=NS).

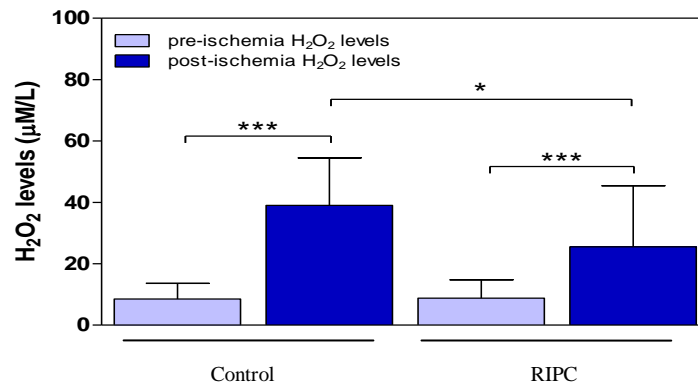
Κατά τη χειρουργική επέμβαση, η διάρκεια της εξωσωματικής κυκλοφορίας δεν παρουσίασε μεγάλες αποκλίσεις στις δύο ομάδες (98.06±28.09 min και 102.4±28.39 min, ομάδα ελέγχου και ΑΙΠ αντίστοιχα, p=0.39), όπως και ο χρόνος αποκλεισμού της αορτής που αφορά την ισχαιμία των στεφανιαίων αγγείων (63.7±25.2 min και 68.6±18.6 min, ομάδα ελέγχου και ΑΙΠ αντίστοιχα, p=NS).

Προεγχειρητικά όλοι οι ασθενείς είχαν cTnT <50 ng/L. Κατά τη μεταφορά τους στην ΑΚΑ κατά μέσο όρο μετρήθηκε 329.2±124.2 ng/L και 500.1±248.9 ng/L (ομάδα ελέγχου και ΑΙΠ αντίστοιχα, p<0.02), 6-8 ώρες μετεγχειρητικά 519.5±382.3ng/L και 680.8±291.1 ng/L (ομάδα ελέγχου και ΑΙΠ αντίστοιχα, p=0.02), 18-24 ώρες μετεγχειρητικά 524.3±212.7 ng/L και 447.5±350.9 ng/L (ομάδα ελέγχου και ΑΙΠ αντίστοιχα, p=0.03), μετά από 48 ώρες 491.5±244.7 ng/L και 338.6±301.6 ng/L (ομάδα ελέγχου και ΑΙΠ αντίστοιχα, p=0.01) και 72 ώρες αργότερα 419.9±293.3 ng/L και 254.8±240.6 ng/L (ομάδα ελέγχου και ΑΙΠ αντίστοιχα, p=0.02) (Γράφημα1).



Γράφημα 1

Το οξειδωτικό στρες στην ομάδα εφαρμογής ΑΙΠ όπως και στην ομάδα ελέγχου ήταν σημαντικά αυξημένο (25.5±19.9 μM/L έναντι 8.8±6 μM/L και 39±15.5 μM/L έναντι 8.5±5.1μM/L μετά την ισχαιμία έναντι πριν την ισχαιμία, p<0.001). Οι τιμές του H₂O₂ (Γράφημα 2) ήταν σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα ελέγχου σε σύγκριση με τις τιμές της ομάδας ΑΙΠ (ΑΙΠ έναντι ομάδας ελέγχου, p=0.038).



Γράφημα 2

Οι τιμές του H₂O₂ στο πλάσμα αίματος αυξήθηκαν σημαντικά και στις δύο ομάδες τόσο πριν όσο και μετά την ισχαιμία (***P*<0.001). Η συγκέντρωση του H₂O₂ κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας-επαναιμάτωσης ήταν σημαντικά πιο αυξημένη στην ομάδα ελέγχου συγκριτικά με την ομάδα εφαρμογής της ΑΠΠ (39±15.5 έναντι 25.5±19.9 µM/L, αντίστοιχα; **P*= 0.038).

Η μελέτη βιοχημικών εργαστηριακών ευρημάτων όπως K⁺ και κρεατινίνη δεν είχαν μεγάλες αποκλίσεις μεταξύ των δύο ομάδων προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά (Πίνακας 1). Η CPK αυξήθηκε και στις δύο ομάδες μετεγχειρητικά (609.4±549.3 U/L και 680.7±728.5 U/L, ομάδα ελέγχου και ΑΠΠ αντίστοιχα, *p*=0.99), σε σχέση με τις προεγχειρητικές τιμές (104.6±83.85 U/L και 211.5±501.9 U/L, ομάδα ελέγχου και ΑΠΠ αντίστοιχα, *p*=0.13). Οι τιμές της ουρίας ήταν σημαντικά μειωμένες μετεγχειρητικά στους ασθενείς της ομάδας εφαρμογής ΑΠΠ (46.95±23.89 mg/dl και 38.3±19.82 mg/dl, ομάδα ελέγχου και ΑΠΠ αντίστοιχα, *p*=0.0061), ενώ προεγχειρητικά δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων (45.00±18.05 mg/dl και 40.71±13.95 mg/dl, ομάδα ελέγχου και ΑΠΠ αντίστοιχα, *p*=0.26).

	Προεγχειρητικά				Μετεγχειρητικά			
	K+	CPK	Urea	Creatinine	K+	CPK	Urea	Creatinine
Control group	4.397	104.6	45.00	1.107	4.521	609.4	46.95	1.14
RIPC group	4.376	211.5	40.71	1.059	4.349	680.7	38.3	1.07
<i>p</i> value	0.97	0.13	0.26	0.18	NS	0.99	0.006	0.21

Πίνακας 1

Αναλυτικά παρατίθενται στοιχεία της μελέτης στο Παράρτημα 1.

Ηλεκτροκαρδιογραφικά (Παράρτημα 2), η διάρκεια του κύματος P (PWD) προεγχειρητικά ήταν όμοια και στις δύο ομάδες (83.33±12.37 ms και 82.35±12.81 ms, ομάδα ελέγχου και ομάδα ΑΠΠ αντίστοιχα, *p*=0.85), ενώ μετεγχειρητικά η διάρκειά του μειώθηκε στην ομάδα εφαρμογής ΑΠΠ έναντι της ομάδας ελέγχου (75.29±11.07 ms έναντι 85.56±19.17 ms, *p*=0.15). Η PWD στους ασθενείς της ομάδας εφαρμογής της ΑΠΠ που εμφάνισαν ΚΜ ήταν

μεγαλύτερη από τη διάρκεια αυτών που δεν την εμφάνισαν (91 ± 6 ms και 79 ± 2 ms, με ΚΜ και χωρίς ΚΜ αντίστοιχα, $p=0.021$).

Συμπεράσματα – Συζήτηση

Κύρια ευρήματα αυτής της μελέτης ήταν: (1) Τα μικρότερα ποσοστά μετεγχειρητικής ΚΜ σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ΑΠΠ συγκριτικά με εκείνους της ομάδας ελέγχου, (2) Η σημαντική μείωση του οξειδωτικού στρες και της τροπονίνης Τ σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ΑΠΠ πριν από την έναρξη της ισχαιμίας, και (3) Η μεγαλύτερη επιβράδυνση της κολπικής αγωγιμότητας (μεγαλύτερης διάρκειας κύματα Ρ στο καρδιογράφημα) σε ασθενείς της ομάδας με ΑΠΠ και μετεγχειρητική ΚΜ, συγκριτικά με εκείνους που δεν εμφάνισαν ΚΜ.

Η προστατευτική δράση της ΑΠΠ στην εμφάνιση μετεγχειρητικής ΚΜ έχει ανακοινωθεί από τους Yellon και συν., οι οποίοι βρήκαν σημαντική μείωση του ποσοστού εμφάνισης της αρρυθμίας στην ομάδα των ασθενών που υποβλήθηκαν σε προετοιμασία [54]. Πρόσφατες πολυκεντρικές κλινικές μελέτες με αντικείμενο την μετεγχειρητική ΚΜ μετά από ΑΠΠ βρίσκονται σε εξέλιξη.

Στην παρούσα κλινική μελέτη, οι χαμηλότερες τιμές της τροπονίνης Τ σε ασθενείς με ΑΠΠ αντανακλούν την μικρότερη μυοκαρδιακή βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης 24-48 και 72 ώρες μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη. Ανάλογα αποτελέσματα δημοσίευσαν ο Hausenloy και συν. [55] και ο Venugopal και συν. [56] σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε καρδιοχειρουργική επέμβαση μετά από ΑΠΠ. Ο Heusch και συν. [57], παρατήρησαν ότι η ηλικία δεν επηρέασε τη συχνότητα της μετεγχειρητικής ΚΜ, ενώ με την αυξανόμενη διάρκεια της ισχαιμίας μέσω αποκλεισμού της αορτής αυξάνονταν και οι διαφορές στις τιμές της τροπονίνης Τ, με μικρότερες τιμές να καταγράφονται στην ομάδα με ΑΠΠ. Αντίθετα, ο Rahman και συν. [58] δεν παρατήρησαν σημαντική διαφορά στις τιμές της τροπονίνης Τ σε ασθενείς με ΑΠΠ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, ενώ δεν βρέθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ των τιμών κρεατινίνης και της συχνότητας εμφάνισης ΚΜ σε ασθενείς με ΑΠΠ.

Και στις δύο ομάδες ασθενών (ομάδα ελέγχου και ομάδα με ΑΠΠ) το υπεροξειδίο του υδρογόνου στο περιφερικό αίμα βρέθηκε αυξημένο σημαντικά μετά την ισχαιμία-επαναιμάτωση (αποκλεισμός της αορτής-επαναρροή), συγκριτικά με τις τιμές ελέγχου (πριν την έναρξη της ισχαιμίας). Στους ασθενείς όμως που υποβλήθηκαν σε ΑΠΠ, οι τιμές του H_2O_2 ήταν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες της ομάδας που δεν υποβλήθηκαν σε ΑΠΠ. Καθόσον η αύξηση του H_2O_2 έχει συσχετισθεί με την αύξηση του όσμωμο ρεύματος Na^+ , γίνεται εν μέρει κατανοητός ο μηχανισμός μέσου του οποίου μπορεί να προκληθεί ΚΜ περισσότερο σε ασθενείς με αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες (ομάδα χωρίς ΑΠΠ). Οι αυξημένες συγκεντρώσεις ελευθέρων ριζών

μπορεί να αυξήσουν το όψιμο ρεύμα Na^+ και επομένως την συγκέντρωση ενδοκυττάρου Na^+ , αυξάνοντας έτσι μέσω ενεργοποίησης της αντίστροφης μορφής του ανταλλάκτη NCX το ενδοκυττάριο Ca^{++} το οποίο ευθύνεται για τη διαστολική δυσλειτουργία, ενώ προτείνεται και ως θεμελιώδης μηχανισμός της μετεγχειρητικής ΚΜ μετά από ισχαιμία-επαναιμάτωση. Η μείωση του οξειδωτικού στρες και της μετεγχειρητικής ΚΜ σε ασθενείς μετά από ΑΠΠ εξηγούνται εν μέρει μέσω αυτού του μηχανισμού.

Για την πρόληψη της μετεγχειρητικής ΚΜ έχουν διερευνηθεί διάφορα φαρμακευτικά σκευάσματα, όπως η αμιωδαρόνη, στατίνες, αντιοξειδωτικά, και αναστολείς RAAS ή β 1-αδρενεργικών υποδοχέων [59,60,61]. Ο προστατευτικός μηχανισμός όλων αυτών των σκευασμάτων μεσολαβείται κυρίως μέσω άμεσων ή έμμεσων αντιαρρυθμικών και αντιπλεγμονωδών δράσεων, οι οποίες μειώνουν την εμφάνιση ηλεκτρο-ανατομικής αναδιαμόρφωσης και ίνωσης του μυοκαρδίου.

Η αύξηση του Ca^{++} στο κυτταρόπλασμα μειώνει το διαμεμβρανικό δυναμικό της μεμβράνης των μιτοχονδρίων ($\Delta\psi$ m), προκαλώντας τη διάνοιξη των mPTP διαύλων. Ιόντα Ca^{++} αλληλεπιδρούν με της ηλεκτραρνητικές κεφαλές της καρδιολιπίνης και πιθανότατα αυτό έχει άμεσο αποτέλεσμα στην αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων, καθώς παράγονται υπεροξειδία που με τη σειρά τους προκαλούν τη διάνοιξη των mPTP διαύλων και οίδημα [62]. Φάρμακα που αναστέλλουν την διάνοιξη των mPTP διαύλων, όπως η κυκλοσπορίνη, βρέθηκε να περιορίζουν τη βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης σε ασθενείς μετά από bypass.

Οι βραδέως απενεργοποιούμενοι διάλυτοι νατρίου (Na_L) φαίνεται να είναι υπεύθυνοι για τη συσσώρευση Na^+ ενδοκυτταρικά καθ' όλη τη διάρκεια της επαναπόλωσης και πέραν αυτής. Η συσσώρευση αυτή Na^+ ενεργοποιεί την λειτουργία της αντίστροφης μορφής του ανταλλάκτη $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ ο οποίος απομακρύνει τα ιόντα Na^+ και τα ανταλλάσει με ιόντα Ca^{++} σε αναλογία 3:1, αντίστοιχα. Ένας από τους μηχανισμούς της αναστολής απενεργοποίησης των διαύλων Na^+ φαίνεται να σχετίζεται με την εξαρτώμενη από το σύμπλεγμα Ca^{++} /καλμοδουλίνης πρωτεϊνική κινάση δ (Ca/CaMKII δ), η οποία ενεργοποιείται από το H_2O_2 , και φωσφορυλιώνει τους διαύλους Na^+ εμποδίζοντας την απενεργοποίησή τους, αυξάνοντας έτσι το όψιμο ρεύμα νατρίου (I_{NaL}). Η φωσφορυλίωση μέσω H_2O_2 λαμβάνει χώρα στη θέση serine 287 και προϋποθέτει την καλή λειτουργία του σαρκοπλασματικού δικτύου [63]. Συγκεκριμένα, το σύμπλεγμα Ca/CaM ενώνεται με τη ρυθμιστική υπομονάδα του διαύλου, εκθέτοντας την καταλυτική υπομονάδα μετά από αλλαγή της στερεοδομής του. Ο διάλυλος παραμένει με τον τρόπο αυτό ανοικτός κατά την επαναπόλωση, επιφέροντας αύξηση του ενδοκυττάρου Ca^{++} μέσω του προαναφερόμενου μηχανισμού.

Το 2003 οι Pepys και Hirschfeld διατύπωσαν, πως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη δεν αντιπροσωπεύει μόνο το μέγεθος της βλάβης αλλά συμβάλλει ενεργά στην παθογένεσή της [64]. Βρέθηκε σε υψηλές τιμές στην ομάδα ελέγχου, με μεγαλύτερη διαφορά από την ομάδα ΑΙΠ στις 24 ώρες μετά την πρόκληση ισχαιμίας, συμβαδίζοντας με την αύξηση των καρδιακών ενζύμων και το μέγεθος της μυοκαρδιακής βλάβης των δύο ομάδων. Στην παρούσα μελέτη, η CRP μετεγχειρητικά δεν έδειξε κάποια συσχέτιση με την συχνότητα εμφάνισης ΚΜ.

Στο ισχαιμικό μυοκάρδιο, η δυσλειτουργία της αντλίας Na^+/K^+ έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση ιόντων K^+ στον εξωκυττάριο χώρο και την θετικοποίηση του δυναμικού ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης (Nernst equation). Η κατανάλωση διαύλων Na^+ οδηγεί σε ελάττωση της ταχύτητας εκπόλωσης και αγωγιμότητας του ερεθίσματος από κύτταρο σε κύτταρο. Η καθυστέρηση της αγωγιμότητας σε ισχαιμικά σημεία του μυοκαρδίου συνιστά μία από τις βασικές προϋποθέσεις για την εμφάνιση του φαινομένου της ανατομικής επανεισόδου [65], μηχανισμού ο οποίος συχνά ευθύνεται και για την πρόκληση ΚΜ.

Η διάρκεια της μυοκαρδιακής ισχαιμίας πριν την επαναιμάτωση φαίνεται από πρόσφατες κλινικές μελέτες να παίζει επίσης καθοριστικό ρόλο στα ευεργετικά αποτελέσματα της ισχαιμικής προετοιμασίας. Ο Kleinbongard και συν. δεν παρατήρησαν όφελος της ομάδας εφαρμογής ΑΙΠ έναντι της ομάδας ελέγχου σε διάρκεια ισχαιμίας ≤ 56 min, ενώ σε διάστημα 57-75 min και ≥ 76 min το όφελος της ομάδας ΑΙΠ ήταν εμφανώς μεγαλύτερο [66]. Ο μέσος χρόνος ισχαιμίας διά του αποκλεισμού της αορτής στη δική μας μελέτη ήταν >60 min και στις δύο ομάδες ασθενών, αν και στην ομάδα ΑΙΠ οι ασθενείς που είχαν μικρότερους χρόνους ισχαιμίας δεν είχαν επεισόδια ΚΜ.

Συμπερασματικά, η μείωση της βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και της συχνότητας εμφάνισης μετεγχειρητικής ΚΜ σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη και ΑΙΠ συνιστούν σημαντικούς δείκτες βελτίωσης της κλινικής έκβασης των ασθενών αυτών. Συγκεκριμένα, η ΑΙΠ μπορεί να ελαττώσει τις πρώιμες και όψιμες μετεγχειρητικές επιπλοκές, όπως η διαστολική δυσλειτουργία και η αποπληξία του μυοκαρδίου (stunning), η οξεία καρδιακή ή νεφρική ανεπάρκεια και τα θρομβοεμβολικά επεισόδια από εμμένουσα ΚΜ. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συνηγορούν στο ότι στόχος για τον περιορισμό της μυοκαρδιακής βλάβης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και της εμφάνισης μετεγχειρητικής ΚΜ είναι η μείωση της συσσώρευσης ενδοκυττάριου Ca^{++} και του οξειδωτικού στρες.

Κατά τη διάρκεια εκπόνησης της ερευνητικής εργασίας, αναρτήθηκαν τα έως τότε γνωστά αποτελέσματα στο 36ο διεθνές καρδιολογικό συνέδριο που πραγματοποιήθηκε στη

Θεσσαλονίκη τον Οκτώβριο του 2015 σε μορφή ανακοίνωσης (poster). Το Φεβρουάριο του 2016 κατατέθηκε περίληψη της εργασίας (abstract) προς αποδοχή στο ευρωπαϊκό συνέδριο European Society of Cardiology που θα πραγματοποιηθεί τον Αύγουστο του 2016 στη Ρώμη της Ιταλίας.

Παράρτημα 1

(MEAN±SD)	Control	RIPC	KS normality test	P value	
N (M/F)	18 (16/2)	49 (42/7)			
Age (years)	63.89±9.126	65.41±8.534	yes/Yes	0.5282	Unpaired t test
EF (%)	44.17±10.61	47.86±10.99	yes/No	0.1957	Mann Whitney test
Cross Clamp (min)	63.67±25.20	68.58±18.55	no /no	0.0536	Mann Whitney test
Total CPB (min)	98.06±28.09	102.4±28.39	yes/No	0.3955	Mann Whitney test
TnT ICU (ng/L)	329.2±124.2	500.1±248.9*	Yes /no	0.0150	Mann Whitney test
TnT6-8h Post-Op (ng/L) (N)	519.5±382.3 (14)	680.8±291.1* (13)	No/yes	0.0186	Mann Whitney test
TnT 18-24h Post-Op (ng/L) (N)	524.3±212.7 (18)	447.5±350.9* (33)	yes/no	0.0309	Mann Whitney test
TnT 48h Post-Op (ng/L) (N)	491.5±244.7 (17)	338.6±301.6** (29)	yes/no	0.0098	Mann Whitney test
TnT 72h Post-Op (ng/L) (N)	419.9±293.3 (9)	254.8±240.6* (25)	No/no	0.0213	Mann Whitney test
K+ (Pre-OP) Mmol/l	4.397±0.5055	4.376±0.5328	no/yes	0.9726	Mann Whitney test
CPK (Pre-OP) U/L	104.6±83.85	211.5±501.9	no/no	0.1270	Mann Whitney test
Creatinine (Pre-OP) mg/dl	1.107±0.2036	1.059±0.2582	Yes/no	0.1802	Mann Whitney test
Urea (Pre-OP) mg/dl	45.00±18.05	40.71±13.95	no/no	0.2581	Mann Whitney test
K+ (Post-OP) Mmol/l	4.521±0.4822	4.349±0.4621	no/no	NS	Mann Whitney test
CPK (Post-OP) U/L	609.4±549.3	680.7±728.5	no/no	0.9974	Mann Whitney test

Creatinine (Post-OP) mg/dl	1.148±0.3332	1.078±0.3020	no/no	0.2053	Mann Whitney test
Urea (Post-OP) mg/dl	46.95±23.89	38.3±19.82**	no/no	0.0061	Mann Whitney test
CRP (mg/dl) (N)	0.460±0.3203 (15)	0.3289±0.1863 (21)	no/yes	0.2635	Mann Whitney test
Left Atrium diameter (mm) (N)	38.6±3.7 (25)	39.68±5.828 (25)		(NS) 0.428	
Diabetes yes	4	17		0.329335	chi-square statistic
POAF yes	7	12		0.246428	chi-square statistic

Παράρτημα 2

Parameter	control	RI Pec	Normality test	P value	Statistic test
N	18	34			
PWD Pre Op (ms)	83,33±12,37	82,35±12,81	no/no	0,8495	Mann Whitney test
PWD Post Op (ms)	85,56±19,17	75,29±11,07*	No/no	0,01	
P-Q Pre Op (ms)	150,0±27,65	149,4±23,73	No/no	0,7339	
P-Q Post Op (ms)	150,0±37,10	150,0±25,70	No/no	0,5456	
Q-T Pre Op (ms)	395,6±35,35	382,9±46,22	No/no	0,1535	
Q-T Post Op (ms)	392,2±42,36	362,4±28,18**	Yes/no	0,0028	
Tp-Te Pre Op (ms)	76,67±14,14	74,12±14,38	No/no	0,3444	
Tp-Te Post Op (ms)	80,00±18,15	72,35±13,94	No/no	0,2673	
QRS Pre OP (ms)	104,4±22,29	86,47±16,86**	No/no	0,0011	
QRS Post OP (ms)	106,7±24,73	87,06±17,67**	No/no	0,0012	
QTc 120 min Pre OP (ms)	404,7±41,75	392,5±41,19	No/yes	0,3973	
QTc 120min Post OP (ms)	429,8±52,40	398,3±32,27**	Yes/yes	0,0099	Unpaired t test

ΠΗΓΕΣ – ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E, Ashley E, Vichare S, Di Salvo C, Kolvekar S, Hayward M, Keogh B, MacAllister RJ, Yellon DM, Effect of remote ischemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial, *Lancet* 2007;370(9587):575-579
2. Venugopal V, Hausenloy DJ, Ludman A, Di Salvo C, Kolvekar S, Yap J, Lawrence D, Bognolo J, Yellon DM, Remote ischemic preconditioning reduces myocardial injury in patients undergoing cardiac surgery with cold-blood cardioplegia: a randomised controlled trial, *Heart* 2009;95(19):1567-1571
3. Loykogeorgakis SP, Williams R, Panagiotidou AT, Kolvekar SK, Donald A, Cole TJ, Yellon DM, Deanfield JE, MacAllister RJ, Transient limb ischemia induces remote preconditioning and remote postconditioning in humans by a KATP-channel dependent mechanism, *Circulation* 2007;116(12):1386-1395
4. Rahman IA, Mascaro JG, Steeds RP, Frenneaux MP, Nightingale P, Gosling P, Townsend P, Townend JN, Green D, Bonser RS, Remote ischemic preconditioning in human coronary artery bypass surgery: from promise to disappointment?, *Circulation* 2010;122(1Suppl):S53-S59
5. Hausenloy et al., ERICCA: Remote ischemic preconditioning fails to improve CABG outcomes, *Healio Cardiology today*, San Diego, April 2015
6. United States of America, Baystate Medical Center, Effect of Remote Ischemic Preconditioning on Incidence of Atrial Fibrillation in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery, *Clinical Trials.gov*, July 2013, NCT01500369
7. Norwegian University of Science and Technology, Clinical Value of Remote Ischemic Preconditioning, October 2013, Study ID Number 2011/2525
8. Simopoulos V, Tagarakis G, Daskalopoulou S, Daskalopoulos M, Lenos A, Chryssagis K, Skouleringis I, Molyvdas P, Tsilimingas N, Aidonidis I, Ranolazine enhances the antiarrhythmic activity of amiodarone by accelerating conversion of new-onset atrial fibrillation after cardiac surgery, *Angiology* 2014 Apr;65(4):294-7
9. Tagarakis G, Aidonidis I, Daskalopoulou S, Simopoulos V, Liouras V, Daskalopoulos M, Parisi C, Papageorgiou K, Skouleringis I, Triposkiadis F, Molyvdas P, Tsilimingas N,

- Effect of ranolazine in preventing postoperative atrial fibrillation in patients undergoing coronary revascularization surgery, *Curr Vasc Pharmacol* 2013 Nov;11(6):988-91
10. Li-Jun J, Xue-Yin L, Cong-Xin H, Bo Y, Sha-Ning Y, Gang W, Qiang X, Huang-Jun L, Electrophysiologic characteristics of the crista terminalis and implications on atrial tachycardia in rabbits, *Cell Biochem Biophys* 2012 Mar;62(2):267-71
 11. Holmes A, Yu T, Kuhlmann S, Syeda F, Fabritz L, Kirchhof P, YIA3 Regional Action Potential Gradients in the Murine Left Atrium, *Heart* 2015;101:A123
 12. Inoue I, Nagase H, Kishi K, Higuti T, ATP-sensitive K⁺ channel in the mitochondrial inner membrane". *Nature* July 1991;352 (6332): 244–7
 13. Szabó I, Zoratti M, The mitochondrial permeability transition pore may comprise VDAC molecules, binary structure and voltage dependence of the pore, *FEBS letters* 1993;330(2): 201–205
 14. Baines CP, Kaiser RA, Sheiko T, Craigen WJ, Molkentin JD, Voltage-dependent anion channels are dispensable for mitochondrial-dependent cell death, *Nature Cell Biology* 2007;9(5): 550–55
 15. Kokoszka, JE, Waymire KG, Levy SE, Sligh JE, Cai J, Jones DP, MacGregor GR, Wallace DC, The ADP/ATP translocator is not essential for the mitochondrial permeability transition pore, *Nature* 2004;427(6973): 461–465
 16. Varanyuwatana P, Halestrap AP, The roles of phosphate and the phosphate carrier in the mitochondrial permeability transition pore, *Mitochondrion* 2012;12(1):120–125
 17. Green, DR, Reed JC, Mitochondria and apoptosis, *Science* 1998 Aug 28;281(5381):1309-12
 18. Sileikyte J, Petronilli V, Zulian A, Dabbeni-Sala F, Tognon G, Nikolov P, Bernardi P, Ricchelli F, Regulation of the Inner Membrane Mitochondrial Permeability Transition by the Outer Membrane Translocator Protein (Peripheral Benzodiazepine Receptor), *Journal of Biological Chemistry* 2010;286(2):1046–1053
 19. Bopassa JC, Michel P, Gateau-Roesch O, Ovize M, Ferrera R, Low-pressure reperfusion alters mitochondrial permeability transition, *AJP: Heart and Circulatory Physiology* 2005;288(6):H2750–H2755
 20. Gottlieb RA, Mitochondrial signalling in apoptosis: mitochondrial daggers to the breaking heart, *Basic Res Cardiol* 2003;98:242.
 21. Halestrap AP, Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die, *Biochem Soc Trans* 2006;34:232-7

22. Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ, Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes, *J Exp Med* 2000;192:1001-14
23. Sharov VG, Todor A, Khanal S, Imai M, Sabbah HN, Cyclosporine A attenuates mitochondrial permeability transition and improves mitochondrial respiratory function in cardiomyocytes isolated from dogs with heart failure, *J Mol Cell Cardiol* Jan 2007;42(1):150-158
24. Doggrell SA, The endothelin system and its role in acute myocardial infarction, *Expert Opin. Ther Targets* 2006;8(3):191–201
25. Rezvani M, Barrans J, Dai K, Liew C, Apoptosis-related genes expressed in cardiovascular development and disease: an EST approach , *Cardiovasc Res* 2000;45:621-29
26. Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M, The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis, *Ann Rev Physiol* 1998;60:619-42
27. Sawyer DB et al, Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure, *J Mol Cell Cardiol* 2002;34:379-88
28. Tsutsui H, Mitochondrial oxidative stress and heart failure, *Intern Med* 2006 45:809-13
29. Kowaltowski AJ, Vercesi AE, Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress, *Free Radical Biology & Medicine* 1999, Vol. 26, Nos. 3/4, pp463-471
30. Johnston WH, Latta H, Glomerular mesangial and endothelial cell swelling following temporary renal ischemia and its role in the no-reflow phenomenon, *Am J Pathol* 1977;89:153-166
31. Braunwald E, Kloner AR, Myocardial Reperfusion: A double-edged sword?, *J Klin Invest* November 1985;Volume 76:pps1713-1719
32. Ito BR et al, Reversibly injured postischemic canine myocardium retains normal contractile reserve, *Circ Res* 1987;61:834-46
33. Heusch G et al, Calcium responsiveness is regional myocardial short-term hibernation and stunning in the in situ porcine heart – inotropic responses to postextrasystolic potentiation and intracoronary calcium, *Circulation* 1996;93:1556-66
34. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschitzky JA, et al, Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002;106:2881-2883

35. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschitzky JA, et al, Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002;106:2881-2883
36. Marczak J, Nowicki R, Kulbacka J, Saczko J, Is remote ischaemic preconditioning of benefit to patients undergoing cardiac surgery?, *Interact Cardiovasc Thor Surg* 2012 May; 14(5):634 – 639
37. Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, Wendt D, Gedik N, Pasa S, Price V, Tsagakakis K, Neuhaeuser M, Peters J, Jakob H, Heusch G, Cardioprotective and prognostic effects of remote ischemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery : a single center randomised, double blind, controlled trial, *Lancet* 2013;382:597-604
38. Braunwald E, Kloner AR, Myocardial Reperfusion: A double-edged sword?, *J Klin Invest* November 1985;Volume 76:pps1713-1719
39. Derek J. Hausenloy* and Derek M. Yellon, Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application, *Cardiovascular Research* (2008) 79, 377–386
40. Schoemaker RG, van Heijningen CL, Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278:H1571-H1576
41. Wolfrum S, Nienstedt J, Heidbreder M, Schneider K, Dominiak P, Dendorfer A, Calcitonin gene related peptide mediates cardioprotection by remote preconditioning. *Regul Pept* 2005;127:217-224
42. Tanaka K, Kersten JR, Riess M, Opioid-induced cardioprotection, *Curr Pharm Des* 2014;20(36):5696-5705
43. McLeod CJ, Pagel I, Sack MN, The mitochondrial biogenesis regulatory program in cardiac adaptation to ischemia – a putative target for therapeutic intervention, *Trends Cardiovasc Med* 2005;15:118-23
44. Fridovich I, Superoxide dismutases, *Annu Rev Biochem* 1975;44:147-59
45. Fridovich I, Superoxide dismutases: defense against endogenous superoxide radical, *Ciba Found Symp*1978;(65):77-93
46. Kang YJ et al, Overexpression of metallothionein in the heart of transgenic mice suppresses doxorubicin cardiotoxicity, *J Clin Invest* 1997;100:1501-6
47. Kang YJ, The antioxidant function of metallothionein in the heart, *Prosc Soc Exp Biol Med* 1999;222:263-73

48. Song Y, Shryock JC, Wagner S, Maier LS, Belardinelli L, Blocking late sodium current reduces hydrogen peroxide-induced arrhythmogenic activity and contractile dysfunction, *J Pharm Exp Ther* 2006;Vol.318(1):214-222
49. Anzai K, Ogawa K, Ozawa T, Oxidative modifications of ion channel activity of ryanodine receptor, *Antioxid Redox Signal* 2000;2:35-40
50. Morris TE, Sulakhe PV, Sarcoplasmic reticulum Ca⁺⁺-pump dysfunction in rat cardiomyocytes briefly exposed to hydroxyl radicals, *Free Radic Biol Med* 1997;22(1-2):37-47
51. Franz T, Sirid G, Willibald W, Rudolf W. Dual method for the determination of peroxidase-activity and total peroxides -Iodide leads to a significant increase of peroxidase-activity in human sera. *Anal. Biochem.* 2003;316:147-53.
52. Allen et al, The role of Volatile Anesthetics in Cardioprotection: A systematic review, *Medical Gas Research* 2012;2:22
53. Ripoll C, Lederer WJ, Nichols CG, On the mechanism of inhibition of K_{ATP} channels by glibenclamide in rat ventricular myocytes, *J Cardiovasc Electrophysiol* Feb 1993;4(1):38-47
54. Candilio L., Malik A., Barnard M., Ariti C., DiSalvo C., Lawrence D., Hayward M., Yap J., Roberts N., Sheikh A., Kolvekar S., Hausenloy D., Yellon D., Effect of remote ischemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery: a randomized controlled clinical trial, *Heart.* 2015 Feb;101(3):185-92
55. Hausenloy D, Mwamure P, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E, Ashley E, Vichare S, DiSalvo C, Kolvekar S, Hayward M, Keogh B, MacAllister R, Yellon D, Effect of remote ischemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomized controlled trial, *Lancet* 2007;370:575-79
56. Venugopal V, Hausenloy D, Ludman A, DiSalvo C, Kolvekar S, Yap J, Remote ischemic preconditioning reduces myocardial injury in patients undergoing cardiac surgery with cold-blood cardioplegia: a randomized controlled trial, *Heart (London)* 2009;95:1567-71
57. Kleinbongard P, Neuhaeuser M, Thielmann M, Kottenberg E, Peters J, Jakob H, Heusch G, Confounders of cardioprotection by remote ischemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass grafting, *Cardiol* 2016;133:128-133
58. Rahman I, Mascaro J, Steeds R, Frenneaux M, Nightingale P, Gosling P, Townsend P, Townend P, Green D, Bonser R, Remote ischemic preconditioning in human coronary artery bypass surgery from promise to disappointment?, *Circulation* 2010;122:553-9

59. Simopoulos V, Tagarakis G, Hatziefthimiou A, Skoularigis I, Triposkiadis F, Trantou V, Tsilimingas N, Aidonidis I, Effectiveness of aldosterone antagonists for preventing atrial fibrillation after cardiac surgery in patients with systolic heart failure: a retrospective study, *Cin Res Cardiol.* 2015 Jan;104(1):31-7
60. Marin F, Domingo P, Roldan V, Arribas J, Ahumada M, Tornel P, Oliver C, Gomez-Plana J, Valdez M, Statins and Postoperative Risk of Atrial Fibrillation Following Coronary Artery Bypass Grafting, *Am J Cardiol* 2006, Volume 97, Issue 1, p55-p60
61. Yahiro E, Ideishi M, Wang LX, Urata H, Kumagai K, Arakawa K, Saku K, Reperfusion-induced arrhythmias are suppressed by inhibition of the angiotensin II type 1 receptor, *Cardiology* 2003;99(2):61-7
62. Kowaltowski AJ, Castilho RF, Vercesi AE, Mitochondrial permeability transition and oxidative stress, *FEBS Letters* 495(2001):12-15
63. Wagner S, Ruff HM, Weber SL, Bellmann S, Sowa T, Schulte T, Anderson ME, Grandi E, Bers DM, Backs J, Belardinelli L, Maier LS, Reactive oxygen species-activated Ca/Calmodulin kinase II δ is required for late Ina augmentation leading to cellular Na and Ca overload, *Circulation Research*, 2011;108:555-565
64. Pepys MB, Hirschfeld GM, C-reactive protein: a critical update, *J Clin Invest.* 2003 Jun 15;111(12):1805-1812
65. Dilaveris PE, Andrikopoulos GK, Metaxas G, Richter DJ, Avgeropoulou CK, Androulakis AM, Gialafos EJ, Michaelides AP, Toutouzas PK, Gialafos JE, Effects of Ischemia on P Wave Dispersion and Maximum P Wave Duration During Spontaneous Anginal Episodes, *Pacing and clinical electrophysiology* 1999, Volume 22, Issue 11, 1640-1647
66. Kleinbongard P, Neuhaeuser M, Thielmann M, Kottenberg E, Peters J, Jakob H, Heusch G, Confounders of cardioprotection by remote ischemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass grafting, *Cardiol* 2016;133:128-133