

ΔΗΜΟΣΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΤΗΣ 29^{ΗΣ} ΜΑΪΟΥ 2003

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗ

Ο ρόλος της φωσφολαμβάνης στην καρδιακή ανεπάρκεια, υπό της κας Εύαγγελίας Κρανιά*, διὰ τοῦ Ἀντεπιστέλλοντος μέλους τῆς Ἀκαδημίας Ἀθηνῶν κ. Χαρισίου Μπουντούλα.

Εἶναι ἰδιαίτερη τιμὴ γιὰ μένα ποὺ μοῦ δίνεται ἡ εὐκαιρία νὰ παρουσιάσω στὴν Ἀκαδημία Ἀθηνῶν ἓνα μικρὸ μέρος ἀπὸ τὴν ἐρευνητικὴ δραστηριότητα τῆς κας Εὐαγγελίας Κρανιά, Καθηγήτριας καὶ Διευθύντριας τοῦ τμήματος Καρδιαγγειακῆς Βιολογίας καὶ Κυτταρικῆς Βιοφυσικῆς στὸ πολιτειακὸ Πανεπιστήμιο τῆς Cincinnati στὶς ΗΠΑ καὶ ἐρευνήτριας στὸ Ἴδρυμα Ἰατροβιολογικῶν Ἐρευνῶν τῆς Ἀκαδημίας Ἀθηνῶν.

Θὰ ἀναφερθῶ μόνο στὴν ἐρευνά της ποὺ ἔχει σχέση μετὰ τὴ φωσφολαμβάνη, διαταραχὲς τῆς ὁποίας δυνατὸν νὰ προκαλέσουν καρδιακὴ ανεπάρκεια, μιὰ ἀπὸ τὶς βαρύτερες παθήσεις τοῦ καρδιαγγειακοῦ συστήματος.

Εἶναι γνωστὸ ὅτι ἡ βιοϊατρικὴ ἐρευνα ἄρχισε μετὰ τὴν κλινικὴ παρατήρηση ποὺ ἦταν ἡ βάση γιὰ τὸν καθορισμὸ τῆς κλινικῆς εἰκόνας τῶν νοσημάτων. Τὸ παθολογοανατομικὸ ἐργαστήριο στὴ συνέχεια εἶχε μεγάλη συμβολὴ στὴ συσχέτιση τῶν ιστοπαθολογοανατομικῶν εὐρημάτων μετὰ τὴν κλινικὴ εἰκόνα. Ἡ εἰσαγωγὴ στὴν κλινικὴ πράξη τῶν διαφόρων ἀπεικονιστικῶν μεθόδων ἐπέτρεψαν τὴ συσχέτιση, ἐν ζωῇ, τῶν κλινικῶν φαινομένων μετὰ τὶς παθολογοανατομικὲς ἀλλοιώσεις. Παράλληλα, τὸ πειραματικὸ ἐργαστήριο βοήθησε στὴν κατανόηση παθοφυσιολογικῶν μηχανισμῶν διαφόρων νοσημάτων. Τέ-

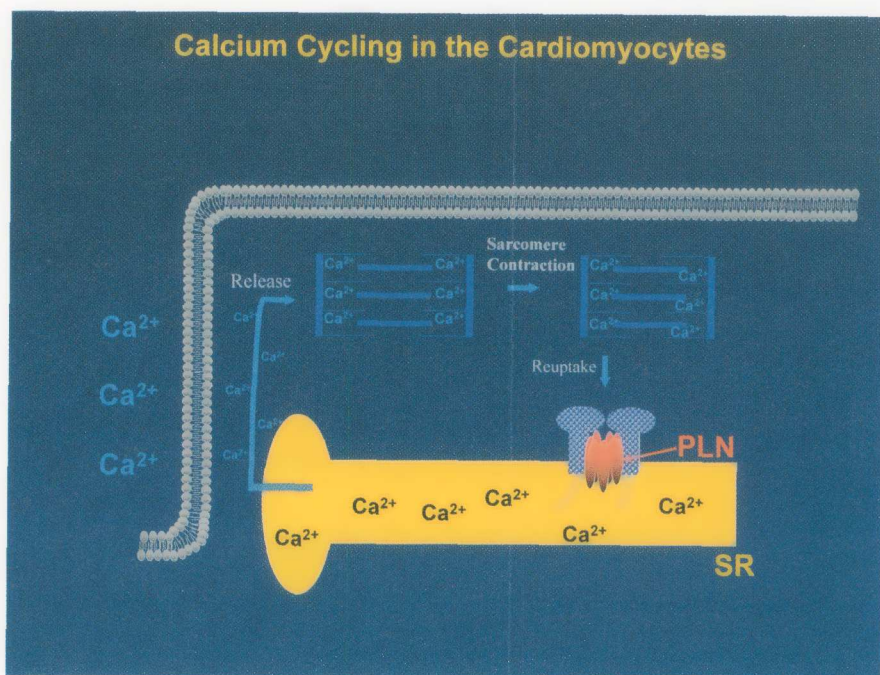
*EVANGELIA KRANIAS, *The role of Phospholamban in heart failure.*

λος, σημαντική ώθηση στην έρμηνεία των κλινικών φαινομένων έδωσε ή εισαγωγή, στην κλινική πράξη, τής μοριακής βιολογίας και τής γενετικής. Σήμερα, μπορούμε πλέον να προσδιορίσουμε άνωμαλίες σε γονιδιακό και μοριακό επίπεδο, άφου εΐμαστε σε θέση να μελετήσουμε τόσο τις πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα γονίδια, όσο και τή σχέση αυτών με μία συγκεκριμένη κλινική εικόνα. Η καρδιακή ανεπάρκεια δέν έχει αποτελέσει εξαίρεση αυτού του κανόνα.

Η καρδιακή ανεπάρκεια, όφειλεται σε δυσλειτουργία του μυοκαρδιακού κυττάρου, άποτελεί δέ μία από τις συχνότερες αιτίες άναπηρίας και θανάτου. Κύριες κλινικές εκδηλώσεις της εΐναι ή δύσπνοια και ή εύκολη κόπωση. Η πρόγνωση για τους άσθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια εΐναι πολύ κακή και σε όρισμένες μάλιστα περιπτώσεις χειρότερη από πολλές μορφές καρκίνου, άφου ή θνητότητα από αυτή σε μία πενταετία άνέρχεται στο 50% περίπου. Για τήν καρδιακή ανεπάρκεια όριστική θεραπεία δέν ύπάρχει και κατά συνέπεια όποιαδήποτε άγωγή θεωρείται παρηγορική. Για τους λόγους αυτούς κάθε νέα γνώση που άφορά τους παθογενετικούς μηχανισμούς ή τή θεραπεία της, θεωρείται έξοχος σημαντική. Πιστεύεται μάλιστα πως ή σύγχρονη έρευνα που κατευθύνεται σε μοριακό και γενετικό επίπεδο δά έχει ως αποτέλεσμα τήν πλήρη κατανόηση των λεπτών μηχανισμών που συμβάλλουν στην έγκατάσταση και τήν εξέλιξη τής καρδιακής ανεπάρκειας, καθώς και στην πρόληψη ή και στην όριστική θεραπεία αυτής.

Από πολλών έτών εΐχε καταστεί έμφανές ότι τó άσβέστιο διαδραματίζει πρωταρχικό ρόλο στη ρύθμιση τής συσταλτικότητας και τής χάλασης του μυοκαρδιακού κυττάρου. Η δράση του γνωστού καρδιοτονωτικού φαρμάκου π.χ. τής δακτυλίτιδας, που χρησιμοποιείται για περισσότερο από 200 χρόνια στην κλινική πράξη, όφειλεται στην ιδιότητά της να αύξάνει τήν πυκνότητα του ένδοκυττάρου άσβεστίου. Πρίν από τή συστολή τής καρδιάς, άσβέστιο άπελευθερώνεται από τó σαρκοπλασματικό δίκτυο (SR), δηλαδή τήν έσωτερική μεμβράνη του μυοκαρδιακού κυττάρου, με αποτέλεσμα τήν αύξηση τής πυκνότητας του ένδοκυττάρου άσβεστίου και τήν αύξηση τής συστολικής ικανότητας του μυοκαρδίου. Άμέσως μετά τή συστολή, τó άσβέστιο μεταφέρεται από τόν μυοκαρδιακό ένδοκυττάριο χώρο στη μεμβράνη, δηλαδή τó σαρκοπλασματικό δίκτυο με αποτέλεσμα τή χάλαση αυτού.

Ό πρωτεϊνικός παράγοντας φωσφολαμβάνη (PLN), ρυθμίζει τήν πυκνότητα του άσβεστίου στο μυοκαρδιακό κύτταρο και με αυτό τόν τρόπο καθορίζει



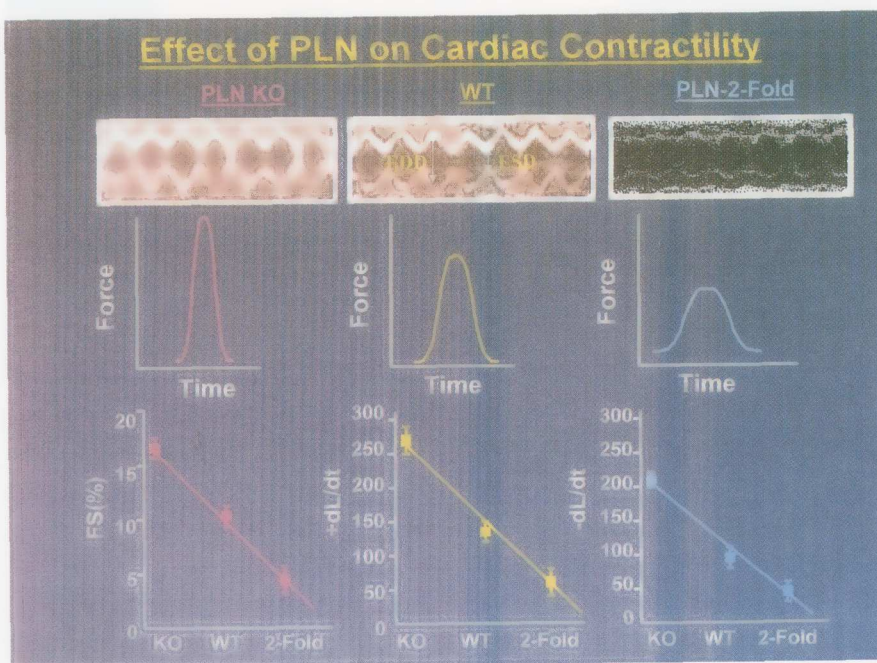
Σχήμα 1. Ανακύκλωση ασβεστίου (Ca²⁺) στα μυοκαρδιακά κύτταρα (σχηματική παράσταση). PLN = φωσφολαμβάνη, SR = sarcoplasmic reticulum.

τή συστολική και διαστολική λειτουργία της καρδιάς (σχήμα 1). Η κα Κρανια συνέβαλε όσο κανείς άλλος στην κατανόηση των μηχανισμών με τους οποίους η φωσφολαμβάνη ρυθμίζει την ομοιόσταση του ασβεστίου στο μυοκαρδιακό κύτταρο και συνεπώς τη λειτουργία αυτού. Οι μελέτες της αφορούσαν τη δράση της φωσφολαμβάνης σε μεμβράνη μεμονωμένων μυοκαρδιακών κυττάρων, μεμονωμένες καρδιές, γενετικά τροποποιημένα ζώα και ανθρώπους.

Η κα Κρανια απέδειξε για πρώτη φορά, σε μεμονωμένα κύτταρα ότι η φωσφολαμβάνη συμβάλλει στη μεταφορά του ασβεστίου από το μυοκαρδιακό κύτταρο στην κυτταρική μεμβράνη. Αργότερα σε μεμονωμένες καρδιές από ποντίκια και κουνέλια καθόρισε ότι οι κατεχολαμίνες αυξάνουν τη φωσφοριλίωση της φωσφολαμβάνης και ελαττώνουν τη δραστηριότητα αυτής. Η ελάττωση της δραστηριότητας της φωσφολαμβάνης επιταχύνει την ανακύκλωση του ασβεστίου από το μυοκαρδιακό κύτταρο στην κυτταρική μεμβράνη και το αντίστροφο. Η

ταχεία αυτή ανακύκλωση του άσβεστιού συντελεί στην αύξηση της συσταλτικότητας και της χάλασης του μυοκαρδίου.

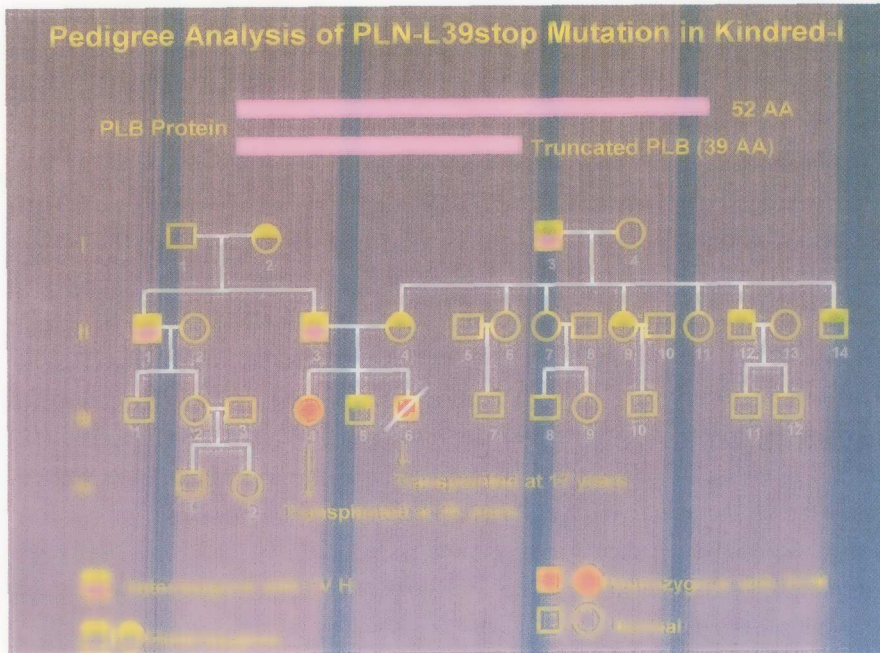
Για την καλύτερη μελέτη της λειτουργίας της φωσφολαμβάνης (PLN) ή κα Κρανια δημιούργησε γενετικά τροποποιημένα πρότυπα ζώων. Σε όρισμένα από αυτά αφαίρεσε το γονίδιο της φωσφολαμβάνης από έμβρυικά στελεχιαία κύτταρα και με αυτό τον τρόπο δημιούργησε ζώα χωρίς φωσφολαμβάνη. Σε άλλη ομάδα ζωικών προτύπων αύξησε τη λειτουργία του γονιδίου της και κατά συνέπεια δημιούργησε πειραματικά πρότυπα με αυξημένη φωσφολαμβάνη. Με τα πειραματικά αυτά πρότυπα απέδειξε για πρώτη φορά, τη σημασία της φωσφολαμβάνης στη ρύθμιση του άσβεστιού στο μυοκαρδιακό κύτταρο. Στα πειραματικά πρότυπα με ελαττωμένη φωσφολαμβάνη παρατηρήθηκε αύξηση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου (force) ενώ στα πρότυπα με τέλεια έλλει-



Σχήμα 2. Συσταλτικότητα του μυοκαρδίου (Force) σε σχέση με επίπεδα φωσφολαμβάνης (PLN). Σε τέλεια έλλειψη φωσφολαμβάνης παρατηρείται αύξηση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου (αριστερά). Αντίθετα σε αύξηση των επιπέδων της φωσφολαμβάνης ή συσταλτικότητα του μυοκαρδίου ελαττώνεται σημαντικά (δεξιά).

ψη αυτής διαπιστώθηκε μεγάλη ελάττωση της συσταλτικότητάς του. Επίσης σε ζωικά πρότυπα με καρδιακή ανεπάρκεια διαπίστωσε ότι η ελάττωση της λειτουργίας της φωσφολαμβάνης είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική βελτίωση της συστολικής και της διαστολικής λειτουργίας της καρδιάς. Πρόσφατα, μελέτησε τη δράση της φωσφολαμβάνης σε μυοκαρδιακά κύτταρα που ελήφθησαν από καρδιές ανθρώπων που παρουσίαζαν καρδιακή ανεπάρκεια. Έχει βρεθεί ότι και σε αυτά τα νοσοϋντα απομονωμένα μυοκαρδιακά κύτταρα η ελάττωση της φωσφολαμβάνης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συσταλτικής ικανότητας αυτών.

Η αναζήτηση μεταλλάξεων στο γονίδιο της φωσφολαμβάνης σε ανθρώπους με καρδιακή ανεπάρκεια απέτελεσε σταθμό στον καθορισμό της ιδιαίτερης ση-



Σχήμα 3. Οικογενειακό δένδρο σε οικογένεια με μετάλλαξη στο γονίδιο που κωδικοποιεί τη φωσφολαμβάνη (PLN). Οι όμοζυγώτες παρουσίασαν διατακτική μυοκαρδιοπάθεια (DCM) και καρδιακή ανεπάρκεια. Όρισμένοι από τους έτεροζυγώτες παρουσίασαν υπερτροφία της άριστερας κοιλίας (LVH).

μασίας που αυτή έχει στη λειτουργία της καρδιάς του ανθρώπου. Οι μελέτες έγιναν σε ασθενείς από το Cincinnati των ΗΠΑ, την Γερμανία, την Ιαπωνία και την Ελλάδα.

Στην Ελλάδα μελετήθηκαν 71 άτομα από δυο διαφορετικά οικογενειακά δένδρα, στα όποια υπήρχαν ασθενείς με διατακτική καρδιομυοπάθεια (DCM) και καρδιακή ανεπάρκεια σε νεαρή ηλικία. Άλλοι ασθενείς είχαν υπερτροφία της άριστερας κοιλίας (LVH). Στους πάσχοντες με καρδιακή ανεπάρκεια το γονίδιο της φωσφολαμβάνης ήταν παθολογικό, υπήρχε δε σημαντική ελάττωση ή παντελής έλλειψη αυτής.

Βάσει των δεδομένων ελλείπει της φωσφολαμβάνης αναμένετο να συνοδεύεται με αύξηση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου. Αντίθετα όμως στα άτομα αυτά παρατηρήθηκε μυοκαρδιοπάθεια και θάνατος από καρδιακή ανεπάρκεια σε νεαρή ηλικία. Διατυπώνεται η υπόθεση ότι ο συνεχής έρεθισμός και η μακροχρόνια αύξηση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου είχε ως αποτέλεσμα τον κάματο αυτού και την εκδήλωση καρδιακής ανεπάρκειας. Η μελέτη επιβεβαιώνει την ιδιαίτερη σημασία που έχει η φωσφολαμβάνη στη λειτουργία της ανθρώπινης καρδιάς.

Μέχρι τώρα έχουν καθοριστεί διάφορες μεταλλάξεις σε γονίδια ανθρώπων που προκαλούν μυοκαρδιοπάθεια και καρδιακή ανεπάρκεια όπως είναι τα γονίδια που κωδικοποιούν τη δεσμίνη, τη β-μυοσίνη, τη λαμίνη A/C κ.ά. Τα γονίδια αυτά όμως κωδικοποιούν πρωτεΐνες που αποτελούν συστατικά του σαρκομερίου, δηλαδή του “σκελετικού” υποστρώματος του μυοκαρδίου. Αντίθετα, η μυοκαρδιοπάθεια που παρατηρείται σε ασθενείς με μετάλλαξη στο γονίδιο της φωσφολαμβάνης έχει σχέση με τη διαδεσιμότητα του άσβεστιού στο μυοκαρδιακό κύτταρο και όχι τη σύνδεση αυτού. Φαίνεται λοιπόν ότι υπάρχουν τουλάχιστον δυο διαφορετικοί μηχανισμοί που οδηγούν σε καρδιακή ανεπάρκεια. Ο ένας προσβάλλει την ανατομική δομή του μυοκαρδίου και ο άλλος καθορίζει τη διαδεσιμότητα άσβεστιού εις αυτό. Χειρισμοί που σκοπό έχουν να καθορίσουν την όμοιοσταση του άσβεστιού στο μυοκάρδιο πιθανόν να αποτελέσουν θεραπευτικούς στόχους στο προσεχές μέλλον.

Κύριε Πρόεδρε, Κυρίες και Κύριοι,

Όπως ήδη γνωρίζετε, η βιοϊατρική έρευνα σήμερα εξελίσσεται ταχύτατα. Για να στεφθεί όμως με επιτυχία θα πρέπει να υπάρξει στενή συνεργασία μεταξύ

βασικού και κλινικού έρευνητή, όπως έγινε με την περίπτωση της φωσφόλαμ-
βάνης. Το Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Έρευνών της Ακαδημίας Αθηνών, στο
όποιο έχω την τιμή να είμαι Διευθυντής του Κέντρου Κλινικής Έρευνας και
Πρόεδρος του Έπιστημονικού Συμβουλίου, αποτελεί πρότυπο για τέτοιου είδους
συνεργασία.

SUMMARY

The role of Phospholamban in heart failure

Heart failure is a leading cause of death and disability in our society, and several investigators have been trying to determine the subcellular mechanisms underlying this disease in order to develop better therapeutic approaches. The new developments in Molecular Genetics and the generation of genetically altered animal models have provided major insights in this investigation. Of special significance, are the recent findings by Dr Evangelia Kranias, Director of Cardiovascular Biology and Professor of the Department of Pharmacology of Cincinnati. Dr Kranias and her team showed for the first time that a small protein, called phospholamban, is a major regulator of cardiac function. The Kranias team generated genetically altered models with decreases or increases in phospholamban levels. Decreased phospholamban was associated with increased contractility, while increased phospholamban caused depressed heart function. Based on these findings, the investigators suggested that phospholamban is an excellent therapeutic target in heart failure. Indeed, decreases in phospholamban levels or activity in human or animal failing cardiomyocytes resulted in increased contractility.

More recently, Dr Kranias extended her studies to human patients with heart failure and investigated whether genetic mutations in phospholamban may predispose for heart failure. Dr Kranias discovered a hereditary phospholamban mutation in two large Greek families, which was associated with phospholamban ablation. Based on the findings in animal models, decreased phospholamban levels were expected to result in enhanced cardiac function.

However, the patients with phospholamban ablation, associated with chronic stimulation of contractility, resulted in dilated cardiomyopathy and death at early age. These findings provided new insights into the significant role of phospholamban in the human heart and constitute a breakthrough in our understanding of the function of the human heart.