

Ο Αποπτωτικός Μηχανισμός, ως Στρατηγικός Στόχος, στη Θεραπεία της Καρδιακής Νόσου. Νέες Προοπτικές στην Θεραπεία

Α. ΤΣΙΠΗΣ,^{1,2}
Α.Μ. ΑΘΑΝΑΣΙΑΔΟΥ,¹
Γ. ΑΓΡΟΓΙΑΝΝΗΣ,¹
Ν. ΚΑΒΑΝΤΖΑΣ,¹
Π. ΑΘΑΝΑΣΙΑΔΟΥ,¹
Π. ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ-ΣΤΑΜΑΤΗ¹

¹ Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, Αθήνα,

² Καρδιολογικός Τομέας, Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο, Αθήνα

Λέξεις Ευρετηρίου:

Απόπτωση
Καρδιακή ανεπάρκεια
Στεφανιαία νόσος

Άγγελος Τσίπης

Καρδιολόγος

Διεύθυνση Επικοινωνίας:

Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο
Λεωφ. Συγγρού 356, 176 74 Καλλιθέα
Τηλ: +30 210 9493 000
E-mail: angelostsipis@gmail.com

Η γνώση και η ανάπτυξη των πολύπλοκων μηχανισμών της απόπτωσης, δημιούργησε τις βάσεις, για τη δημιουργία νέων θεραπευτικών σχημάτων που ανάλογα με τη νόσο, αποσκοπούν στο προγραμματισμένο θάνατο των κυττάρων-στόχων ή και ακόμα στην αποτροπή του. Επιπλέον, σε περιπτώσεις καρκινικών κυττάρων όπου έχει μελετηθεί εκτενώς η συσχέτιση του θεραπευτικού στόχου σε διάφορα αποπτωτικά επίπεδα, η αντιμετώπιση μπορεί να αποβλέπει στην επίτευξη της αυξημένης κυτταρικής ευαισθησίας σε άλλους κυτταροτοξικούς παράγοντες. Σήμερα, όσον αφορά τη θεραπεία, η επιστημονική έρευνα αποσκοπεί στο να εμποδίσει ή να δραστηριοποιήσει το φαινόμενο της απόπτωσης και με αυτόν τον τρόπο να επιβραδύνει την εξέλιξη της νόσου. Τα τελευταία δεκαπέντε χρόνια, έχει παρατηρηθεί μια ραγδαία εξέλιξη σε τομείς της βασικής έρευνας, που σχετίζεται με την θεραπεία της νόσου, μέσω ρύθμισης των μηχανισμών της απόπτωσης. Στην παρούσα φάση βρίσκονται σε εξέλιξη περισσότερες από 80 μελέτες σχετικές με την απόπτωση σε θεραπευτικό επίπεδο και επικεντρώνουν το ενδιαφέρον τους, κυρίως στην αντιμετώπιση διάφορων μορφών καρκίνου (πίνακας 1).

Ο βιολογικός ρόλος της απόπτωσης

Η απόπτωση είναι μια φυσιολογική διαδικασία σημαντική στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, στη διαφοροποίηση ή υποστροφή ιστών, στην ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος, στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος και στην ορμονοεξαρτώμενη οργανική ατροφία.¹ Στους ώριμους οργανισμούς απόπτωση παρατηρείται σε ιστούς με ταχεία αναγεννητική ικανότητα, όπως στα απορροφητικά και καλυκοειδή κύτταρα του βλεννογόνου του εντέρου καθώς και στα επιφανειακά επιδερμικά κύτταρα. Επιπλέον, παρατηρείται σε ιστούς που υπόκεινται σε ορμονική ρύθμιση μετά τη διακοπή του ορμονικού ερεθίσματος όπως στον προστάτη, το μαστό και τη μήτρα. Εμφανίζεται ακόμα και σε ιστούς που δεν παρουσιάζουν ταχεία αναγεννητική ικανότητα όπως στο ήπαρ, νεφρούς, πάγκρεας και καρδιά.²⁻⁴

Όσον αφορά τις διάφορες παθολογικές καταστάσεις, παρατηρείται μια διαταραγμένη απόπτωση και αφορά την εμπλοκή ή την υπερδραστηριοποίηση του φαινομένου. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το μη ελεγχόμενο πολλαπλασιασμό ανεπιθύμητων κυττάρων ή αντιθέτως μία σημαντική απώλεια κυττάρων με συνέπεια τη δυσλειτουργία ιστών και οργάνων. Έτσι, στην περίπτωση του AIDS, σε εκφυλιστικές παθήσεις του νευρικού συστήματος, όπως στην νόσο του Alzheimer και του Parkinson, καθώς και σε παθολογικές καταστάσεις της καρδιάς, παρατηρείται μια αυξημένη δραστηριότητα της απόπτωσης ενώ, στις αυτοανοσοποιητικές παθήσεις, στις νεοπλασίες και σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις εμφανίζεται μειωμένη ικανότητα μερικών κυτταρικών πληθυσμών να αυτοκαταστραφούν (πίνακας 2).^{5,6}

Γενετικοί και μοριακοί μηχανισμοί της απόπτωσης

Η κατανόηση της αποπτωτικής διαδικασίας και η σταδιακή και συνεχής διερεύνηση των αποπτωτικών πρωτεϊνών, δημιούργησε νέους θεραπευτικούς στόχους. Το φαινόμενο της απόπτωσης διαιρείται σε 4 φάσεις, καθεμία από τις οποίες αποτελεί πεδίο μελέτης και κατευθύνει τη θεραπευτική στρατηγική. I) Φάση σηματοδότησης, όπου η έναρξη του φαινομένου της απόπτωσης εξαρτάται από μια σειρά εξωκυτταρικών και εσωκυτταρικών ερεθισμάτων. II) Φάση εκτέλεσης όπου ενεργοποιείται ο καταρράκτης των κασπασών και διαταράσσεται η λειτουργία της μιτοχονδριακής μεμβράνης.⁷ Σε αυτό το σημείο διακρίνουμε α) την οδό των υποδοχέων, όπου τα αποπτωτικά ερεθίσματα ενεργοποιούν ειδικούς παράγοντες «θανάτου» (death protomoting ligand) όπως την πρωτεΐνη FasL, τον παράγοντα TNFα (tumor necrosis factor) και τον παράγοντα TRIAL (tumor necrosis factor related apoptosis induced ligand) που αλληλεπιδρούν με τους αντίστοιχους υποδοχείς όπως Fas, TNF-R, DR 4/5.⁸ β) την οδό των μιτοχονδρίων, που προβλέπει την εμπλοκή μιας σειράς από πρωτεΐνες κωδικοποιημένες από τα γονίδια Bcl-2 στα οποία παίρνουν μέρος ενεργοποιητές όπως Bax, Bad, Bak, Bid, Bik, Bcl-x_s (επονομαζόμενα γονίδια του θανάτου) ή απενεργοποιητές της απόπτωσης, όπως Bcl-2, Bcl-x_l, Bcl-w, Bag-1, MCL-1, A-1 (επονομαζόμενα γονίδια της επιβίωσης).^{9,10} Αυτές οι πρωτεΐνες εντοπίζονται στην εξωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου, μετά την επίδραση ειδικών ερεθισμάτων όπως η έλλειψη των παραγόντων αύξησης, το οξειδωτικό stress, μεταβάλλουν τη διαπερατότητα της μεμβράνης, επηρεάζουν την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και προκαλούν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος C στο κυτταρόπλασμα. Αυτό σχηματίζει σύμπλεγμα με τον αποπτωτικό παράγοντα ενεργοποίησης των πρωτεασών-1 (Araf-1, apoptic protease activating factor-1) και την κασπάση 9. Το σύμπλεγμα κυτοχρώματος C, Araf-1 και κασπάσης 9 συχνά αναφέρεται ως αποπτώσωμα, ενεργοποιεί την κασπάση 3 και πυροδοτεί τον πρωτεολυτικό καταρράκτη των κασπασών.¹¹ Είναι αξιοσημείωτο να παρατηρήσει κανείς πώς η οδός των μιτοχονδρίων και η οδός των υποδοχέων διασταυρώνονται σε διάφορα επίπεδα. Οι κασπάσες που έχουν ενεργοποιηθεί από την οδό των υποδοχέων μπορούν να ανασταλούν στο επίπεδο της κασπάσης 8 είτε λόγω της επιρροής της οδού των μιτοχονδρίων είτε από την επιρροή άλλων πρωτεϊνών με αντιαποπτωτική δράση. III) Δομικές αλλαγές και αποδόμηση του DNA IV).

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Ενδεικτικές κλινικές μελέτες – θεραπευτικοί στόχοι της απόπτωσης

ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΣΤΟΧΟΣ	ΑΝΤΙΔΡΩΝ ΜΟΡΙΟ	ΝΟΣΟΣ	ΣΤΑΔΙΟ
ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΘΑΝΑΤΟΥ			
Υποδοχείς TRIAL	HGS-ETR1	Διάφορες μορφές καρκίνου	Φάση 1-φάση 2
TNF	Infliximab (Remicade), Enbrel (Etanercept)	Αντιφλεγμονώδη δράση. Ρευματοειδή αρθρίτιδα, Νόσος Crohn	Έγκριση FDA
ΚΑΣΠΑΣΕΣ			
Παν-κασπάσες	IDN-6556	Ηπατική βλάβη σε περιπτώσεις HBV, HCV	Φάση 2
Κασπάση 1	IDN-6734	Οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου	Φάση 1
Κασπάση 3	IDN-11104	Ρευματοειδή αρθρίτιδα	Φάση 1
Κασπάση 6	M-826	Νόσος Huntington's disease	Προκλινικό
Κασπάση 9	Immunocasp-6	Καρκίνος HER2 (+)	Προκλινικό
	FKBP12/caspase-9 fusion protein	Αντι-αγγειογενετική δράση	Προκλινικό
IAPs & SMAC		Διάφορες μορφές καρκίνου	Προκλινικό-φάση 1
Bcl-2			
Ανταποπτωτικά μόρια	Genasense	Μελάνωμα, μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα, χρόνια λεμφογενής λευχαιμία	Φάση 3
Προαποπτωτικά μόρια		Διάφορες μορφές καρκίνου	Προκλινικό
P53			
	SCH58500	Καρκίνος ωθηκών	Φάση 3
	ONYX-015	Ακανθοκυτταρικόκαρκίνωμα	Φάση 3

Αναγνώριση και φαγοκυττάρωση του κυττάρου

Παρατηρεί κανείς, μια δαιδαλώδη σειρά από πρωτεϊνικά φαινόμενα άριστα συνδεδεμένα μεταξύ τους σε διάφορα επίπεδα, όπου η δυσλειτουργία ενός σημείου μπορεί να επηρεάσει όλη τη διαδικασία της απόπτωσης αλλά και μια σειρά από μηχανισμούς άμυνας ικανούς να στηρίξουν την εξέλιξη του φαινομένου. Η θεραπευτική αντιμετώπιση συναντά ένα ευρύ πλαίσιο πιθανών στόχων και ανάλογα με το χαρακτήρα της νόσου αποσκοπεί στην παρεμπόδιση ή τη δραστηριοποίηση της απόπτωσης.

Απόπτωση και καρδιαγγειακά νοσήματα

Τα μυοκαρδιακά κύτταρα διαθέτουν μια περιορισμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού, με αποτέλεσμα το φαινόμενο της απόπτωσης να παρατηρείται σπανίως στον καρδιακό ιστό των ενήλικων. Αντίθετα, κατά την διάρκεια της οργανογένεσης και κατά το σχηματισμό της καρδιάς η απόπτωση παίζει ένα σημαντικό ρόλο, όπως για παράδειγμα στο σχηματισμό του διαφράγματος μεταξύ των καρδιακών κοιλοτήτων

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Απόπτωση και Νόσος	
ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΑΠΟΠΤΩΣΗ	ΣΤΑΔΙΟ
<ul style="list-style-type: none"> • ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ Λεμφώματα Λευχαιμίες Καρκινώματα με μεταλλάξεις p53 Ορμονοεξαρτώμενοι Όγκοι (καρκίνος μαστού, προστάτη, ωθηκίων) • ΑΥΤΟΑΝΟΣΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ Αυτοάνοσο λεμφουπερπλαστικό σύνδρομο Συστηματικός ερυθματώδης λύκος Σπειραματονεφρίτιδα από ανοσοσυμπλέγματα • ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ Νόσος του Graves Θυρεοειδίτιδα Hashimoto Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 Οστεοπόρωση • ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ Ερπητοϊοί Iai Pax Αδενοϊοί Διαταραχές ανάπτυξης 	<ul style="list-style-type: none"> • AIDS • ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ Νόσος Alzheimer Νόσος Parkinson Νόσος Huntington Μελαχρωματική αμφιβληστροειδοπάθεια Παρεγκεφαλιδική εκφύλιση • ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ Απλαστική αναιμία • ΙΣΧΑΙΜΙΑ Έμφραγμα μυοκαρδίου Εγκεφαλικό επεισόδιο • ΗΠΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΑΠΟ ΤΟΞΙΝΕΣ αλκοόλ • ΆΛΛΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ Θυρεοειδίτιδα Hashimoto Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου I Ελκώδης κολίτιδα Νόσος Wilson

και των βαλβίδων. Η απόπτωση αποτελεί κυρίαρχο χαρακτηριστικό της αναδιαμόρφωσης (remodeling) των αγγείων που λαμβάνει χώρα είτε σε φυσιολογικές (οργανογένεση και ανάπτυξη του οργανισμού) είτε σε παθολογικές καταστάσεις (τραυματισμούς και αθηροσκλήρωση).^{12,13} Καθοριστική είναι η συμβολή της στο σχηματισμό, την αστάθεια και ρήξη της αθηρωματικής πλάκας, αλλά και στη δημιουργία θρόμβου.¹³ Το έμφραγμα του μυοκαρδίου έχει ως κύριο χαρακτηριστικό τη νέκρωση των μυοκαρδιακών κυττάρων. Στις περιπτώσεις οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου παρατηρούνται και τα δύο είδη κυτταρικού θανάτου, με την απόπτωση να αφορά, κυρίως, τις περιοχές «κινδύνου», οι οποίες εντοπίζονται στα όρια μεταξύ της κεντρικής περιοχής νέκρωσης και των απομακρυσμένων περιοχών των υγιών μυοκυττάρων.^{14,15} Στην κεντρική περιοχή της ισχαιμίας μπορεί να παρατηρηθεί απόπτωση κυρίως τις πρώτες έξι ώρες, ενώ στην παρατεταμένη ισχαιμία, όπως στις 6 – 24 ώρες από την έναρξη της ισχαιμίας επικρατεί κυρίως η νέκρωση των κυττάρων. Η επαναιμάτωση, ενώ μπορεί να περιορίσει την απόπτωση των κυττάρων που οφείλεται σε ισχαιμία, ωστόσο η ίδια από μόνη της αυξάνει το ρυθμό απόπτωσης των κυττάρων στις περιοχές επαναιμάτωσης.¹⁶ Οι τεχνικές επαναιμάτωσης, φαρμακολογικές και καθετηριασμός, αποτελούν τη βασική αντιμετώπιση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, ενώ η αντιαποπτωτική αντιμετώπιση θα μπορούσε να προλαμβάνει και να ελαχιστοποιεί τις βλάβες που προ-

έρχονται από τη διαδικασία της επαναιμάτωσης.¹⁷ Η σταδιακή απώλεια των μυοκαρδιακών κυττάρων, που οφείλεται στην απόπτωση αποτελεί βασικό αιτιολογικό παράγοντα της καρδιακής ανεπάρκειας.^{18,19} Πιο συγκεκριμένα περίπου 80-250 μυοκαρδιακά κύτταρα σε ένα πληθυσμό αποτελούμενο από 10⁵ κύτταρα οδηγούνται σε απόπτωση οποιαδήποτε χρονική περίοδο στην διατατική μυοκαρδιοπάθεια τελικού σταδίου. Αντίθετα παρατηρείται ότι περίπου 1-10 μυοκαρδιακά κύτταρα σε ένα πληθυσμό αποτελούμενο από 10⁵ κύτταρα οδηγούνται σε απόπτωση στις περιπτώσεις χωρίς καρδιακή νόσο.²⁰ Αν και ο ρυθμός απόπτωσης των μυοκαρδιακών κυττάρων είναι μικρός σε απόλυτες τιμές στις περιπτώσεις καρδιακής ανεπάρκειας, ωστόσο παραμένει σημαντικά υψηλός σε σχέση με τις περιπτώσεις χωρίς καρδιακή νόσο.¹⁹ Μελέτες σε γενετικά μεταλλαγμένα ποντίκια ανέδειξαν ότι ακόμα και χαμηλά επίπεδα απόπτωσης, της τάξεως 4-10 φορές μικρότερη σε σχέση με τον άνθρωπο, είναι ικανά να οδηγήσουν σε τελικά στάδια της διατατικής μυοκαρδιοπάθειας (πίνακας 3).²¹

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Καρδιακές παθήσεις και εμπλοκή της αποπτωτικής διαδικασίας. (Bennett RM. Apoptosis in the cardiovascular system. Heart 2002; 87: 480-487).

ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ
<ul style="list-style-type: none"> • Ιδιοπαθής διατατική μυοκαρδιοπάθεια • Ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια • Οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου • Αρρυθμιόγόνος μυοκαρδιοπάθεια της δεξιάς κοιλίας • Μυοκαρδίτιδα
ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΓΩΓΗΣ
<ul style="list-style-type: none"> • Σύνδρομο προδιέγερσης • Συγγενής καρδιακός αποκλεισμός • Σύνδρομο μακρού QT
ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ
<ul style="list-style-type: none"> • Αθηρομάτωση • Επαναστένωση μετά αγγειοπλαστική • Σχηματισμός ανευρύσματος

Μελέτες και θεραπευτικοί στόχοι στο καρδιαγγειακό σύστημα

α) Ο IGF-1 (ινσουλινο-εξαρτώμενος αυξητικός παράγοντας 1) εμπλέκεται ενεργά στη ρύθμιση της απόπτωσης και παρεμποδίζει την ενεργοποίηση του μηχανισμού σε συνθήκες ισχαιμίας και εμφράγματος του μυοκαρδίου. Ο κύριος μηχανισμός δράσης του είναι μέσω του παράγοντα Akt (πρωτεϊνική κινάση B) και της απενεργοποίησης του προ-αποπτωτικού Bax και της κασπάσης 3. Η αυξημένη έκφραση του IGF-1 και Akt μείωσε την έκταση της εμφραγματικής περιοχής σε πειραματικά μοντέλα.²²

β) Οι πρωτεΐνες θερμικής καταπληξίας (HSP) είναι απαραίτητες για τη διατήρηση των κυτταρικών λειτουργιών, καθώς εμποδίζουν τη λανθασμένη αναδίπλωση των νεοσυντιθέμενων πολυπεπτιδικών αλυσίδων και τη δημιουργία συσσωματωμάτων. Η έκφραση τους αυξάνει κάτω από στρεσογόνες συνθήκες, όπως η ισχαιμία και η αύξηση της θερμοκρασίας. Πρόσφατες μελέτες ανέδειξαν ότι οι HSP επιπλέον ασκούν ρυθμιστικό ρόλο, παρεμποδίζοντας τη διαδικασία της απόπτωσης σε συνθήκες ισχαιμίας και αποτελούν μηχανισμό άμυνας των μυοκαρδιακών κυττάρων.^{23,24} Ο HSP 70 αποτρέπει την απελευθέρωση του κυτοχρώματος C καθώς και το σχηματισμό της κασπάσης 3.^{22,25} Οι πρωτεΐνες θερμικής καταπληξίας HSP 60 σταθεροποιούν τις προαποπτωτικές πρωτεΐνες Bcl-2 και ταυτόχρονα παρεμποδίζουν την κυτταροπλασματική ωρίμανση των κασπασών στις ζώνες υψηλού κινδύνου που περιβάλλουν την εμφραγματική περιοχή. Μέσω της γενετικής μηχανικής και γενετικά τροποποιημένων ιών, όπως ιούς Herpes Simplex και αδενοϊούς, επιτεύχθηκε η γονιδιακή μεταφορά και η αυξημένη έκφραση των HSP σε πληθυσμούς μυοκαρδιακών κυττάρων.^{26,27}

γ) Οικογένεια αποπτωτικών παραγόντων bcl-2. Η οικογένεια των πρωτεϊνών Bcl-2 αποτελείται από προαποπτωτικούς και αντιαποπτωτικούς παράγοντες, ενώ η υπεροχή της μιας ομάδας έναντι της άλλης μπορεί να είναι καθοριστική για την επιβίωση του κυττάρου. Αυξημένη έκφραση του Bcl-2 ανεδείχθη στα υγιή μυοκύτταρα της ζώνης κινδύνου που περιβάλλει την ισχαιμική περιοχή, σε περιπτώσεις οξέος εμφράγματος, ενώ δεν ανευρέθηκε στα υγιή μυοκύτταρα στις περιπτώσεις παλαιού εμφράγματος.^{28,29} Θετική έκφραση του p53 και bax παρατηρήθηκε στην κεντρική περιοχή ισχαιμίας και επιπλέον χαμηλή έκφραση στα υγιή μυοκύτταρα της ζώνης κινδύνου που περιβάλλει την ισχαιμική περιοχή σε περιπτώσεις οξέος εμφράγματος.²⁸ Αυξημένη έκφραση του p53 και bax παρατηρήθηκε στα υγιή μυοκύτταρα του παλαιού εμφράγματος. Σε περιπτώσεις οξείας ισχαιμίας τίθενται σε δράση οι αντιαποπτωτικοί παράγοντες που αποτελούν μηχανισμούς άμυνας και επιβίωσης του μυοκαρδιακού κυττάρου. Σε αντίθεση στη χρόνια ισχαιμία υπερισχύουν οι προαποπτωτικοί παράγοντες, πιθανώς, γιατί εξαντλούνται τα ενεργειακά αποθέματα και οι μηχανισμοί άμυνας του κυττάρου. Επομένως, η υπεροχή των αντιαποπτωτικών ή προαποπτωτικών παραγόντων παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση του μυοκυττάρου ή στην επιτάχυνση της κυτταρικής βλάβης μετά την εφαρμογή ισχαιμικών ερεθισμάτων.²⁸ Η στρατηγική της θεραπευτικής επιλογής στο να συμβάλλει στην υπεροχή των αντιαποπτωτικών ή

προαποπτωτικών παραγόντων bcl-2 αποτελεί πραγματικό δίλημμα στα πειραματικά μοντέλα και την κλινική πράξη, αφού οι δυο οδοί είναι άριστα συνδεδεμένες και αλληλοεξαρτώμενες.

δ) Αναστολείς των κασπασών. Ο πρωτεολυτικός καταρράκτης των κασπασών αποτελεί την τελική πράξη της αποπτωτικής διαδικασίας.³⁰ Οι κασπάσες αποτελούν ενδονουκλεάσες οι οποίες είναι υπεύθυνες για τον τεμαχισμό του ενδοπυρηνικού DNA. Η οικογένεια αναστολέων της απόπτωσης IAP (Inhibitors of Apoptosis) μπορεί να αναστείλει άμεσα ή έμμεσα τις κασπάσες. Αυτές οι πρωτεΐνες μπορούν να δράσουν και στο επίπεδο μεταξύ κασπασών και θρυμματισμού του DNA. Τα μέλη XIAP, IAP1, IAP2, NIAP αναστέλλουν άμεσα τις κασπάσες 3,7,9. Η πρωτεΐνη Smac/Diablo συνδεδεμένη με τα μέλη της οικογένειας IAP οδηγεί στην αναστολή τους με αποτέλεσμα την επαγωγή της απόπτωσης.³⁰ Η χρήση συνθετικών μοντέλων, όπως των αναστολέων της απόπτωσης αποτελεί σημαντική πρόκληση σε θεραπευτικό επίπεδο. Ένας από τους παράγοντες όπου έχει μελετηθεί εκτενώς είναι ο Zvad-FMK.²² Ο παράγοντας αυτός ασκεί ευρεία δράση προς μια εκτενή σειρά κασπασών, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι ελαχιστοποιεί την μυοκαρδιακή βλάβη μετά από ισχαιμία-επαναιμάτωση.^{31,32} Ωστόσο, έχει αποκλεισθεί η κλινική του εφαρμογή γιατί φαίνεται ότι παράλληλα αυξάνεται υπερβολικά το οξειδωτικό φορτίο. Το παραπάνω δεδομένο οδήγησε στη μελέτη αναστολέων της κασπάσης με εκλεκτική δράση όπως των αναστολέων της κασπάσης 1, 3, 8, και 9 όπου παρατηρήθηκε μείωση της εμφραγματικής περιοχής.^{31,32} Αξίζει να σημειωθεί, ότι για να επιτευχθεί το μέγιστο θεραπευτικό αποτέλεσμα πρέπει να ορισθεί η κατάλληλη χρονική στιγμή χορήγησης, όπως για παράδειγμα, στην πρώιμη φάση της επαναιμάτωσης.³³

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Πιθανοί ενεργοποιητές και αναστολείς του αποπτωτικού σήματος στα μυοκαρδιακά κύτταρα. (Bennett RM. Apoptosis in the cardiovascular system. Heart 2002; 87: 480-487).

ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟ ΕΡΕΘΙΣΜΑ	ΟΔΟΣ	ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ
Ισχαιμία/επαναιμάτωση	ERK/SAPK	Ενεργοποίηση ERK/ αναστολή SAPK
Αύξηση μεταφορίου	ERK/SAPK	
Νευρορμονικοί παράγοντες (κατεκολαμίνες)	G πρωτεΐνες	β-αναστολείς
Ισχαιμία	Έλλειψη των παραγόντων αύξησης	Ενεργοποίηση των οδών Akt/ERK (IGF-1)
Υποκαταστάτες των υποδοχέων θανάτου	Μόρια προσαρμοστές / κασπάσες	ανταγωνιστές υποδοχέα / IAP / ανταγωνιστές κασπασών

ERK: Εξωκυττάρια εξαρτώμενη από το σήμα πρωτεϊνική κινάση, IAP: οικογένεια αναστολέων της απόπτωσης, SAPK: επαγόμενες από το στρες κινάσες

ε) Ασβέστιο. Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι η αύξηση των ελεύθερων ενδοκυτταρικών ιόντων Ca^{+2} προηγείται της απόπτωσης που προκαλείται από διάφορα ερεθίσματα, ενώ σε περίπτωση χαμηλής εξωκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{+2} η αποπτωτική διαδικασία ελαχιστοποιείται ή καθυστερεί σημαντικά. Τα ιόντα ασβεστίου δρουν σε πολλές περιοχές του κυττάρου, όπως στον κυτταροσκελετό, και ένζυμα που ενεργοποιούνται στην απόπτωση, όπως η τρανσγλουταμινάση εξαρτώνται από τα ιόντα Ca^{+2} για τη δράση τους. Επιπλέον οι κασπάσες απαιτούν ιόντα Ca^{+2} και ιόντα μαγνησίου Mg^{+2} για την ενεργοποίησή τους, ενώ η δράση τους καταστέλλεται από τα ιόντα Zn^{+2} . Τα ιόντα ασβεστίου συμβάλλουν επίσης στην ενεργοποίηση του προαποπτωτικού Bax, καθώς και στην απελευθέρωση του κυτοχρώματος ρυθμίζοντας τη διαπερατότητα των μιτοχονδρίων.^{34,35} Οι πολλαπλές λειτουργίες των ιόντων ασβεστίου στο εσωτερικό του κυττάρου τα καθιστούν ως στόχο της θεραπευτικής στρατηγικής. Οι ανταγωνιστές των διαύλων ασβεστίου, όπως η νιφεδιπίνη, μειώνουν το ρυθμό των κυττάρων που οδηγούνται σε απόπτωση.^{33,36,37} Από την άλλη πλευρά, οι β 1-2 αδρενεργικοί υποδοχείς εκφράζονται στον μυοκαρδιακό ιστό με διαφορετική λειτουργική δράση. Οι β1 ενεργοποιούν την απόπτωση και εμφανίζονται κυρίως στις μυοκαρδιακές βλάβες, ενώ οι β2 την παρεμποδίζουν. Έτσι οι β-αναστολείς σε περιπτώσεις καρδιακής ανεπάρκειας προφυλάσσουν τα κύτταρα από την αποπτωτική διαδικασία και βελτιώνουν την συσπαστικότητα.³⁸

ζ) Οξειδωτικό στρες. Το αυξημένο οξειδωτικό στρες και η κατακρήμνιση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών συνδέονται με την απόπτωση των μυοκαρδιακών κυττάρων σε περιπτώσεις γήρανσης, σε ισχαιμία, στις πρώτες στιγμές της επαναϊμάτωσης και γενικότερα στην καρδιακή ανεπάρκεια.³⁹ Διάφορα ενδογενή αντιοξειδωτικά μόρια, όπως γλουταθειόνη, γλουταθειόνη περοξιδάση, υπεροξειδίου δισμουτάση εντοπίζονται στα μυοκαρδιακά κύτταρα και προστατεύουν από το οξειδωτικό στρες και τη μυοκαρδιακή βλάβη. Πρόσφατες μελέτες ανέδειξαν ότι η μακροχρόνια χορήγηση προμπουκόλης σε πειραματικά μοντέλα μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου, είναι ικανή να μειώσει το οξειδωτικό στρες, παρεμποδίζει την ενεργοποίηση του Bax και της κασπάσης 3. Στην κλινική πράξη έχει αποδειχθεί ότι η καρβεντιλόλη και η προπρανολόλη διαθέτουν ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Επιπλέον, οι τοκοφερόλες (βιταμίνη Ε) έχουν κυτταροπροστατευτική ικανότητα που εκδηλώνεται μέσω της αντιοξειδωτικής τους δράσης, χωρίς όμως να υπερισχύει των ενδογενών αντιοξειδωτικών μηχανισμών.⁴⁰⁻⁴³

Συμπεράσματα

Η σημαντικότητα της απόπτωσης ως φυσιολογική διαδικασία στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, στη διαφοροποίηση των ιστών, αλλά και στους ώριμους οργανισμούς τη θέτει πλέον σε κύρια θέση του ερευνητικού ενδιαφέροντος που αφορά την αντιμετώπιση της νόσου. Η σημερινή γνώση γύρω από τους μηχανισμούς της απόπτωσης αποτελεί ενθαρρυντικό κίνητρο για την μελλοντική αντιμετώπιση της καρδιακής νόσου σε επίπεδο κυττάρου και επιπλέον για την αναμφίβολη συμβολή της στον έγκαιρο έλεγχο πριν ακόμα επιβαρυνθεί η λειτουργικότητα μεγάλων περιοχών του μυοκαρδιακού ιστού. Ο στόχος των αποπτωτικών θεραπειών πρέπει να αποβλέπει στη σταθεροποίηση των μιτοχονδριακών μεμβρανών και στη μείωση του οξειδοτικού φορτίου. Σίγουρα στην παρούσα φάση οι αντιαποπτωτικές θεραπείες δεν θα μπορούσαν να ελέγξουν από μόνες τους την καρδιακή νόσο, αλλά συμπληρωματικά με τις κλασικές θεραπείες θα ήταν ικανές να ισχυροποιήσουν τους μηχανισμούς άμυνας και να επιβραδύνουν την εξέλιξη της νόσου. Σε κάθε περίπτωση η ιδανική αντιμετώπιση θα ήταν η επιλογή της κατάλληλης στρατηγικής που θα αποσκοπούσε στην ρύθμιση περισσότερων στόχων σε διάφορα επίπεδα της ίδιας αποπτωτικής διαδικασίας.^{44,45}

Βιβλιογραφία

1. Kerr J.F.R. and Harmon B.V. Definition and incidence of apoptosis: an historical perspective. In: Apoptosis: the molecular basis of cell death, Tomei L.D. and Cope F.O. Eds, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1991; pp. 5-29.
2. Naruse I. and Keino H. Apoptosis in the developing CNS. Prog. Neurobiol. 1995; 47: 135-155.
3. Cohen J.J. and Duke R.C. Apoptosis and programmed cell death in immunity. Annu. Rev. Immunol. 1992; 10: 267-293.
4. Internet <http://panacea.med.uoa.gr>. ΙΑΣΠΙΣ. Ιδεώδες Ασκληπιακό Πάρκο Ιατρικής Σχολής.
5. Mallat Z. and Tedgui A. Current prospective on the role of apoptosis in atherothrombotic disease. Circ. Res. 2001; 88: 998-1003.
6. Fiorina P. Soluble antiapoptotic molecules and immune activation in chronic heart failure and unstable angina pectoris. J Clin Immunol. 2000; 20:101-106.
7. Green D, Kroemer G. The central executioners of apoptosis: caspases or mitochondria? Trends Cell Biol. 1998; 8: 267-271.
8. Nagata S. and Golstein P. Fas death factor. Science. 1995; 267: 1449-1456
9. Yang E. and Korsmeyer S.J. Molecular apoptosis: a discourse on the bcl-2 family and cell death. Blood. 1996; 88: 386-401.
10. Farrow S.N. and Brown R. New member of the bcl-2 family and their protein partners. Curr Opin Genet Dev. 1996; 6:45-49.

11. Earnshaw WC., Martins LM., Kaufmann SH. Mammalian caspases: Structure, activation, substrates and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem.* 1999; 68: 383-424.
12. Κατσίκη Ν, Χατζητόλιος Α, Άθυρος Β. Η συμβολή της απόπτωσης στην ανάπτυξη και αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας. *Αθηροσκληρώση.* 2007 Μάρτιος :10-14.
13. Walsh K., Smith RC., Kim HS. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis and plaque rupture. *Circ Res.* 2000; 87: 184-188.
14. Bennett RM. Apoptosis in the cardiovascular system. *Heart* 2002; 87: 480-487.
15. Saraste A., Pulkki K., Kallajoki M., et al. Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation.* 1997; 95:320-3.
16. Gottlieb RA., Bursleson KO., Kloner RA., et al. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest.* 1994; 94: 1621-8.
17. Kang MP and Izumo S. Apoptosis in heart: basic mechanisms and implications in cardiovascular diseases. *Trends in Molecular Medicine.* 2003; 9(4): 177-182.
18. Kang P. and Izumo S. Apoptosis and heart failure: A critical review of the literature. *Circ Res.* 2000; 86: 1107-1113.
19. Tsipis A., Athanassiadou AM., Athanassiadou P., Kavantzias N., Agrogiannis G., Patsouris E. Apoptosis-related factors p53, bcl-2 and the defects of force transmission in dilated cardiomyopathy. *Pathol Res Pract.* 2010; 206(9):625-30
20. Anversa P. and Kajstura J. Myocyte Cell Death in the Diseased Heart. *Circ Res.* 1998; 82: 1231-1233.
21. Wencker D., Chandra M., Nguyen K., Miao W., Garantziotis S., Factor SM., Shirani J., Armstrong RC., Kitsis RN. A mechanistic role for cardiac myocyte apoptosis in heart failure. *J Clin Invest.* 2003; 111: 1497-1504
22. Gill C., Mestrlil R., Samali A. Losing heart: the role of apoptosis in heart disease. A novel therapeutic target? *FASEB J.* 2002;16(2):135-46.
23. Jayakumar J., Suzuki K., Sammut IA., Smolenski RT., Khan M., Latif N., Abunasra H., Murtuza B., Amrani M., Yacoub MH. Heat shock protein 70 gene transfection protects mitochondrial and ventricular function against ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 2001; 104:1303-7.
24. Kamradt MC, Chen F, Cryns VL. The small heat shock protein α B-crystallin negatively regulates cytochrome c and caspase-8-dependent activation of caspase-3 by inhibiting its autoproteolytic maturation. *J Biol Chem.* 2001; 276: 16059-63.
25. Li C. Y., Lee J. S., Ko Y. G., Kim J. I., Seo J. S. Heat shock protein 70 inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release and upstream of caspase-3 activation. *J. Biol. Chem.* 2000; 275, 25665-25671
26. Coffin R. S., Howard M. K., Cumming D. V., Dollery, C. M., McEwan J., Yellon D. M., Marber M. S., MacLean A. R., Brown S. M., and Latchman, D. S. Gene delivery to the heart in vivo and to cardiac myocytes and vascular smooth muscle cells in vitro using herpes virus vectors. *Gene Ther.* 1996; 3, 560-566
27. Donahue J. K., Kikkawa K., Johns D. C., Marban E., and Lawrence, J. H. Ultrarapid, highly efficient viral gene transfer to the heart. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997;94, 4664-4668
28. Tsipis A, Athanassiadou AM, Athanassiadou P, Kavantzias N, Agrogiannis G, Patsouris E. Apoptosis related factors p53, bcl-2 in acute and chronic ischemic cardiac disorders. *Virchows Arch.* 2007;451(2):483-84.
29. Latif N, Khan MA, Birks E, O'Farrell A, Westbrook J, Dunn MJ, Yacoub MH. Upregulation of the Bcl-2 family of proteins in end stage heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:1769-1777.
30. Earnshaw WC., Martins LM., Kaufmann SH. Mammalian caspases: Structure, activation, substrates and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem.* 1999; 68: 383-424.
31. Yaoita, H., Ogawa, K., Maehara, K., and Maruyama, Y. Apoptosis in relevant clinical situations: contribution of apoptosis in myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 2000; 45, 630-641
32. Okamura, T., Miura, T., Takemura, G., Fujiwara, H., Iwamoto, H., Kawamura, S., Kimura, M., Ikeda, Y., Iwatate, M., and Matsuzaki, M. Effect of caspase inhibitors on myocardial infarct size and myocyte DNA fragmentation in the ischemia-reperfused rat heart. *Cardiovasc. Res.* 2000; 45, 642-650
33. Reeve JL., Duffy AM., O'Brien T., Samali A. Don't lose heart therapeutic value of apoptosis prevention in the treatment of cardiovascular disease *J Cell Mol Med.* 2005 Jul-Sep;9(3):609-22.
34. Chinnadurai G., Kuo TH. Modulation of mitochondrial Ca²⁺ homeostasis by Bcl-2. *J Biol Chem.* 1999; 274:33267-73.
35. Shimizu S., Konishi A., Kodama T., Tsujimoto Y. BH4 domain of antiapoptotic Bcl-2 family members closes voltage-dependent anion channel and inhibits apoptotic mitochondrial changes and cell death. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97: 3100-5.
36. Gao F., Gong B., Christopher TA., Lopez BL., Karasawa A., Ma XL. Anti-apoptotic effect of benidipine, a longlasting vasodilating calcium antagonist, in ischaemic/reperfused myocardial cells. *Br J Pharmacol.* 2001; 132: 869-78.
37. Liu HR., Gao F., Tao L., Yan WL., Gao E., Christopher TA., Lopez BL., Hu A., Ma XL. Antiapoptotic mechanisms of benidipine in the ischemic/reperfused heart. *Br J Pharmacol.* 2004; 142: 627-34.
38. Communal C., Singh K, Sawyer DB., Colucci WS. Opposing effects of β (1)- and β (2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis: role of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circulation* 1999; 100: 2210-2.
39. Oskarsson, H. J., Coppey, L., Weiss, R. M., and Li, W. G. Antioxidants attenuate myocyte apoptosis in the remote noninfarcted myocardium following large myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 2000; 45, 679-687
40. Jones SP., Hoffmeyer MR., Sharp BR., Ho YS., Lefer DJ. Role of intracellular antioxidant enzymes after in vivo myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 284: H277-82.
41. Sethi R., Takeda N., Nagano M., Dhalla NS. Beneficial effects of vitamin E treatment in acute myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2000; 5: 51-8.
42. Manson JE., Bassuk SS., Stampfer MJ. Does vitamin E supplementation prevent cardiovascular events? *J Womens Health (Larchmt)* 2003; 12: 123-36.
43. Gao F., Yao C.L., Gao E., Mo QZ., Yan WL., McLaughlin R., Lopez BL., Christopher TA., Ma XL. Enhancement of glutathione cardioprotection by ascorbic acid in myocardial reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002; 301:543-50.
44. García M., Carrasco E., Ramírez A., Jiménez G., López-Ruiz E., Perán M., Picón M., Campos J., Boulaiz H., Marchal JA. Apoptosis as a Therapeutic Target in Cancer and Cancer Stem Cells: Novel Strategies and Futures Perspectives. *Apoptosis and Medicine*, book Published: August 16, 2012. <http://www.intechopen.com>
45. Fischer U and Schulze-Osthoff K. Apoptosis-based therapies and drug targets. *Cell Death Differ.* 2005;12 Suppl 1:942-61.