



ISSN 2241-3081

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ PHARMAKEFTIKI

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
A QUARTERLY EDITION ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS

ΤΟΜΟΣ 28 | ΤΕΥΧΟΣ
VOLUME | ISSUE

ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ - ΜΑΡΤΙΟΣ 2016
JANUARY - MARCH



Ας μιλήσουμε για το πώς θα βοηθήσουμε τους ασθενείς σας να αισθανθούν καλύτερα σχετικά με την έναρξη βασικής ινσουλίνης



Η ABASAGLAR ενδείκνυται για τη θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη σε ενήλικες, εφήβους και παιδιά ηλικίας 2 ετών και άνω.¹

1. Π.Χ.Π. ABASAGLAR 100 units/ml KwikPen

Το φάρμακο αυτό τελεί υπό συμπληρωματική παρακολούθηση. Αυτό θα επιτρέψει τον ταχύ προσδιορισμό νέων πληροφοριών ασφαλείας. Ζητείται από τους επαγγελματίες του τομέα της υγείας να ενημερώσουν τους ασθενείς σχετικά με τα αποτελέσματα της παρακολούθησης. Ζητείται από τους ασθενείς να ενημερώσουν τους επαγγελματίες του τομέα της υγείας σχετικά με τα αποτελέσματα της παρακολούθησης.

ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΣΙΤΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ: Κάθε ml περιέχει 100 μονάδες ινσουλίνης glargine * (αντιστοιχούν σε 3,64 mg). Κάθε πένα περιέχει 3 ml ενέσιμο διάλυμα, που αντιστοιχούν σε 300 μονάδες ινσουλίνης. Η ινσουλίνη glargine παράγεται με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA στην *Escherichia coli*.

Θεραπευτικές ενδείξεις: Θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη σε ενήλικες, εφήβους και παιδιά ηλικίας 2 ετών και άνω.

Δοσολογία και τρόπος χορήγησης: Η ABASAGLAR περιέχει ινσουλίνη glargine με παρατεταμένη διάρκεια δράσης. Πρέπει να χορηγείται εφάπαξ ημερησίως, οπουδήποτε κατά τη διάρκεια της ημέρας, αλλά κατά την ίδια ώρα κάθε ημέρα. Το δοσολογικό σχήμα (δόση και χρόνος) της ABASAGLAR θα πρέπει να εξατομικεύεται. Σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, η ABASAGLAR μπορεί επίσης να χορηγηθεί με από του στόματος αντιδιαβητικά φαρμακευτικά προϊόντα. Η δραστηριότητα αυτού του φαρμακευτικού προϊόντος διπλασιάζεται σε μονάδες. Οι συγκεκριμένες μονάδες αναφέρονται αποκλειστικά στην ινσουλίνη glargine και δεν είναι ίδιες με τις Διεθνείς Μονάδες (IU) ή με τις μονάδες που χρησιμοποιούνται για να εκφραστούν τη δραστηριότητα άλλων αναλόγων ινσουλίνης. Η βασική κατηγορία πληθυσμού στους ηλικιωμένους με προοδευτική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας μπορεί να οδηγήσει σε σταθερή μείωση των αναγκών σε ινσουλίνη. Σε ασθενείς με ηπατική δυσλειτουργία, οι ανάγκες σε ινσουλίνη μπορεί να ελαττωθούν εξαιτίας της μειωμένης ικανότητας για γλυκογενεγένεση και του ελαττωμένου μεταβολισμού της ινσουλίνης. Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της ινσουλίνης glargine έχουν τεκμηριωθεί σε εφήβους και παιδιά ηλικίας 2 ετών και μεγαλύτερα αλλά δεν έχει τεκμηριωθεί σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των 2 ετών.

Μετάβαση από άλλες ινσουλίνες στην ABASAGLAR: κατά την αλλαγή από μέσης ή μακράς διάρκειας δράσης ινσουλίνη σε ABASAGLAR, μπορεί να απαιτηθεί αλλαγή στη δόση της βασικής ινσουλίνης και της συγχρησιμοποιούμενης αντιδιαβητικής θεραπείας. Προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος υπογλυκαιμίας, οι ασθενείς οι οποίοι αλλάζουν από ινσουλίνη NPH χορηγούμενη δύο φορές την ημέρα σε ABASAGLAR χορηγούμενη εφάπαξ ημερησίως, θα πρέπει κατά τη διάρκεια των πρώτων εβδομάδων να ελαττώσουν την ημερήσια δόση της βασικής ινσουλίνης κατά 20-30%. Κατά τις πρώτες εβδομάδες η μείωση πρέπει να λαμβάνεται μερικής, να εξομαλύνεται από κάποια αύξηση της ινσουλίνης την ώρα του γεύματος. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα το δοσολογικό σχήμα θα πρέπει να προσαρμόζεται σταδιακά. Όπως και με άλλα ανάλογα ινσουλίνης, οι ασθενείς με υψηλές δόσεις ινσουλίνης εξαιτίας των αντισυμπτωμάτων στην ανθρώπινη ινσουλίνη μπορεί να παρουσιάσουν βελτιωμένη ανταπόκριση στην ινσουλίνη με την ABASAGLAR.

Τρόπος χορήγησης: Η ABASAGLAR χορηγείται υποδορίως και δεν θα πρέπει να χορηγείται ενδοφλέβια. Δεν υπάρχουν κλινικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα σακχάρου ή ινσουλίνης στον ορό μετά τη χορήγηση της ινσουλίνης glargine στην κοιλιακή, γαλουπια ή δελτοειδή περιοχή. Η ABASAGLAR δεν πρέπει να αναμιγνύεται με καμία άλλη ινσουλίνη ούτε να διαλυθεί.

Αντενδείξεις: υπερεαίσθησία στη δραστική ουσία ή σε κάποιο από τα έκδοχα.

Ειδικές προειδοποιήσεις και προφυλάξεις κατά τη χρήση: Η ABASAGLAR δεν είναι ινσουλίνη επιλογής για τη θεραπεία της διαβητικής κετοξέωσης. Στην περίπτωση που η ρύθμιση του σακχάρου είναι ανεπαρκής ή υπάρχει τάση για επείσοδο υπεργλυκαιμίας ή υπογλυκαιμίας θα πρέπει να ληφθούν υπόψη η συμμόρφωση του ασθενούς στο καθορισμένο θεραπευτικό σχήμα, οι θέσεις των ενέσεων και η σωστή τεχνική τους καθώς και άλλα αιτιολογικά παράγοντες.

Υπογλυκαιμία: επειδή με την ινσουλίνη glargine ο εφοδιασμός της βασικής ινσουλίνης είναι πιο σταθερός, μπορεί να αναμένεται λιγότερο νυκτερινή υπογλυκαιμία αλλά περισσότερη πρωινή υπογλυκαιμία. Απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή και συνιστάται εντακτικότερη παρακολούθηση του σακχάρου του αίματος σε ασθενείς στους οποίους τα υπογλυκαιμικά επεισόδια μπορεί να σχετίζονται με ιδιαίτερες κλινικές καταστάσεις. Η παρατεταμένη δράση της υποδορίας ινσουλίνης glargine μπορεί να καθυστερήσει την ανίχνευση από υπογλυκαιμία.

Συνδυασμός ABASAGLAR με παγκρεατίνη: έχουν αναφερθεί περιπτώσεις καρδιακής ανεπάρκειας όταν συγχρησιμοποιήθηκε η παγκρεατίνη με ινσουλίνη, ειδικότερα σε ασθενείς με παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας. Αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη στην περίπτωση συνδυασμένης θεραπείας παγκρεατίνης με ABASAGLAR. Εφόσον χρησιμοποιηθεί ο συνδυασμός, οι ασθενείς πρέπει να παρακολουθούνται για σημεία και συμπτώματα καρδιακής ανεπάρκειας, αύξηση βάρους και οίδημα. Η παγκρεατίνη πρέπει να διακοπεί στην περίπτωση που παρουσιαστεί επιδείνωση των καρδιακών συμπτωμάτων.

Έκδοχα: περιέχει 100 μονάδες/1 ml ινσουλίνης (23 mg) ανά δόση, δηλ. είναι αντιστοιχία «ελεύθερο νατρίου». **Αλληλεπιδράσεις με άλλα φαρμακευτικά προϊόντα και άλλες μορφές αλληλεπίδρασης:** ένας αριθμός ουσιών επηρεάζει το μεταβολισμό της γλυκόζης και μπορεί να απαιτούνται αναπροσαρμογή της δόσης της ινσουλίνης glargine. Για τη χορήγηση άλλων φαρμακευτικών προϊόντων ταυτόχρονα με την Abasaglar 100 μονάδες/ml KwikPen θα πρέπει να συμβουλευτείτε τον γιατρό.

Γονιμότητα, κύηση και γαλουχία: Δεν είναι διαθέσιμο κλινικό δεδομένο σχετικά με την έκθεση κατά την εγκυμοσύνη στην ινσουλίνη glargine. Το δεδομένο από μεγάλο αριθμό εγκύων γυναικών (περίπου 1000 περιπτώσεις) έκδοσης κύησης τεκμηριώνουν απουσία συγκεκριμένων ανεπιθύμητων ενεργειών και δεν υπάρχει συγκεκριμένη διαμορφική ή εμβρυολογική τοξικότητα από τη χρήση της ινσουλίνης glargine. Μελέτες σε ζώα δεν έδειξαν αναπαραγωγική τοξικότητα. Η χρήση της ABASAGLAR μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική επιλογή κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, εάν είναι αναγκαίο. Δεν είναι γνωστό εάν η ινσουλίνη glargine απεκκρίνεται στο ανθρώπινο γάλα. Δεν αναμένεται μεταβολική επίδραση στα θηλάζοντα νεογνώνια/βρέφη από τη λήψη της ινσουλίνης glargine, επειδή η ινσουλίνη glargine είναι ένα πεπτίδιο που διασπάται σε αμινοξέα στον ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα. Σε γυναικες που θηλάζουν μπορεί να απαιτηθεί ρύθμιση της δόσης ινσουλίνης και της διαίτας. Μελέτες σε ζώα δεν έδειξαν άμεση τοξικότητα στην γονιμότητα.

Επιδράσεις στην ικανότητα οδήγησης και χειρισμού μηχανών: η ικανότητα του ασθενούς να συγκεντρωθεί και να αντιδράσει μπορεί να επηρεαστεί εάν αποτέλεσμα της υπογλυκαιμίας ή της υπεργλυκαιμίας, γενικά ή πιο συχνά ανεπιθύμητη αντίδραση κατά την ινσουλινθεραπεία, μπορεί να εμφανιστεί αν η δόση της ινσουλίνης είναι πολύ υψηλή σε σχέση με τις απαιτήσεις για ινσουλίνη. Οι ακόλουθες σχετιζόμενες ανεπιθύμητες αντιδράσεις από κλινικές δοκιμές παρατηρούνται παρόμοια σύμφωνα με τον προτεινόμενο από MedIRA κατάστημα ανά οργανικό σύστημα. Υπογλυκαιμία: πολύ συχνή $\geq 1/10$. Αλλεργικές αντιδράσεις, οπτική διαταραχή και αμφοβλοπρεσβυπία: σπάνιες $\geq 1/10.000$ έως $< 1/100$. Λιποσυστροφή: όχι συχνή $\geq 1/10.000$ έως $< 1/100$. Διαταραχή και μυαλγία: πολύ σπάνιες $< 1/10.000$. Παθολογικός ρηθιδισμός: γενικά, το προφίλ ασφαλείας σε παιδιά και εφήβους (ηλικίας ≤ 18 ετών) είναι παρόμοιο με το προφίλ ασφαλείας των ενηλίκων. Οι αναφορές ανεπιθύμητων αντιδράσεων που ελήφθησαν από την παρακολούθηση μετά την παρακολούθηση της ABASAGLAR, περιλαμβάνουν σχετικά με συχνές αντιδράσεις στη θέση της ένεσης (όπως στη θέση της ένεσης, αντίδραση στη θέση της ένεσης) και δερματικές αντιδράσεις (εξάνθημα, κνίδωση) σε παιδιά και εφήβους (ηλικίας ≤ 18 ετών) έναντι των ενηλίκων. Δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία από κλινικές μελέτες ως προς την ασφάλεια σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των 2 ετών.

Εκδόχα: Εθνικός Οργανισμός Φαρμάκων, Μεσογείων 284 GR-15562 Χαλκίδας Αθήνα, Τηλ. +30 21 3204338/337, Φαξ +30 21 06549585, σήματα: <http://www.efpi.gr>

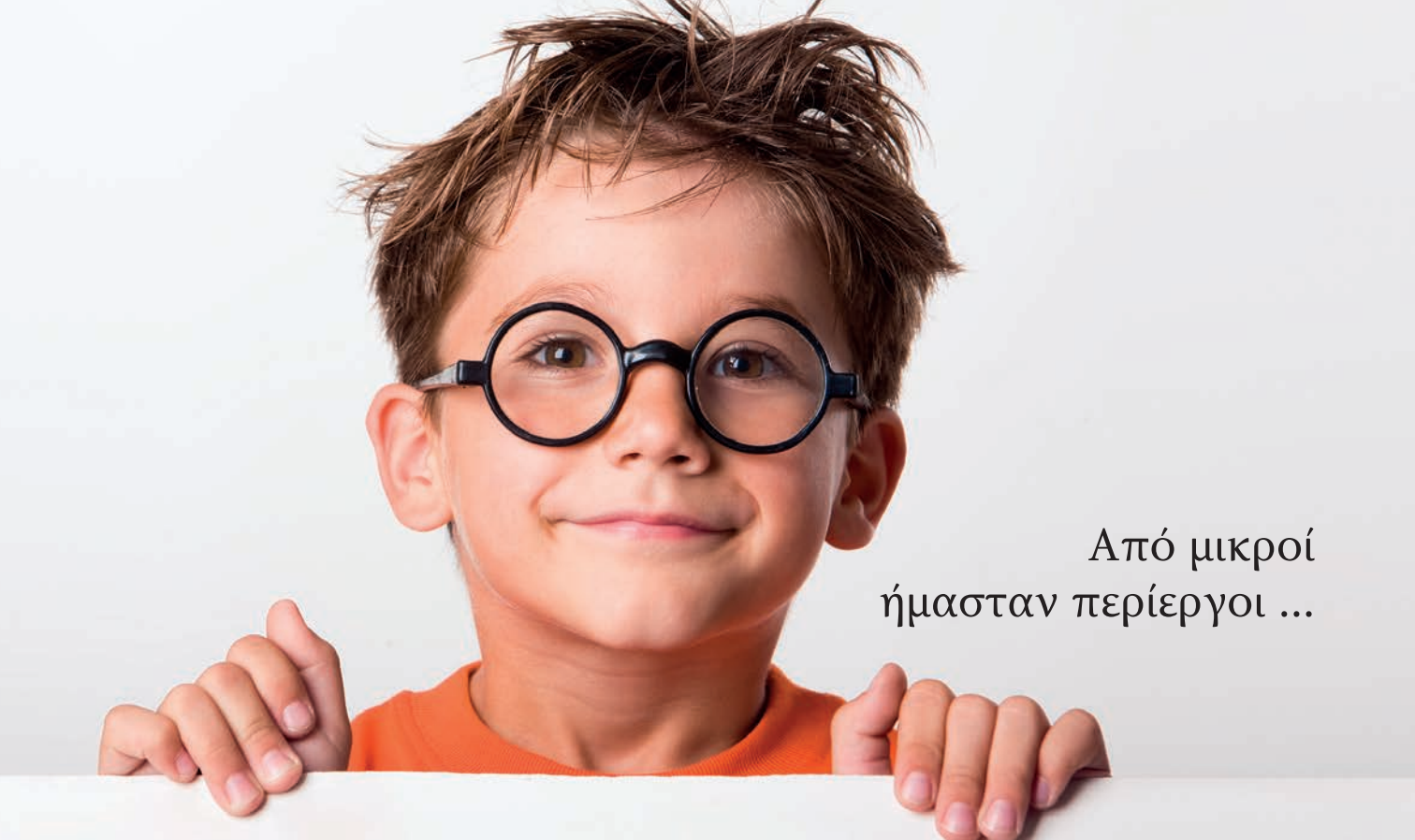
Φαρμακοκοινωνικές ιδιότητες: Φαρμακοθεραπευτική κατηγορία: Φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη διαβήτη, ινσουλίνες και ενέσιμα ανάλογα, μακράς δράσης. Κωδικός ATC: A10AE04. Η ABASAGLAR είναι ένα δια-μορφή φαρμακευτικό προϊόν. Λεπτομερή πληροφοριακά στοιχεία είναι διαθέσιμα στο δικτυακό τόπο του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων: <http://www.ema.europa.eu>

Κατάλογος εκδόχων: οξείδιο του ψευδαργύρου, μετακρεσόλη, γλυκερόλη, υδροχλωρικό οξύ (για τη ρύθμιση του pH), υδροξείδιο του νατρίου (για τη ρύθμιση του pH), ύδαρ για ενέσιμα. **Λοιμωδότητες:** αυτό το φαρμακευτικό προϊόν δεν πρέπει να αναμιγνύεται με άλλα φαρμακευτικά προϊόντα. Διάρκεια ζωής 2 χρόνια. Διάρκεια ζωής μετά την πρώτη χρήση: το φαρμακευτικό προϊόν μπορεί να φυλάσσεται το μέγιστο 28 ημέρες σε θερμοκρασία έως και 30 °C και μακριά από την απευθείας έκθεση στη ζέση ή την απευθείας έκθεση στο φως. Η πένα που χρησιμοποιείται δεν πρέπει να φυλάσσεται σε ψυγείο. Το προστατευτικό καπάκι της πέννας πρέπει να τοποθετείται στην πένα μετά από κάθε ένεση για να προστατευτεί από το φως. **Ιδιότητες προφυλάξης κατά τη φύλαξη του προϊόντος:** πριν από τη χρήση φυλάσσεται σε ψυγείο (2°C - 8°C). Μην καταψύξετε. Φυλάσσετε την προγεγραμμένη πένα στο εξωτερικό κομμάτι για να προστατευτεί από το φως. **ΜΟΡΦΕΣ/ΤΥΠΟΙ:** ABASAGLAR INJ SOL 100U/ML 2 BTX5 PF PEN KWIKPEN x 3ML. X.T.: 71.93C. N.T.: 62.58E. A.T.: 91.50E. **ΚΑΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΑΔΕΙΑΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ:** Eli Lilly Regional Operations GmbH, Köllnigasse 8-10, 1030, Vienna, Austria. **ΑΡΙΘΜΟΣ(ΟΙ) ΑΔΕΙΑΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ:** EU/114/944/008 ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΝΑΒΕΒΛΗΤΗΣ ΤΟΥ ΚΕΙΜΕΝΟΥ: Μάρτιος 2015. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ: φαρμακευτικό προϊόν για το οποίο απαιτείται ιατρική συνταγή. ΕΠΙΧΡΗΜΗΤΗ ΑΝΤΙ ΤΑ ΤΑΜΕΙΑ: 100% για ασθενείς με ΣΔ1 και 90% για ασθενείς με ΣΔ2.



ΦΑΡΜΑΞΕΡΒ - ΛΙΛΛΥ Α.Ε.Β.Ε. 15ο χλμ. Εθνικής Οδού Αθηνών-Λαμίας, 14564 Κηφισιά ΤΗΛ.: 210 6294600 Fax: 210 6294610
Γραφείο Θεσσαλονίκης: Αδριανουπόλεως 24, 551 33 Καλαμαριά, Θεσσαλονίκη ΤΗΛ.: 2310 480160
Για παραγγελίες: ΤΗΛ.: 210 6294629 Fax: 210 6294630 e-mail: orders@lilly.gr www.lilly.gr





Από μικροί
ήμασταν περίεργοι ...

...να ανακαλύψουμε ποιο είναι το πιο σημαντικό πράγμα στον κόσμο. Όταν το βρήκαμε αποφασίσαμε να κάνουμε έργο ζωής την προάσπιση και εξασφάλισή του- της υγείας.

Είμαστε στο πλευρό της ιατρικής κοινότητας παρέχοντας φαρμακευτικά προϊόντα υψηλής ποιότητας, προσπαθώντας να έχουν πρόσβαση σε αυτά, όλοι οι συνάνθρωποί μας.

Παραμένουμε περίεργοι, παραμένουμε αποφασισμένοι, παραμένουμε στο πλευρό σας με τον ενθουσιασμό και την επιμονή μικρού παιδιού.

FarmaSyn SA
P H A R M A C E U T I C A L S

Αθήνα: Μονής Δαμάστας 6, 12133 Περιστέρι • Τηλ: 210 5777140 • Fax: 210 5788791 • e-mail: farmasyn@otenet.gr • www.farmasyn.gr

Γραφείο Β. Ελλάδος: Μαιάνδρου & Αδμήτου 27, 56224 Εύσμος • Τηλ: 2310 703856 • Fax: 2310 703178 • e-mail: thess@farmasyn.gr

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΟΣ 28, ΤΕΥΧΟΣ Ι,
ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ - ΜΑΡΤΙΟΣ 2016

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

A. Τσαντίλη

Ομοτ. Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
tsantili@pharm.uoa.gr

ΑΡΧΙΣΥΝΤΑΚΤΗΣ

Γ.Α. Καρίκας

Καθηγητής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό
Ίδρυμα Αθηνών, karikasg@teiath.gr

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κ. Δεμέτζος

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

B. Δημόπουλος

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

N. Κόλμαν

Galenica SA

X. Κοντογιώργης

PhD, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. Κουρουνάκης

Ομοτ. Καθηγητής,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. Μαχαίρας

Ομοτ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σ. Νικολαρόπουλος

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Γ. Πάιρας

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

E. Παντερή

Αναπλ. Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Δ. Ρέκκας

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

E-mail για κατάθεση εργασιών:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@teiath.gr

Για την ηλεκτρονική έκδοση της «Φαρμακευτικής»
και οδηγίες προς συγγραφείς
επισκεφτείτε την διεύθυνση: www.hsmc.gr

*Τα άρθρα που δημοσιεύονται
στην «Φαρμακευτική» καταχωρούνται
στα Chemical Abstracts, EMBASE και SCOPUS*

PHARMAKEFTIKI

A QUARTERLY EDITION
ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS
VOLUME 28, ISSUE I,
JANUARY - MARCH 2016

EDITOR

A. Tsantili

Emeritus Professor, University of Athens,
tsantili@pharm.uoa.gr

CO EDITOR

G.A. Karikas

Professor, Technological Educational
Institute of Athens, karikasg@teiath.gr

EDITORIAL BOARD

C. Demetzos

Professor, University of Athens

V.J. Demopoulos

Professor, University of Thessaloniki

N. Kolman

Galenica SA

Ch. Kontogiorgis

PhD, University of Thessaloniki

P. Kourounakis

Emeritus Professor,

University of Thessaloniki

P. Macheras

Emeritus Professor, University of Athens

S. Nikolaropoulos

Associate Professor, University of Patras

G. Pairas

Associate Professor, University of Patras

I. Panderi

Associate Professor, University of Athens

D. Rekkas

Associate Professor, University of Athens

E-mail for manuscript submission:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@teiath.gr

For "Pharmakeftiki" electronic edition
and instructions to authors
please visit www.hsmc.gr

*Articles published in "Pharmakeftiki"
are indexed in Chemical Abstracts,
EMBASE and SCOPUS*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ / CONTENTS

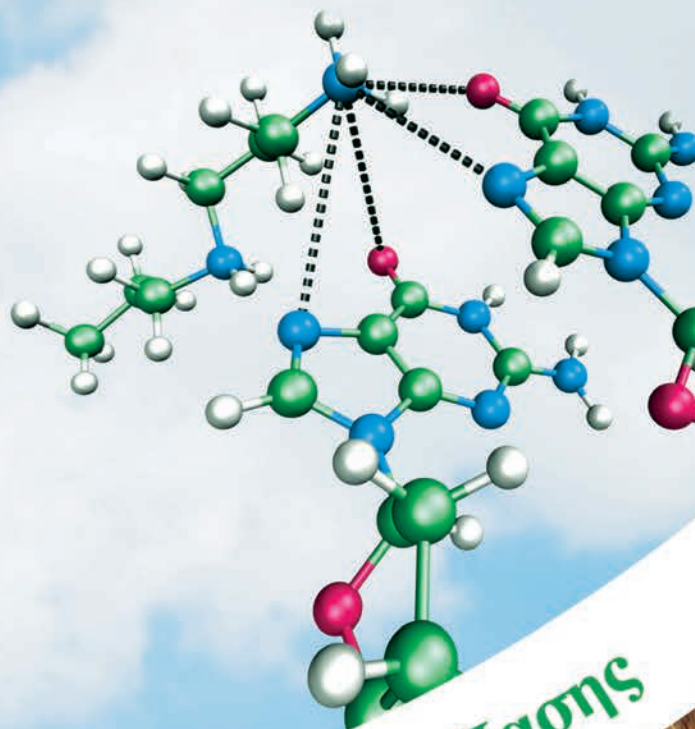
Υδροχρωματογραφία Υδρόφιλης Αλληλεπίδρασης (HILIC) <i>Ελένη Καλογριά, Σοφία Γεωργακάκου, Αριάδνη Βοναπάρτη, Μελένια Πληγοροπούλου, Στέφανος Μειμάρογλου, Ιωάννης Μαλάμος, Σαββίνα Ζαχαράκη, Ειρήνη Παντερή</i> _____	Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) <i>Eleni Kalogria, Sofia Georgakakou, Ariadni Vonaparti, Melenia Pligoropoulou, Stefanos Meimaroglou, Yannis Malamos, Sabina Zaharaki, Irene Panderi</i> _____
1-10	1-10
Νανοϋλικά και ποσοτικές σχέσης δομής - δράσης <i>Ελένη Βροντάκη, Γεωργία Μελαγράκη, Αντρέας Αφαντίτης, Θωμάς Μαυρομούστακος</i> _____	Nanomaterials and Quantitative Structure - Activity Relationships <i>Eleni Vrontaki, Georgia Melagraki, Antreas Afantitis, Thomas Mavromoustakos</i> _____
11-25	11-25
Νεότερα φάρμακα στη Χρόνια και Οξεία Καρδιακή Ανεπάρκεια <i>Νικόλαος Κατσίνας, Αναστασία Τσουκιά, Ιωάννα Ανδρεάδου</i> _____	Novel Medines for the Treatment of Chronic and Acute Heart Failure <i>Nikolaos Katsinas, Anastasia Tsoukia, Ioanna Andreadou</i> _____
26-51	26-51
Νέα - Εξελίξεις _____	News & Developments _____
52-55	52-55
Εις Μνήμην _____	In Memory _____
56-57	56-57
Εκδηλώσεις _____	Meetings _____
58-59	58-59

ZITA MEDICAL MANAGEMENT
1ο χλμ. Παιανίας - Μαρκοπούλου
19002, Παιανία, Ελλάδα
Τηλ.: + 30 211 100 1772
E-mail: t.tassou@zita-management.com

ZITA MEDICAL MANAGEMENT
1st klm Peanias - Markopoulou
19002, Peania, Greece
Tel.: + 30 211 100 1772
E-mail: t.tassou@zita-management.com



Galenica



Αδιάκοπη Αναζήτηση της Τασης



Galenica α.ε.

<http://www.galenica.gr>

ΑΘΗΝΑ: Ελευθερίας 4, 145 64 Κηφισιά, Τηλ.: 210 5281700, Fax: 210 5245939, ΘΕΣ/ΚΗ: Κουντουριώτου & Φασιανού 2, Τηλ.: 2310 542685

Υγροχρωματογραφία Υδρόφιλης Αλληλεπίδρασης (HILIC)

Ελένη Καλογρηά, Σοφία Γεωργακάκου, Αριάδνη Βοναπάρτη, Μελένια Πληγοροπούλου, Στέφανος Μεϊμάρογλου, Ιωάννης Μαλάμος, Σαββίνα Ζαχαράκη, Ειρήνη Παντερή*

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 157 71, Αθήνα

Summary

Η υγροχρωματογραφία υδρόφιλης αλληλεπίδρασης (HILIC), είναι μια τεχνική χρωματογραφικού διαχωρισμού πολικών και υδρόφιλων αναλυτών χρησιμοποιώντας υδρόφιλες στατικές φάσεις. Η υγροχρωματογραφία κανονικής φάσης αποτελεί τη χρωματογραφική τεχνική επιλογής για τις παραπάνω ενώσεις, χρησιμοποιώντας μη υδατικές κινητές φάσεις. Η χρωματογραφία HILIC κατέλαβε τη θέση της HPLC κανονικής φάσης και αποτελεί πλέον μία καλή εναλλακτική λύση, με βάση την οποία η σειρά έκλουσης των αναλυτών είναι αντίστροφη από αυτή της RP-HPLC. Μέχρι σήμερα

έχει αναπτυχθεί ποικιλία στατικών φάσεων που ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις της HILIC γεγονός που εξηγεί την ολοένα αυξανόμενη εφαρμογή της για την ανάλυση πολικών ενώσεων σε συνδυασμό με ανιχνευτές φασματομέτρα μαζών. Στην παρούσα ανασκόπηση αναφερόμαστε στο μηχανισμό συγκράτησης στη χρωματογραφία HILIC, γίνεται αναφορά στις στατικές φάσεις και την επιλογή των κατάλληλων χρωματογραφικών συνθηκών, ενώ στο τελευταίο μέρος αναφέρονται χαρακτηριστικά παραδείγματα εφαρμογών της στη φαρμακευτική ανάλυση.

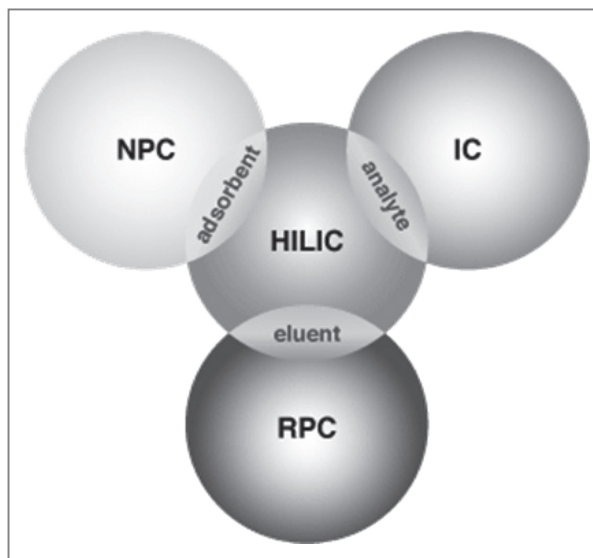
ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ: HPLC, HILIC, μηχανισμός συγκράτησης, νέες στατικές φάσεις, πολικοί αναλύτες

1. Εισαγωγή

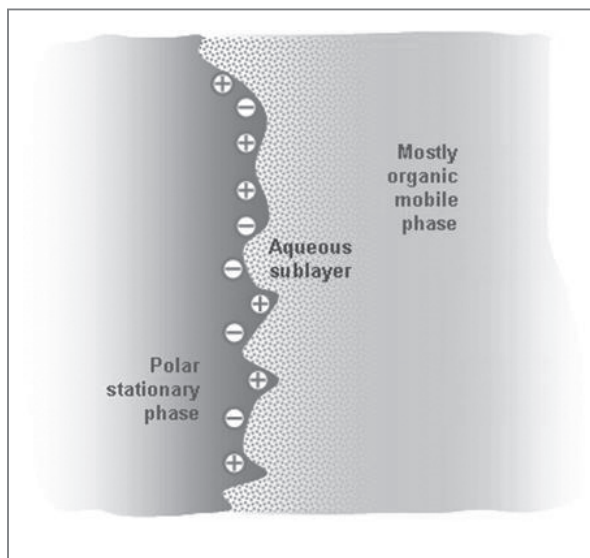
Η υγροχρωματογραφία υδρόφιλης αλληλεπίδρασης αποτελεί μία σχετικά νέα τεχνική ανάλυσης και διαχωρισμού πολικών ουσιών οι οποίες εμφανίζουν μικρή ή και ελάχιστη κατακράτηση στις ευρύτερα διαδεδομένες στήλες αντιστρόφου φάσεως. Η HILIC ως αναλυτικό εργαλείο προσφέρει πολλές δυνατότητες στα χέρια των αναλυτών καθώς είναι εφικτό να αναλυθούν και να διαχωριστούν πολικά συστατικά χρησιμοποιώντας υδρόφιλες στατικές φάσεις, ενώ η κινητή φάση αποτελεί μίγμα νερού και οργανικού δι-

αλύτη με το οργανικό κλάσμα να βρίσκεται σε υψηλότερο ποσοστό. Παρά το γεγονός ότι η υγροχρωματογραφία αντίστροφης φάσης (RP-HPLC) είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική διαχωρισμού, ωστόσο η ανάλυση πολικών και υδρόφιλων ενώσεων είναι δύσκολη και απαιτεί συχνά τη χρήση ειδικών στηλών (κατιονανταλλακτικές ή ανιονανταλλακτικές ρητίνες) ή την προσθήκη αντιδραστηρίων σχηματισμού ζευγών ιόντων. Ουσιαστικά η χρωματογραφία HILIC συμπληρώνει το κενό μεταξύ των κυριότερων χρωματογραφικών μεθόδων, αλλά ταυτόχρονα συμπίπτει μερικώς με κάθε μία από αυτές (σχήμα 1).

* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία: Ειρήνη Παντερή, E - mail: ipanderi@pharm.uoa.gr



Σχήμα 1. Η χρωματογραφία HILIC συνδυάζει τα χαρακτηριστικά τριών από τις κυριότερες μεθόδους υγροχρωματογραφίας



Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση της υδατικής ψευδο-στιβάδας σε στατική φάση HILIC

Συνήθως οι κινητές φάσεις της χρωματογραφίας HILIC περιέχουν 40-97% ακετονιτρίλιο σε υδατικό διάλυμα ρυθμιστικού όπως μυρμηκικό αμμώνιο, οξικό αμμώνιο ή αντίστοιχα οξέα ή βάσεις. Μπορεί να συνδυαστεί με πληθώρα ανιχνευτών HPLC, αλλά όταν συνδυάζεται με φασματόμετρο μαζών (ESI/MS) ή ανιχνευτή σκεδασμού ακτινοβολίας βελτιώνεται εντυπωσιακά η ευαισθησία της μεθόδου.

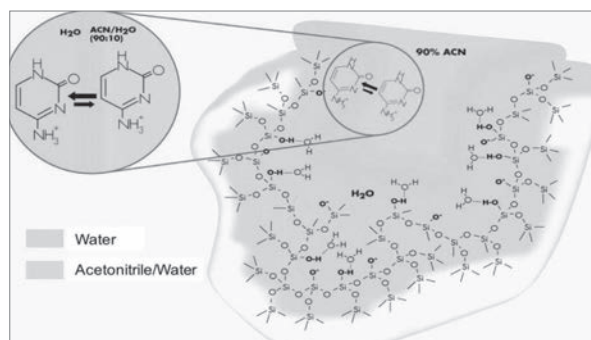
2. Ιστορική αναδρομή

Από τη δεκαετία του 60 είχε αρχίσει η παραγωγή χημικά τροποποιημένων στατικών φάσεων με βάση την πηκτή πυριτίας και πολικούς υποκαταστάτες. Ο σχηματισμός της υδατικής ψευδο-στιβάδας στην επιφάνεια αυτών των πολικών στατικών φάσεων η οποία είναι απαραίτητη για χρωματογραφία τύπου HILIC περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1960 από τους Wieland και Determan¹. Πρώτος ο Linden το 1975 χρησιμοποίησε στατικές φάσεις με αμινομάδα σε χρωματογραφία HILIC για το διαχωρισμό υδατανθράκων². Το 1990 ο Alpert αναλύοντας πρωτεΐνες και πεπτίδια χρησιμοποίησε το ακρονύμιο HILIC ώστε να περιγράψει τη χρωματογραφική τους συμπεριφορά σε στήλη πολυ(υδροξυαιθυλο) ασπαρταμιδίου με κινητή φάση που περιείχε μίγμα νερού με μεγάλο ποσο-

στό οργανικού τροποποιητή³. Παρ' όλα αυτά μέχρι το τέλος της δεκαετίας του '90 η χρωματογραφία κανονικής φάσης ήταν η πρώτη επιλογή για αναλύσεις ιδιαίτερα πολικών ενώσεων. Χρειάστηκε να περάσουν 15 χρόνια ώστε ο αριθμός των δημοσιεύσεων σχετικών με τη χρωματογραφία HILIC να αρχίσει να αυξάνεται εντυπωσιακά⁴.

3. Μηχανισμός συγκράτησης στη HILIC

Ο Alpert με τους συνεργάτες του σε ορισμένες από τις μελέτες που πραγματοποίησαν, προτείνουν ότι ο κυρίαρχος μηχανισμός συγκράτησης της HILIC είναι αυτός της κατανομής. Για να καταλήξουν σε αυτό το συμπέρασμα λήφθηκαν υπόψη μελέτες από άλλους ερευνητές βάσει των οποίων μελετήθηκε η συμπεριφορά διαφόρων υδατανθράκων και του ποσοστού του νερού στην κινητή φάση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν, ο Alpert είχε προτείνει ότι οι πολικές ομάδες των στατικών φάσεων HILIC ελκύουν μόρια νερού δημιουργώντας έτσι μία υδατική ψευδοστιβάδα στην επιφάνεια της στατικής φάσης που έρχεται σε άμεση επαφή με το μίγμα της κινητής φάσης, το οποίο περιέχει επίσης κάποιο ποσοστό νερού (σχήμα 2). Ο ίδιος, τελικά, κατέληξε ότι οι αναλύτες κατανέμονται σε δύο φάσεις λόγω της



Σχήμα 3. Μηχανισμός συγκράτησης HILIC σε στήλες πηκτής πυριτίας

ύπαρξης και «κάποιων δυνάμεων διπόλου-διπόλου» υποδεικνύοντας παράλληλα ότι ο μηχανισμός χρωματογραφικού διαχωρισμού χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

Από τότε πραγματοποιήθηκαν αρκετές μελέτες που υιοθέτησαν τα συμπεράσματα του Alpert, χωρίς όμως να τα στοιχειοθετήσουν περισσότερο από αυτά που είχαν προταθεί⁵. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία έχουν δημοσιευθεί αρκετές εργασίες με στόχο τη διερεύνηση του μηχανισμού συγκράτησης στη HILIC χωρίς όμως να καταλήξουν σε κάποιο συγκεκριμένο μοντέλο μηχανισμού συγκράτησης.

Σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες εξελίξεις, οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι στη χρωματογραφία HILIC επικρατεί ένας μικτός μηχανισμός συγκράτησης, που περιλαμβάνει φαινόμενα κατανομής, προσρόφησης, ιοντικής και υδρόφοβης αλληλεπίδρασης κι επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες (σχήμα 3)⁶.

Η έκταση με την οποία ο κάθε μηχανισμός ελέγχει τη συγκράτηση, εξαρτάται τόσο από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των αναλυτών και του πληρωτικού υλικού όσο και από τη σύσταση της κινητής φάσης. Ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου, οι αλληλεπιδράσεις τύπου διπόλου - διπόλου και οι ηλεκτροστατικές - ιοντικές αλληλεπιδράσεις φαίνεται να συμβάλλουν στη συγκράτηση. Το μέγεθος των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων διαμορφώνεται, ανάλογα με το βαθμό ιοντισμού των αναλυτών και των χημικών ομάδων του πληρωτικού υλικού, στην τιμή του pH της κινητής φάσης.

Οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις επιδιώκε-

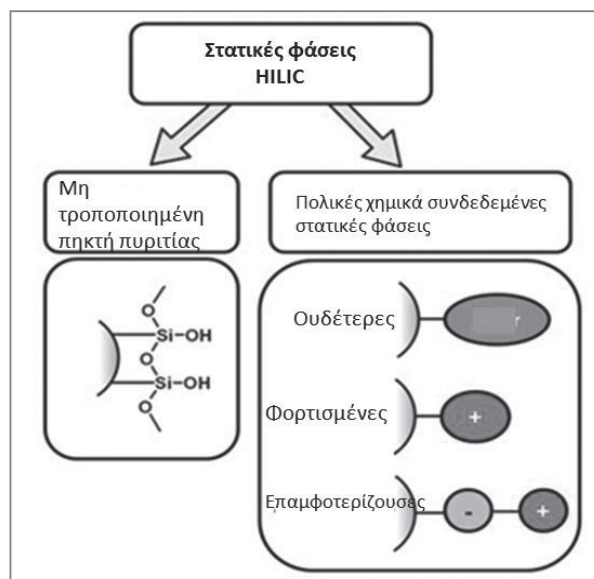
ται να περιορίζονται όσο το δυνατόν περισσότερο, καθώς αρκετές φορές εμποδίζουν την ικανοποιητική συγκράτηση στη στήλη HILIC, π.χ. κατά την ανάλυση όξινων ή αρνητικά φορτισμένων αναλυτών, οι αρνητικά φορτισμένες ομάδες του πληρωτικού υλικού απωθούν τα μόρια αυτά από την επιφάνεια της στατικής φάσης. Αντίθετα, κατά την ανάλυση θετικά φορτισμένων αναλυτών, αυτοί θα συγκρατηθούν στη στήλη, αλλά είναι δυνατόν να μην εκλουστούν κανονικά. Για το λόγο αυτό, οι κατασκευαστές στηλών HILIC συνιστούν, πλέον, τη χρήση αλάτων ή ρυθμιστικών διαλυμάτων στην κινητή φάση, ώστε να μειώνονται αυτού του είδους οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Πτητικά ρυθμιστικά διαλύματα μυρμηκικού αμμωνίου και οξικού αμμωνίου είναι τα περισσότερο συχνά χρησιμοποιούμενα, σε κατάλληλες συγκεντρώσεις, καθώς σε υψηλά επίπεδα επιδρούν αρνητικά στην ανίχνευση στο φασματομέτρο μαζών και στην ευαισθησία της μεθόδου.

4. Στατικές φάσεις χρωματογραφίας HILIC

Οι στατικές φάσεις HILIC είναι υδρόφιλες και φορτισμένες σε όλο το εύρος των τιμών pH της κινητής φάσης. Στη χρωματογραφία αυτού του είδους και σε αντίθεση με άλλες χρωματογραφικές τεχνικές, μέρος της κινητής φάσης δρα ως αναπόσπαστο κομμάτι της στατικής φάσης καθώς σχηματίζει μια υδατική ψευδο-στιβάδα που επικαλύπτει τη στατική φάση. Επομένως θεωρείται κρίσιμο η συγκέντρωση του νερού στην κινητή φάση να διατηρείται σε συγκεκριμένα όρια (περίπου 3-60%). Οι αναλύτες αλληλεπιδρούν με τη στατική φάση και συνεπώς όσο πιο υδρόφιλος είναι ένας αναλύτης, τόσο ισχυρότερα κατακρατείται.

Οι στατικές φάσεις, ανάλογα με το φορτίο που φέρουν μπορούν να διαιρεθούν σε τρεις κατηγορίες (σχήμα 4):

1. Ουδέτερες, όπως οι τύπου διόλης και αμιδίου, στις οποίες δεν αναπτύσσονται ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις με τους αναλύτες, είναι ανεξάρτητες από την τιμή του pH της κινητής φάσης, αλλά παρουσιάζουν μικρή εκλεκτικότητα.
2. Φορτισμένες, όπως η μη τροποποιημένη πηκτή πυριτίας και οι αμινοπροπυλο-φάσεις που παρουσιάζουν αυξημένη εκλεκτικότητα, ισχυρές ιοντικές αλ-



Σχήμα 4. Κατηγορίες στατικών φάσεων στη χρωματογραφία HILIC

ληλεπιδράσεις και εξάρτηση από την τιμή του pH της κινητής φάσης.

3. Επιαμφοτερίζουσες (τύπου αμφολύτη), π.χ. ZIC-HILIC και ZIC-pHILIC με υψηλή εκλεκτικότητα, ασθενείς ιοντικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες μπορεί να είναι σημαντικές στο χρωματογραφικό διαχωρισμό και επηρεάζονται από τη φύση του ρυθμιστικού διαλύματος που χρησιμοποιείται.

Σε αυτές τις κατηγορίες εντάσσονται και εκείνες που διαθέτουν και υποστρώματα υβριδικού τύπου, όπως η Xbridge® HILIC-BEH, η ZIC®-Philib και η ZIC®-cHILIC χαρακτηριστικό των οποίων είναι η αυξημένη ανθεκτικότητα τους σε μεγαλύτερο εύρος τιμών pH της κινητής φάσης.

4.1 Χαρακτηριστικές στατικές φάσεις σε χρωματογραφία HILIC

Μέχρι σήμερα έχει παρασκευαστεί σημαντικός αριθμός στατικών φάσεων χρωματογραφίας HILIC γεγονός που έχει συμβάλει στη σημαντική αύξηση των εφαρμογών της τεχνικής. Ορισμένες από αυτές τις στατικές φάσεις αναφέρονται συνοπτικά παρακάτω.

Μη τροποποιημένη πηκτή πυριτίας

Είναι διαδεδομένη η χρήση στηλών με μη-τροποποιημένη πηκτή πυριτίας ως πληρωτικό υλικό σε χρω-

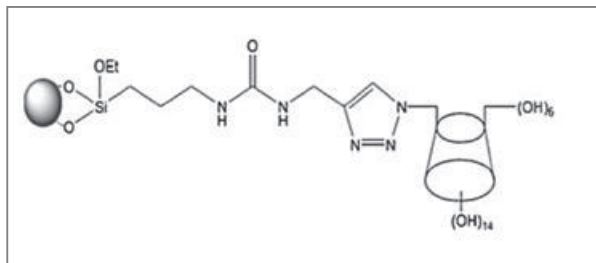
ματογραφία τύπου HILIC. Στην περίπτωση η υδατική φάση καλύπτει την επιφάνεια της πηκτής πυριτίας σχηματίζοντας μία υδατική ψευδο-στιβάδα που είναι απαραίτητη για τη χρωματογραφία HILIC. Παράλληλα, ανάλογα με την τιμή του pH της υδατικής στιβάδας της κινητής φάσης, μεταβάλλεται ο βαθμός ιοντισμού των ελεύθερων ομάδων σιλανόλης της στατικής φάσης καθορίζοντας με αυτόν τον τρόπο τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ πληρωτικού υλικού και αναλυτών. Η αρνητικά φορτισμένη επιφάνεια προσελκύει θετικά φορτισμένους αναλύτες αυξάνοντας την εκλεκτικότητα ενώ απωθεί τυχόν αρνητικά φορτισμένα πολικά μόρια. Στις περιπτώσεις όπου είναι επιθυμητή η αποφυγή αυτών των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων είναι υποχρεωτική η προσθήκη ηλεκτρολυτών και η κατάλληλη ρύθμιση της τιμής του pH της κινητής φάσης ιδιαίτερα στις περιπτώσεις βασικών αναλυτών.

Πηκτή αμινοπροπυλο-πυριτίας

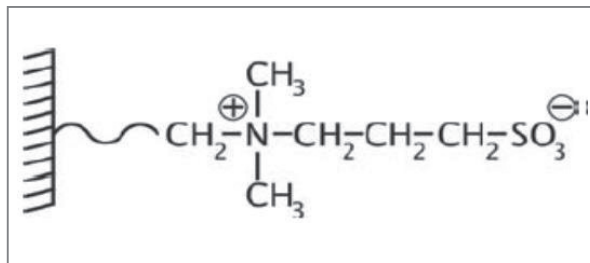
Αυτή η στατική φάση είναι μέτριας πολικότητας και εμφανίζει ομοιότητες με την πηκτή πυριτίας, καθώς το φορτίο της εξαρτάται από την τιμή του pH της υδατικής στιβάδας. Σε τιμές pH όπου η δραστική αμινοπροπυλο-ομάδα είναι θετικά φορτισμένη αναπτύσσονται ισχυρές ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις με ιοντισμένους αναλύτες οπότε και απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις ρυθμιστικών διαλυμάτων στην κινητή φάση για τη μείωση τους. Πλεονέκτημα αυτής της στατικής φάσης, έναντι της μη τροποποιημένης πηκτής πυριτίας, είναι η δυνατότητα περιστροφής της ομάδας προπυλαμίνης, γεγονός που αποτρέπει το σχηματισμό διπλών κορυφών. Σημαντικό μειονέκτημα αυτής της στατικής φάσης αποτελεί η δραστικότητα της αμινοπροπυλο-ομάδας που αρκετές φορές οδηγεί στη μη αναστρέψιμη προσρόφηση των αναλυτών.

Πηκτή πυριτίας με πολυηλεκτριμίδιο και παραγωγή του

Η πηκτή πυριτίας - συνδεδεμένη με πολυηλεκτριμίδιο είναι ιδιαίτερα πολική στατική φάση - από τις πλέον κατάλληλες για χρωματογραφία HILIC. Υπάρχουν αρκετές αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικές με αναλύσεις πεπτιδίων, βασικών φαρμάκων, υδατανθράκων, ολιγοσακχαριτών και νουκλεϊνικών οξέων με χρωμα-



Σχήμα 5. Δομική αναπαράσταση πηκτής πυριτίας χημικά συνδεδεμένης με ομάδες β-κυκλοδεξτρίνης



Σχήμα 6. Η λειτουργική ομάδα σουλφοβηταΐνης σε στήλες ZIC®-HILIC και ZIC®-pHILIC

τογραφία HILIC με αυτό το πληρωτικό υλικό.

Πηκτή πυριτίας με ομάδες κυκλοδεξτρινών

Τα τελευταία χρόνια γίνεται προσπάθεια να χρησιμοποιηθούν στήλες κυκλοδεξτρινών στη χρωματογραφία HILIC με σκοπό να επιτευχθούν χειρόμορφοι διαχωρισμοί (σχήμα 5). Σε αυτά τα πληρωτικά υλικά η πηκτή πυριτίας χρησιμοποιείται ως βάση η οποία συνδέεται χημικά με κυκλοδεξτρίνες. Οι κυκλοδεξτρίνες είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες από πέντε ή περισσότερα μόρια D-γλυκόζης, συνδεδεμένα μεταξύ τους με 1,4 γλυκοσιδικό δεσμό και έχουν τη μορφή κόλουρου κώνου με εκτεθειμένα δευτεροταγή υδροξύλια στο μεγάλο άνοιγμα και πρωτοταγή στο μικρό άνοιγμα της κοιλότητας. Οι πιο κοινές αποτελούνται από έξι, επτά και οκτώ μόρια γλυκόζης (α-, β-, γ-κυκλοδεξτρίνες).

Η κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών είναι υδρόφοβη και διευκολύνει το σχηματισμό συμπλόκων εγκλεισμού, ενώ τα εξωτερικά υδροξύλια είναι πολικά, γεγονός που καθιστά τις στατικές φάσεις κυκλοδεξτρινών κατάλληλες για χρωματογραφία HILIC.

Πηκτή πυριτίας με ομάδες σουλφο-αλκυλο-βηταΐνης

Το πληρωτικό υλικό των στηλών ZIC®-HILIC και ZIC®-pHILIC είναι πηκτή πυριτίας επικαλυμμένη με στρώμα από ομάδες σουλφο-αλκυλο-βηταΐνης. Η λειτουργική ομάδα του πληρωτικού υλικού είναι αμφολύτης με το κατιοντικό κέντρο του τεταρτοταγούς αμμωνίου σε αναλογία 1:1 με την αρνητικά φορτισμένη σουλφονική ομάδα (σχήμα 6). Πρακτικά, η ταυτόχρονη παρουσία δύο αντίθετα φορτισμένων ομάδων προσδίδει μηδενικό συνολικό φορτίο στη στήλη.

Οι σουλφο-αλκυλο-βηταΐνικοί αμφολύτες διατηρούν την ιδιότητα τους να συγκρατούν ισχυρά

το νερό, δημιουργώντας το επιθυμητό για τη HILIC υδατικό στρώμα. Το συγκεκριμένο υλικό διατίθεται εμπορικά από τη Merck SeQuant™ και είναι ανθεκτικό σε εύρος τιμών pH 3 έως 8 για τη στήλη ZIC®-HILIC. Στη στήλη ZIC®-pHILIC η πηκτή πυριτίας έχει αντικατασταθεί από πορώδη σωματίδια πολυμερούς με αποτέλεσμα να είναι ανθεκτική σε εύρος τιμών pH είναι 2 έως 10. Οι στατικές φάσεις αυτού του τύπου είναι σχεδιασμένες για διαχωρισμό όξινων, βασικών αλλά και ουδέτερων μορίων.

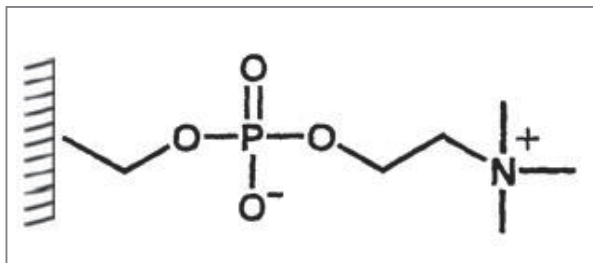
Πηκτή πυριτίας με ομάδες φωσφατιδυλο-χολίνης

Το πληρωτικό υλικό των στηλών ZIC®-cHILIC είναι πηκτή πυριτίας επικαλυμμένη με στρώμα από ομάδες φωσφατιδυλο-χολίνης (σχήμα 7). Η λειτουργική ομάδα του πληρωτικού υλικού είναι αμφολύτης με το κατιοντικό κέντρο του τεταρτοταγούς αμμωνίου σε αναλογία 1:1 με την αρνητικά φορτισμένη φωσφορική φωσφορυλομάδα.

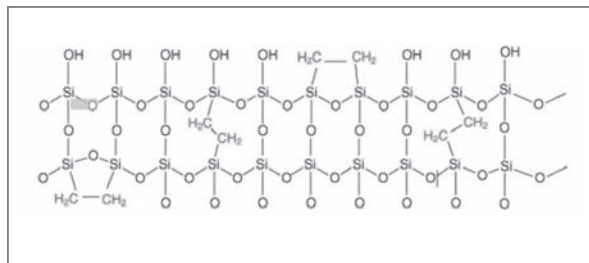
Όπως σε όλες τις περιπτώσεις των επαμφοτερίζουσων στατικών φάσεων ο διαχωρισμός των αναλυτών επιτυγχάνεται με μηχανισμό κατανομής σε συνδυασμό με ασθενείς ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Οι περισσότερες προσβάσιμες θετικές ομάδες του πληρωτικού υλικού ευνοούν την εκλεκτικότητα με τη μεταβολή των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων.

Πηκτή πυριτίας με σωματίδια υβριδικής τεχνολογίας (BEH)

Η στήλη BEH XBridge®-HILIC αποτελείται από σωματίδια υβριδικής τεχνολογίας που φέρουν ομάδες bis-triethoxysilyl ethane (BEH-particles). Οι εσωτερικές γέφυρες αιθυλενίου που συνδέουν τα μονομερή bis (triethoxysilyl) ethane στα σωματίδια BEH, καθι-



Σχήμα 7. Η λειτουργική ομάδα φωσφατιδυλο-χολίνης σε στήλες ZIC®-cHILIC



Σχήμα 8. Σχηματικό διάγραμμα του πληρωτικού υλικού της στήλης BEH-XBridge®-HILIC

στούν αυτό το πληρωτικό υλικό ανθεκτικό σε κινητές φάσεις με ακραίες τιμές pH, επιπλέον οι γέφυρες αιθυλενίου μειώνουν την οξύτητα των ομάδων σιλανόλης βελτιώνοντας την έκλυση βασικών αναλυτών (σχήμα 8).

Ο χρωματογραφικός μηχανισμός συγκράτησης των στηλών BEH XBridge®-HILIC περιλαμβάνει φαινόμενα προσρόφησης, κατανομής και δευτερεύουσες αλληλεπιδράσεις ανάλογες με αυτές που λαμβάνουν χώρα σε στήλες πηκτής πυριτίας. Μεγαλύτερη συγκράτηση επιτυγχάνεται όταν στην κινητή φάση χρησιμοποιείται οργανικός διαλύτης (π.χ. ακετονιτρίλιο) σε ποσοστό μεγαλύτερο 80%. Εναλλακτικοί οργανικοί διαλύτες μπορούν, επίσης, να ενισχύσουν τη συγκράτηση και να μεταβάλλουν την επιλεκτικότητα, σε συνδυασμό με τη μείωση της πολικότητας της κινητής φάσης. Το pH της κινητής φάσης μπορεί, επίσης, να μεταβάλλει τη συγκράτηση, ανάλογα με το φορτίο των αναλυτών ή/και των επιφανειακών ομάδων σιλανόλης. Αυτή η στατική φάση έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής σε σχέση με τις στήλες HILIC με βάση την πηκτή πυριτία, ενώ έχει αυξημένη εκλεκτικότητα και ευαισθησία.

4.2 Κινητές φάσεις στη χρωματογραφία HILIC

4.2.1 Οργανικοί τροποποιητές

Διάφοροι πολικοί, ευδιάλυτοι στο νερό οργανικοί διαλύτες είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν στη HILIC, ωστόσο το ακετονιτρίλιο αποτελεί μέχρι σήμερα την πρώτη επιλογή καθώς διαλύει τους περισσότερους αναλύτες και προσφέρει ικανοποιητική συγκράτηση. Η εκλουστική ισχύς των διαλυτών είναι γενικά αντίστροφη από την RP-HPLC και παριστάνεται ως εξής: ακετόνη < ακετονιτρίλιο < ισοπροπανόλη < αι-

θανόλη < μεθανόλη < νερό. Το ακετονιτρίλιο εμφανίζει μετά την ακετόνη τη μικρότερη εκλουστική ισχύ. Η μεθανόλη αποτελεί τη δεύτερη επιλογή ως οργανικός διαλύτης συνήθως όταν οι αναλύτες δεν διαλύονται καλά στο ακετονιτρίλιο.

Στην περίπτωση ισοκρατικής έκλυσης η συνηθισμένη αναλογία διαλυτών αποτελείται από 40 - 97% οργανικού τροποποιητή σε νερό ή σε ρυθμιστικό διάλυμα. Για την εξαγωγή επαναλήψιμων αποτελεσμάτων απαιτείται το ποσοστό ύδατος να διατηρείται τουλάχιστον στο 3% της σύνθεσης του μίγματος για να υπάρχει επαρκής ενυδάτωση των μορίων της στατικής φάσης. Σε αντίθεση με την RP-HPLC, όσο υψηλότερο είναι το κλάσμα του οργανικού διαλύτη στην κινητή φάση τόσο περισσότερο αυξάνεται η συγκράτηση των αναλυτών. Σε συνθήκες βαθμιδωτής έκλυσης λαμβάνεται ιδιαίτερη μέριμνα, καθώς η HILIC απαιτεί μεγαλύτερα διαστήματα εξισορρόπησης της στήλης στις διαφορετικές συνθέσεις της κινητής φάσης σε σχέση με την RP-HPLC. Αυτό συμβαίνει γιατί το υδατικό στρώμα προέρχεται από την κινητή φάση με αποτέλεσμα να εξαρτάται άμεσα από τη σύστασή της. Για τον ίδιο λόγο δεν πρέπει να γίνεται απότομη αλλαγή από 100% οργανική σε 100% υδατική κινητή φάση.

4.2.2 Ρυθμιστικά διαλύματα

Για τους περισσότερους αναλύτες συγκεντρώσεις ρυθμιστικού διαλύματος σε εύρος 5 έως 20mM είναι επαρκείς με ανώτατο όριο τα 200 έως 300mM ανάλογα με την διαλυτότητα των αλάτων στην κινητή φάση. Η συγκέντρωση του ρυθμιστικού διαλύματος πρέπει να επιλέγεται με προσοχή, ώστε να μην παρεμποδίζει τη διαδικασία της ανίχνευσης. Οι αρ-

νητικά ή θετικά φορτισμένες στατικές φάσεις τυπικά απαιτούν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ρυθμιστικού διαλύματος από τις ουδέτερες ενώσεις ή τους αμφολύτες.

4.2.3 Επίδραση της τιμής του pH της κινητής φάσης

Η επιλογή της τιμής του pH της κινητής φάσης είναι ιδιαίτερα σημαντική και εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του αναλύτη και από τις ιδιότητες της στατικής φάσης. Στις περιπτώσεις που ο αναλύτης είναι αδιάστατος σε μια ορισμένη τιμή pH της κινητής φάσης, η κατακράτηση του από τη στήλη μπορεί να αυξηθεί με αλλαγή της τιμής του pH της κινητής φάσης ώστε να μετατραπεί στην ιοντισμένη του μορφή. Το κατάλληλο εύρος των τιμών του pH της κινητής φάσης στις στήλες HILIC με βάση την πηκτική πυριτίας είναι 3 έως 7,5 ενώ στις στήλες HILIC με πολυμερικό πληρωτικό υλικό το εύρος των τιμών του pH της κινητής φάσης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι 2 έως 10.

5. Εφαρμογές

Η χρωματογραφία HILIC βρίσκει σήμερα ευρεία εφαρμογή στην ανάλυση διαφόρων πολικών αναλυτών, που παρουσιάζουν ιδιαίτερη ετερογένεια ως προς τη δομή τους⁷. Μέχρι στιγμής έχουν δημοσιευτεί πολυάριθμα επιστημονικά άρθρα που αφορούν σε μεγάλο εύρος αναλύσεις από μικρά πολικά μόρια μέχρι ογκώδη οργανικά πολυμερή και βιολογικά μεγαλομόρια. Μετά το 2005 παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των εφαρμογών HILIC, με σκοπό να καλύψει το κενό ανάμεσα στη χρωματογραφία κανονικής και αντίστροφης φάσης. Θεωρείται ιδανική για τον προσδιορισμό μικρών, βασικών μορίων όπως τα φαρμακευτικά μόρια, γι' αυτό και έτυχε μεγάλης ανταπόκριση στην φαρμακευτική επιστήμη. Κατέχει σημαντική θέση στον τομέα ανάπτυξης νέων φαρμακευτικών ουσιών, όπου οι πιθανές ενώσεις αναλύονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις σε βιοαναλυτικές εφαρμογές.

Πολλές από τις νέες θεραπευτικές ενώσεις αποτελούν μόρια υψηλής πολικότητας και η RP-LC αν και χρησιμοποιείται επιτυχώς σε βιολογικούς προσδιορισμούς, δεν μπορεί να ανταπεξέλθει. Ανάμεσα στις διάφορες εφαρμογές είναι και ο προσδιορισμός φολικών σε ανθρώπινο πλάσμα. Δοκιμάστηκαν διάφοροι

τύποι στηλών, ανάμεσά τους και αντιστρόφου φάσεως, με πιο κατάλληλη τελικά την πολυ (2-υδροξυαιθυλασπαρταμιδο) πηκτική πυριτίας⁸. Επίσης η HILIC σε συνδυασμό με δίδυμη φασματομετρία μαζών (MS/MS) με μη τροποποιημένη σίλικα εφαρμόστηκε για την ανάλυση ομεπραζόλης και 5-OH ομεπραζόλης σε πλάσμα⁹, αλλά και της ακυκλοβίρης σε πλάσμα, αμνι-ακό υγρό και πλακούντα¹⁰. Επιπρόσθετα έχουν αναλυθεί με HILIC το ισονιαζίδιο που δεν κατακρατείται εύκολα σε συνθήκες RP-LC, αλλά και το νικοτινικό οξύ με τους μεταβολίτες του¹¹.

Μια άλλη κατηγορία φαρμακευτικών μορίων με μεγάλη υδροφιλία είναι τα αντιβιοτικά¹². Χαρακτηριστικό παράδειγμα εφαρμογής της HILIC είναι ο προσδιορισμός τριών τετρακυκλινών¹³ σε προπυλαμινο-πηκτική πυριτίας και μη τροποποιημένη πηκτική πυριτίας. Η τελευταία κρίθηκε ακατάλληλη λόγω της "ουράς" (tailing) που παρατηρήθηκε στις χρωματογραφικές κορυφές. Το γεγονός αποδόθηκε στις ισχυρές σιλανόφιλες αλληλεπιδράσεις με το τεταρτοταγές άζωτο των τετρακυκλινών. Η ZIC-HILIC σε συνδυασμό με ESI-MS χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση αμινογλυκοσιδικών αντιβιοτικών παρόμοιας δομής (drug monitoring) σε ανθρώπινο πλάσμα¹⁴. Τα επίσης αρκετά υδρόφιλα αντικαρκινικά φάρμακα θεωρούνται κατάλληλα για την HILIC. Ο προσδιορισμός του αντιμεταβολίτη φθοροουρακίλη¹⁵ και του χημειοθεραπευτικού παράγοντα επιρουβικίνη¹⁶ αποτελούν δύο χαρακτηριστικά παραδείγματα. Η τεχνική εφαρμόστηκε και σε αναλύσεις ναρκωτικών ουσιών, για παράδειγμα κατά την ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού κοκαΐνης και των μεταβολιτών της σε βιολογικά υγρά και ιστό¹⁷. Στην περίπτωση αυτή μετά το στάδιο της υγρό-υγρό εκχύλισης ακολούθησε διαχωρισμός σε απλή πηκτική πυριτίας και βαθμιδωτή έκλυση με ακετονιτρίλιο (80-56%) σε οξικό αμμώνιο 2mM. Χαρακτηριστικές είναι επίσης οι εφαρμογές της HILIC σε αναλύσεις για τον έλεγχο ντόπινγκ σε συνδυασμό με LC-TOF/MS¹⁸. Έχει επίσης εφαρμοστεί σε αναλύσεις αντιυπερτασικών φαρμάκων σε ανθρώπινο πλάσμα^{19,20} και στην ανάλυση της αλπραζολάμης και του μεταβολίτη της σε πλάσμα²¹ με στήλη Xbridge HILIC BEH με την τεχνική LC-ESI/MS και του φαρμάκου deferasirox σε αναλύσεις δειγμάτων πλάσματος ασθενών που πάσχουν από θαλασσαιμία²².

Τα τελευταία χρόνια εξαιρετικό ενδιαφέρον πα-

ρουσιάζουν εφαρμογές της χρωματογραφίας HILIC σε αναλύσεις προσμίξεων φαρμακευτικών ενώσεων, διότι δίνουν τη δυνατότητα χρωματογραφικού διαχωρισμού ενώσεων με παραπλήσια χημική δομή με ισοκρατική έκλυση και χαμηλά όρια ποσοτικοποίησης ειδικά αν συνδυαστεί με την τεχνολογία UPLC²³.

Πολύ ενδιαφέρουσες αποδεικνύονται και οι εφαρμογές της HILIC για την ανάλυση πόσιμου²⁴ και απόβλητου νερού²⁵. Στην πρώτη περίπτωση αναλύθηκε το διχλωρο-οξικό οξύ σε δείγματα πόσιμου νερού με στήλη προπυλαμινοσίλικας και κινητή φάση ακετονιτριλίου/40mM μυρμηκικού αμμωνίου 60:40. Η στατική φάση επιλέχθηκε καθώς μετά από πολλές δοκιμές σε διαφορετικές στήλες αντιστροφής φάσεως οι κορυφές εμφανίζονταν συνεχώς μετακινούμενες και χωρίς σταθερό σχήμα. Στη δεύτερη περίπτωση οι ερευνητές ποσοτικοποίησαν κυτταροστατικά και μεταβολίτες τους στον οργανισμό με HILIC/MS-MS σε συνδυασμό με εκχύλιση στερεάς φάσης. Κατέληξαν στο συμπέρασμα πως μηχανισμοί κατανομής και προσρόφησης εμπλέκονται στη συγκράτηση των αναλυτών και πως η προσφορά του καθενός διαφέρει ανάλογα με το ποσοστό νερού στην κινητή φάση από 1,6 μέχρι 40%. Η προσρόφηση των ουσιών από τη στήλη γίνεται πιο έντονη καθώς το % ποσοστό του νερού πέφτει κάτω από 16%.

Χημικά τροποποιημένη πηκτή πυριτίας με αμίδιο επιλέχθηκε για τον διαχωρισμό και ποσοτικοποίηση μεγάλου αριθμού τοξινών από κυανοβακτήρια συμπεριλαμβανομένων και αναλόγων της σαξιτοξίνης και α-ανατοξίνης σε δείγματα από φύκια²⁶. Ως ανιχνευτής χρησιμοποιήθηκε φασματόμετρο μαζών, ενώ τα δείγματα εισαγάγονταν στο όργανο χωρίς προκατεργασία. Στον τομέα ανάλυσης και διαχωρισμού συνθετικών πολυμερών και ολογομερών μέχρι σήμερα χρησιμοποιούνταν τεχνικές όπως η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους. Σε αυτές προστίθεται πλέον και η HILIC μετά τον διαχωρισμό πολυ-

μερών βινυλοπυρρολιδινόνης μοριακού βάρους μέχρι 360 kDa. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε υπόστρωμα σίλικα πηκτής πυριτίας με διολομάδες και βαθμωτή έκλυση 0-50% νερού σε ακετόνη.

Όσον αφορά στο διαχωρισμό υδατανθράκων η διαδικασία είναι ιδιαίτερα επίπονη καθώς χαρακτηρίζονται από ιδιότητες που δυσκολεύουν την επιλογή της τεχνικής. Ως παράδειγμα αναφέρεται η έλλειψη θερμικής σταθερότητας απαραίτητη στην αεριοχρωματογραφία και η μεγάλη πολικότητα εξαιτίας των υδροξυλίων και των άλλων πολικών ομάδων που οδηγεί σε μειωμένη κατακράτηση στην RPLC. Γι'αυτούς τους λόγους η HILIC χρησιμοποιήθηκε πολύ νωρίς σε ευρύ πεδίο ανάλυσης των ενώσεων αυτών όπως κατα τον διαχωρισμό υδατανθράκων σε τρόφιμα και αναψυκτικά, γλυκοαλκαλοειδή και των προϊόντων υδρόλυσης τους σε φυτά της οικογένειας Solanaceae, γλυκοαμινογλυκάνες και γλυκοπρωτεΐνες¹⁰.

Μέχρι στιγμής δεν έχει δημοσιευθεί μεγάλος αριθμός επιστημονικών μελετών που αφορούν στο διαχωρισμό πρωτεϊνών με βάση τη HILIC, κυρίως εξαιτίας θεμάτων διαλυτότητας αλλά και επειδή οι πρωτεΐνες αναλύονται ικανοποιητικά με τις υπάρχουσες τεχνικές χωρίς την ανάγκη χρησιμοποίησης μιγμάτων οργανικών διαλυτών. Ο τομέας των ιστονών είναι ο μόνος στον οποίο η HILIC εφαρμόζεται εντατικά. Οι ιστόνες συμβάλλουν στη σύνθεση της κυτταρικής χρωματίνης, χρησιμεύοντας ως πυρήνας γύρω από τον οποίο τυλίγεται το DNA²⁷.

Τέλος η HILIC έχει αναγνωριστεί ως ένα χρήσιμο εργαλείο στον απαιτητικό τομέα της μεταβολομικής. Σκοπός του κλάδου αυτού είναι η απρόσκοπτη ποσοτικοποίηση όλων των μεταβολιτών ενός βιολογικού συστήματος. Οι μεταβολίτες, όντας τις περισσότερες φορές ενώσεις υψηλής πολικότητας, αναλύονται ικανοποιητικά σε συνθήκες HILIC. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ο προσδιορισμός ολιγοσακχαριτών και σακχαριδικών νουκλεοτιδίων σε φυτά με HILIC-ESI-MS²⁸. □

Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC)

Eleni Kalogria, Sofia Georgakakou, Ariadni Vonaparti, Melenia Pligoropoulou, Stefanos Meimaroglou, Yannis Malamos, Sabina Zaharaki, Irene Panderi*

*University of Athens, Department of Pharmacy,
Division of Pharmaceutical Chemistry, Athens, Greece*

Summary

Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) is a separation technique applied to the analysis of polar and hydrophilic compounds using polar stationary phases. For years, normal phase chromatography (NP-HPLC) was the separation technique of choice for polar analytes, using non-aqueous mobile phases. Over the past few years HILIC has seen a substantial increase in popularity and it has

become a good alternative for the analysis of polar compounds. This technique has been described as reversed-reversed phase, since the elution order of the analytes is reversed from that of RP-HPLC. This review presents an overview of the HILIC separation system comparing it to other chromatographic modes. Furthermore, the progress in understanding the separation mechanism along with new trends in HILIC chromatography materials is discussed. Characteristic applications of HILIC mode chromatography in the field of pharmaceutical analysis are also presented.

KEY WORDS: HPLC, HILIC, separation mechanism, polar compounds

***Author for correspondence:**

Irene Panderi, Email: ipanderi@pharm.uoa.gr

Βιβλιογραφία

1. Wieland T., Determan H. Some recent developments in gel chromatography, with special reference to thin layers. *J. Chromatogr.* 28, 2-11, 1967.
2. Linden J.C., Lawhead C.L. Liquid chromatography of saccharides. *J. Chromatogr.* 105, 125-133, 1975
3. Alpert A. J. Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. *J. Chromatogr.* 499, 177-196, 1990.
4. Dejaegher B., Heyden Y.V. HILIC methods in pharmaceutical analysis. *J. Sep. Sci.* 33, 698-715, 2010.
5. Hemström P., Irgum K. Hydrophilic interaction chromatography. *J. Sep. Sci.* 29, 1784-1821, 2006.
6. Guo Y. Recent progress in the fundamental understanding of hydrophilic interaction chromatography (HILIC). *Analyst.* 140, 6452-6466, 2015.
7. Buszewski B., Noga S. Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)-a powerful separation technique. *Anal. Bioanal. Chem.* 402, 231-247, 2012.
8. Garbis S. D., Melse-Boonstra A., West C. E., van Breen R. B. Determination of folic acid in human plasma using hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 73, 5358-5364, 2001.
9. Qi S., Naidong W. Analysis of omeprazole and 5-OH omeprazole in human plasma using hydrophilic interaction chromatography with tandem mass spectrometry (HILIC-MS/MS)-Eliminating evaporation and reconstitution steps in 96-well liquid/liquid extraction. *J. Chromatogr. B.* 830, 135-142, 2006.
10. Brown S. D., White C. A., Bartlett M. G. Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) and Advanced Applications. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 16, 1871-1876, 2002.
11. Li A. C., Junga H., Shou W. Z., Bryant M. S., Jiang X.Y., Naidong W. Direct injection of solid-phase extraction eluents onto silica columns for the analysis of polar compounds isoniazid and cetirizine in plasma using hydrophilic interaction chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18, 2343-2350, 2004.

12. Kahsay G., Song H., Van-Schepdael A., Cabooter D., Adams E. Hydrophilic interaction chromatography (HILIC) in the analysis of antibiotics. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 87, 142-154, 2014.
13. Valette J. C., Demesmay C., Rocca J. L., Verdon E. Separation of Tetracycline Antibiotics by Hydrophilic Interaction Chromatography Using an Amino-Propyl Stationary Phase. *Chromatographia*. 59, 55-60, 2004.
14. Oertel R., Neumeister V., Kirch W. Hydrophilic interaction chromatography combined with tandem-mass spectrometry to determine six aminoglycosides in serum. *J. Chromatogr. A* 1058, 197-201, 2004.
15. Pisano R., Breda M., Grassi S., James C. A. Hydrophilic interaction liquid chromatography-APCI-mass spectrometry determination of 5-fluorouracil in plasma and tissues. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 38, 738-745, 2005.
16. Li R., Huang J. Chromatographic behavior of epirubicin and its analogues on high-purity silica in hydrophilic interaction chromatography. *J. Chromatogr. A* 1041, 163-169, 2004.
17. Giroud C., Michaud K., Sporkert F., Eap C., Augsburger M., Cardinal P., Mangin P. A fatal overdose of cocaine associated with coingestion of marijuana, buprenorphine, and fluoxetine. Body fluid and tissue distribution of cocaine and its metabolites determined by hydrophilic interaction chromatography-mass spectrometry (HILIC-MS). *J. Anal. Toxicol.* 28, 464-74, 2004.
18. Vonaparti A., Lyris E., Panderi I., Koupparis M., Georgakopoulos C. Direct injection horse-urine analysis for the quantification and confirmation of threshold substances for doping control. IV. Determination of 3-methoxytramine by hydrophilic interaction liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Drug Testing and Analysis* 1, 365-371, 2009.
19. Georgakakou S., Kazanis M., Panderi I. Hydrophilic interaction liquid chromatography/positive ion electrospray ionization mass spectrometry method for the quantification of perindopril and its main metabolite in human plasma. *Anal Bioanal Chem.* 397, 2161-2170, 2010.
20. Meimaroglou S., Vonaparti A., Migias G., Gennimata D., Poulou S., Panderi I. Direct injection human plasma analysis for the quantification of antihypertensive drugs for the therapeutic drug monitoring using hydrophilic interaction liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 1004, 1-9, 2015.
21. Kalogria E., Pistos C., Panderi I. Hydrophilic interaction liquid chromatography/positive ion electrospray ionization mass spectrometry method for the quantification of alprazolam and a-hydroxy-alprazolam in human plasma. *J Chromatogr B* 942-943, 158-164, 2013.
22. Pligoropoulou H., Vonaparti A., Panderi I. Hydrophilic interaction liquid chromatography/positive ion electrospray mass spectrometry for the quantification of deferasirox, an oral iron chelator, in human plasma. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed Life Sci.* 893-894, 114-20, 2012.
23. Jones M.D., William B., A UPLC Method for Analysis of Metformin and Related Substances by Hydrophilic Interaction Chromatography (HILIC). <http://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004080en.pdf>, Waters application note.
24. Kovalova L., Mc Ardell C. S., Hollender J. Challenge of high polarity and low concentrations in analysis of cytostatics and metabolites in wastewater by hydrophilic interaction chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216, 1100-1108, 2009.
25. Dixon A. M., Delinsky D. C., Bruckner J. V., Fisher J.W., Bartlett M. G. Analysis of dichloroacetic acid in drinking water by ion exchange HILIC-LC/MS/MS. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 27, 2343-2355, 2004.
26. Dell'Aversano C., Eaglesham G. K., Quilliam M. A. Analysis of Cyanobacterial Toxins by Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1028, 155-164, 2004.
27. Mizzen C. A. Purification and analyses of histone H1 variants and H1 posttranslational modifications. *Methods Enzymol.* 375, 278-297, 2004.
28. Tolstikov V. V., Fiehn O. Analysis of highly polar compounds of plant origin: combination of hydrophilic interaction chromatography and electrospray ion trap mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 301, 298-307, 2002.

Νανοϋλικά και Ποσοτικές Σχέσεις Δομής - Δράσης

Ελένη Βροντάκη^{1,2}, Γεωργία Μελαγράκη², Αντρέας Αφαντίτης², Θωμάς Μαυρομούστακος^{1*}

¹Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15784, Αθήνα, Ελλάδα

²Τμήμα Χημειοπληροφορικής, NovaMechanics Ltd, Λευκωσία, Κύπρος

Περίληψη

Τις τελευταίες δεκαετίες, η νανοτεχνολογία έχει εδραιωθεί στην καθημερινή ζωή του ανθρώπου με πολλές εφαρμογές, όπως στα καλλυντικά, τα κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα, τα ηλεκτρονικά, τα οπτικά αλλά και την ιατρική. Δεδομένου ότι η νανοτεχνολογία αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς, η τοξικότητα κάποιων νανοϋλικών στους ζωντανούς οργανισμούς και τα περιβαλλοντικά οικοσυστήματα δεν είναι ακόμα γνωστή. Λόγω των διαφορετικών τύπων, μεγεθών και σχημάτων των νανოსωματιδίων απαιτούνται πολλές δαπανηρές και χρονοβόρες διαδικασίες για την παραδοσιακή τοξικολογική αξιολόγησή τους. Μία αποτελεσματική και

φτηνή εναλλακτική λύση είναι η εφαρμογή υπολογιστικών μοντέλων πρόβλεψης με χρήση Ποσοτικών Σχέσεων Νανοδομής - Δραστηκότητας, QNAR (Quantitative Nanostructure Activity Relationships). Οι ερευνητές έχουν εστιάσει στις δυσμενείς επιπτώσεις των νανο-οξειδίων του μετάλλου και των νανοςωματιδίων του άνθρακα. Μέχρι σήμερα, υπάρχουν λίγα διαθέσιμα σύνολα δεδομένων των νανοςωματιδίων, και ως εκ τούτου, οι μελέτες QNAR είναι σπάνιες. Στην εργασία αυτή, αναφέρονται οι πρόσφατες μελέτες για τα διαθέσιμα μοντέλα πρόβλεψης Ποσοτικών Σχέσεων για την εκτίμηση της επικινδυνότητας των νανοϋλικών.

ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ: νανοτεχνολογία, νανοϋλικά, QNAR, νανοςωματίδια, τοξικολογία

1. Νανοτοξικολογία - Εισαγωγή

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει έκδηλη τοξικότητα ορισμένων νανοςωματιδίων στους ζωντανούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπινου σώματος (τοξικότητα), καθώς και δυνητικές αρνητικές επιπτώσεις που έχουν στα περιβαλλοντικά οικοσυστήματα (οικοτοξικότητα)¹. Είναι αναμενόμενο ότι τα νανοϋλικά βρίσκονται στο περιβάλλον (αέρας, νερό, και έδαφος) κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής

τους, την παραγωγή, τη διανομή ή τη χρήση τους. Κατά την τελευταία δεκαετία, ένας νέος κλάδος της οικοτοξικολογίας έχει αναπτυχθεί και ονομάζεται νανοοικοτοξικολογία. Οι πρώτες δημοσιεύσεις στο πεδίο αυτό εμφανίσθηκαν στη διεθνή βιβλιογραφία το 2006. Τα οικοτοξικολογικά προβλήματα από τα νανοϋλικά αποτελούν ενδιαφέροντα θέματα για τους περιβαλλοντικούς τοξικολόγους και τους ειδικούς αξιολόγησης οικολογικού κινδύνου². Το μόνο σίγουρο είναι ότι υπάρχει ανεπαρκής γνώση σχετι-

* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία:

Θωμάς Μαυρομούστακος, E-mail: tmavrom@chem.uoa.gr

κά με τις επιβλαβείς αλληλεπιδράσεις των νανοσωματιδίων με τα βιολογικά συστήματα συστήματα καθώς και με το περιβάλλον.

Τα νανοϋλικά υπάρχουν στη φύση, όπως είναι η σκόνη από τις δασικές πυρκαγιές αλλά και τις δραστηριότητες του ηφαιστείου, ο βιογενής μαγνητίτης, τα ιικά σωματίδια, ακόμη και πρωτεϊνικά μόρια, όπως η φερριτίνη. Τέτοια νανο-μεγέθους υλικά μπορούν επίσης να παράγονται ακούσια από ανθρωπογενείς πηγές, όπως από τα υποπροϊόντα καύσης. Τα τελευταία υλικά ονομάζονται κατασκευασμένα νανοϋλικά (Manufactured NanoMaterials, MNMs).

Τα νανοϋλικά που έχουν επεξεργαστεί τεχνητά και έχουν σχεδιαστεί για ένα συγκεκριμένο σκοπό ή λειτουργία καλούνται τεχνητά νανοϋλικά (Engineered NanoMaterials, ENMs). Είναι χρήσιμα λόγω του μικρού μεγέθους τους και της μεγάλης τους επιφάνειας ως προς τον όγκο, γι' αυτό και καθίστανται σημαντικά ως καταλύτες στις χημικές αντιδράσεις, και έχουν επιθυμητές ιδιότητες, λειτουργώντας ως συσκευές χορήγησης φαρμάκων και παράγοντες απεικόνισης στην ιατρική και σε καταναλωτικά προϊόντα, όπως τα αντηλιακά προϊόντα, τα κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα και τα καλλυντικά³.

Δεδομένου ότι η κατασκευή και χρήση των νανοϋλικών αυξάνεται, οι άνθρωποι είναι πιο πιθανό να εκτίθενται κατά την επαγγελματική τους απασχόληση ή μέσω των προϊόντων που καταναλώνουν, και του περιβάλλοντος. Οι εργαζόμενοι στις βιομηχανίες σχετικές με τη νανοτεχνολογία καθώς και σε μικρά εργαστήρια έχουν τεράστια δυνατότητα να εκτεθούν σε τεχνητά νανοϋλικά. Όπως για κάθε νέα τεχνολογία, οι κύριες ανησυχίες αφορούν τη ρύπανση του περιβάλλοντος, την τοξικότητά στους υδρόβιους οργανισμούς και τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις των υλικών αυτών στα οικοσυστήματα. Η έλλειψη διαθέσιμων δεδομένων και η ανεπάρκεια σε πειραματικά πρωτόκολλα εμποδίζουν τη συνολική εκτίμηση του κινδύνου. Οι τοξικές επιδράσεις των νανοϋλικών σε διαφορετικούς οργανισμούς έχουν ήδη περιγραφεί,^{4,5} αλλά οι μετρήσεις των συγκεντρώσεων των τεχνητών νανοϋλικών στο περιβάλλον είναι σχεδόν ανύπαρκτες. Το υψηλό κόστος και η μεγάλη διάρκεια των *in vivo* τοξικολογικών μελετών αποτελούν εμπόδια στον έλεγχο όλων των καταναλωτικών προϊόντων που περιλαμβάνουν νανοσω-

ματίδια. Οι γνώσεις μας για τις επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον συγκεντρώσεων νανοϋλικών ή νανοσωματιδίων είναι ελλιπείς, ενώ οι μηχανισμοί των αλληλεπιδράσεων των νανοσωματιδίων με τα βιολογικά μόρια δεν είναι επαρκώς κατανοητοί.

Τα φυσικά και κατασκευασμένα/τεχνητά νανοσωματίδια λόγω των μοναδικών τους ιδιοτήτων και της βιολογικής τους δραστηριότητας αποκτούν πρόσβαση στο ανθρώπινο σώμα μέσω των κύριων εισόδων του σώματος, όπως το δέρμα, τη γαστρεντερική οδό και τους πνεύμονες. Ξεκινώντας από αυτές τις εισόδους και μέσω των λεπτών τριχοειδών αγγείων, τα νανοσωματίδια μπορούν επίσης να διεισδύσουν βαθύτερα στον οργανισμό και στους ιστούς και να ταξιδέψουν σε όλο το σώμα αλληλεπιδρώντας με άλλους ιστούς και όργανα. Αρκετές φαρμακοκινητικές μελέτες έδειξαν ότι τα νανοσωματίδια μπορούν να βρεθούν σε διάφορα κύτταρα, σε μιτοχόνδρια, ινοβλάστες, λιπιδικά κυστίδια και μακροφάγα, ενώ η άμεση επαφή τους με την επιφάνεια των κυττάρων μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό των δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS), που οδηγεί σε οξειδωτικό στρες και φλεγμονή, στην υπεροξειδωση των λιπιδίων στις κυτταρικές μεμβράνες, με αποτέλεσμα τη βλάβη των κυττάρων, και στη ρύθμιση των γονιδίων που κωδικοποιούν μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη που εμπλέκεται σε φλεγμονώδεις διαδικασίες.¹ Τα νανοσωματίδια συνδέονται ακόμη με τη γονοτοξικότητα και τη νευροτοξικότητα, ενώ οι επιδράσεις των νανοσωματιδίων στο ανοσοποιητικό σύστημα είναι ακόμα ασαφείς.

Όσον αφορά στο οικοσύστημα, υπάρχουν πολλά άρθρα ανασκόπησης σχετικά με τη συμπεριφορά των νανοσωματιδίων στο υδάτινο περιβάλλον,⁶ ενώ μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν δημοσιευμένες αναφορές σχετικά με τη συγκέντρωση των κατασκευασμένων νανοϋλικών στον αέρα.⁷ Τα νανοσωματίδια που βρίσκονται στα υδατικά συστήματα μπορεί να προέρχονται, με φυσικές αβιοτικές ή βιοτικές διαδικασίες:

- φυσικής προέλευσης, έπειτα από ανθρώπινη δραστηριότητα (π.χ. ορυχεία),
- τεχνητά νανοϋλικά που εισέρχονται τυχαία στα υδάτινα συστήματα, ή
- τεχνητά νανοϋλικά που προστίθενται σκόπιμα στα συστήματα αυτά, συμπεριλαμβανομένου

του νανο-σιδήρου μηδενικού σθένους ($\text{Fe}^{(0)}_{(\text{NP})}$) για την απομάκρυνση του $\text{As}(\text{III})$ από τα υπόγεια ύδατα.⁶

Τοξικολογικές μελέτες σε ζώα έδειξαν ότι ορισμένοι τύποι νανοσωματιδίων στον αέρα θα μπορούσε να προκαλέσουν ασθένεια στους πνεύμονες.

Οι πιθανές αρνητικές επιπτώσεις των σωματιδίων στην υγεία εξαρτώνται από ορισμένες βασικές παραμέτρους, όπως τη δόση, τη διάσταση, και την αντοχή. Ωστόσο, έχει δείχθει ότι οι φυσικές και χημικές ιδιότητες των νανοσωματιδίων διαφέρουν από αυτές των σωματιδίων στη μικρο- ή μακρο-κλίμακα^{1,8}. Ειδικότερα, είναι γνωστό ότι τα πολύ λεπτά σωματίδια έχουν περισσότερες αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία από ότι τα μεγαλύτερα σωματίδια. Επιπλέον, η μείωση, για παράδειγμα, του μεγέθους των δειγμάτων χρυσού επάγει μεταβολή στο χρώμα από λαμπρό κίτρινο σε κοκκινωπό-μωβ έως και μπλε. Οι νέες και μοναδικές ιδιότητες των νανοσωματιδίων (δηλαδή φυσικοχημικά ή/και βιολογικά χαρακτηριστικά) συχνά καθορίζονται από τις σχέσεις μεταξύ του μεγέθους τους, της επιφάνειας, και της δομής τους. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων αυξάνει την επιφάνεια, κι έτσι, μικρότερα νανοσωματίδια έχουν μεγαλύτερη επιφάνεια¹. Η τοξικότητα των νανοσωματιδίων σύμφωνα με τον Oberdörster και τους συνεργάτες του⁹ μπορεί να εξαρτάται όχι μόνο από το μέγεθος των σωματιδίων, αλλά και από άλλα χαρακτηριστικά ζωτικής σημασίας, όπως την κατανομή μεγέθους, την κατάσταση συσσωμάτωσης, το σχήμα, την απορροφητικότητα, το εμβαδόν επιφάνειας, τη χημική σύνθεση, την ηλεκτρονική διαμόρφωση εξαρτώμενη από τη δομή, τη χημεία επιφάνειας, το φορτίο επιφάνειας και την κρυσταλλική δομή. Μέχρι σήμερα, η αλληλεπίδραση μεταξύ των ιδιοτήτων των νανοσωματιδίων και των βιολογικών τους επιδράσεων παραμένει ασαφής.

Το γεγονός ότι τα νανοϋλικά αποτελούνται από πολλές ουσίες (κυρίως άνθρακα, άργυρο, ψευδάργυρο, διοξείδιο του πυριτίου, του τιτανίου και του χρυσού) και μπορούν να βρεθούν σε πολλά μεγέθη και σχήματα και με μια ποικιλία από επικαλύψεις επιφάνειας, περιπλέκει την εκτίμηση του κινδύνου. Επιπλέον, μετά την απελευθέρωση των νανοϋλικών στο περιβάλλον, μελέτες έχουν δείξει ότι μπορούν να τεί-

νουν προς συσσωμάτωση, προσκόλληση, διάχυση, διάσπαση, αποικοδόμηση, ή και προσρόφηση διαφόρων ειδών, βιοσυσσώρευση σε οργανισμούς καθώς και βιολογικές μεγεθύνσεις στις τροφικές πυραμίδες, διαδικασίες που δεν εξαρτώνται μόνο από το μέγεθος/σχήμα τους, αλλά και από τις τοπικές περιβαλλοντικές και κυτταρικές συνθήκες¹. Ως εκ τούτου, η αξιολόγηση των φυσικών, χημικών και βιολογικών ιδιοτήτων των νανοσωματιδίων πρέπει να γίνεται σε κάθε φάση και κατάσταση, προκειμένου να εξεταστεί η έκθεση, η τύχη, η μεταφορά και ο μετασχηματισμός τους στο περιβάλλον.

Μέχρι σήμερα, οι περισσότεροι ερευνητές έχουν επικεντρωθεί στις επιπτώσεις ενός μεμονωμένου τύπου σωματιδίου ή αρκετών τύπων σωματιδίων από τα ίδια συστατικά, δηλαδή (α) τα νανοσωματίδια οξειδίου μετάλλου και (β) τα νανοσωματίδια που βασίζονται στον άνθρακα, αντίστοιχα.

1.1 Νανοσωματίδια οξειδίου μετάλλου

Τα οξείδια μετάλλου (MO_x) είναι μια σημαντική ομάδα των ENMs λόγω του περιορισμένου μεγέθους τους και της υψηλής πυκνότητας γωνίας ή θέσεων στην άκρη της επιφάνειας, και γι' αυτό έχουν ευρείες εφαρμογές. Μπορούν να υιοθετήσουν ένα τεράστιο αριθμό δομικών γεωμετριών με μια ηλεκτρονική δομή που μπορεί να παρουσιάζει μεταλλικό, ημιαγωγίμο ή μονωτικό χαρακτήρα. Παράγονται σε μεγάλες ποσότητες και χρησιμοποιούνται συχνά στα καλλυντικά, σε αισθητήρες και αντηλιακά, σε αυτοκαθαριζόμενες επιστρώσεις και σε κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα. Επιπλέον, τα MO_x μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως καταλύτες για αντιδράσεις οξειδοαναγωγής σε τεχνητά συστήματα και φυσικά περιβάλλοντα, και ως παράγοντες επεξεργασίας νερού και υλικών για ηλιακές μπαταρίες¹⁰. Τα πιο μελετημένα συστήματα οξειδίων μετάλλου είναι τα Al_2O_3 , MgO , ZrO_2 , CeO_2 , TiO_2 και SiO_2 . Στα λιγότερο μελετημένα συστήματα νανοδομημένων οξειδίων περιλαμβάνονται αυτά των Zn, Fe, Cu και Sn (Σχήμα 1).

1.2 Νανοσωματίδια άνθρακα

Τα τελευταία 25 χρόνια, μεγάλη σημασία στον τομέα της νανοεπιστήμης και της νανοτεχνολογίας έχει δοθεί σε διάφορες νανοδομές που βασίζονται στον άνθρακα, όπως τα φουλερένια, τους νανοσωλήνες άν-

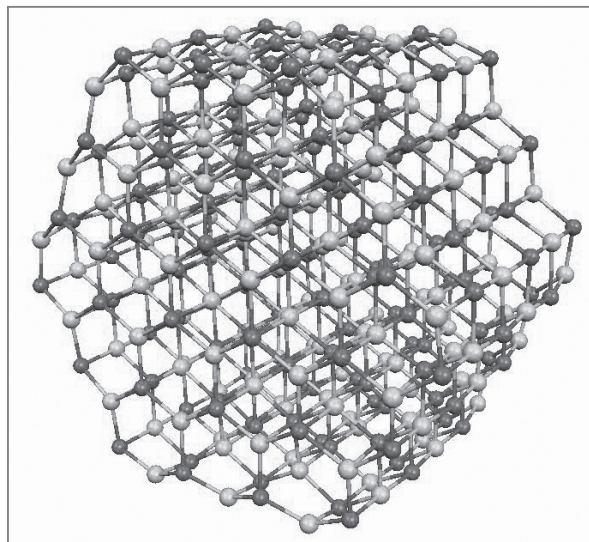
θρακα (Carbon Nanotubes, CNTs) και τα γραφένια.

Τα φουλερένια είναι κούλες δομές σε σχήμα μπάλας που αποτελούνται από άτομα άνθρακα. Το πιο σημαντικό φουλερένιο είναι το γνωστό C_{60} που έχει δομή μπάλας ποδοσφαίρου και περιλαμβάνει 12 πεντάγωνα που βρίσκονται γύρω από τις κορυφές ενός εικοσαέδρου, και 20 εξαγωνικούς δακτύλιους που τοποθετούνται στα κέντρα των εικοσαεδρικών επιφανειών (Σχήμα 2). Τα φουλερένια έχουν πολυάριθμες εφαρμογές σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας, ενώ παρουσιάζουν και πολλές πιθανές χρήσεις στην ιατρική.

Σε αρκετές μελέτες έχουν αναφερθεί πιθανές εφαρμογές των νανοσωλήνων άνθρακα στην ιατρική¹¹. Τα CNTs εισέρχονται σε διάφορα όργανα και κύτταρα, κι έτσι μπορούν να λειτουργήσουν ως ενδοκυτταρικοί ανιχνευτές, φορείς φαρμάκων, παράγοντες απεικόνισης, ρυθμιστές του DNA, και ως άλλες ιατρικές συσκευές, με την προϋπόθεση ότι είναι βιοσυμβατοί. Υπάρχουν δύο δομικές μορφές των νανοσωλήνων άνθρακα (Σχήμα 2): (α) οι νανοσωλήνες άνθρακα μονού τοιχώματος (Single-Walled Carbon Nanotubes, SWCNTs) και (β) οι νανοσωλήνες άνθρακα πολλών τοιχωμάτων (Multi-Walled Carbon Nanotubes, MWCNTs).

Το γραφένιο, το λεπτότερο αλλά ισχυρότερο υλικό, είναι ένα φύλλο δύο διαστάσεων που αποτελείται από άτομα άνθρακα και χαρακτηρίζεται από sp^2 υβριδισμό (Σχήμα 2). Μερικές από τις εφαρμογές των νανοσωλήνων άνθρακα και του γραφενίου εντοπίζονται σε φωτοανιχνευτές, συστήματα φαρμάκων και βιολογικής απεικόνισης.

Είναι ενδιαφέρον ότι οι μοναδικές ιδιότητες των νανοσωματιδίων οξειδίου μετάλλου μπορεί να είναι η αιτία των πιθανών τοξικών επιδράσεών τους. Τα γενικά αποτελέσματα μελέτης έδειξαν ότι υπήρχε μεγάλη διακύμανση μεταξύ των διάφορων νανοσωματιδίων οξειδίου μετάλλου όσον αφορά την ικανότητά τους να προκαλούν τοξικές επιδράσεις¹². Ακόμη, έχει δείχθει ότι τα νανο- TiO_2 προκαλούν οξειδωτικό στρες (ROS) και βλάβες του DNA στα λεμφοκύτταρα¹³. Επιπλέον, και ομοίως με τα νανοσωματίδια του TiO_2 , τα νανο-μεγέθη του οξειδίου του πυριτίου (SiO_2), και του οξειδίου του ψευδαργύρου (ZnO) μπορούν να επάγουν πνευμονική φλεγμονή σε τρωκτικά και ανθρώπους¹⁴⁻¹⁶.

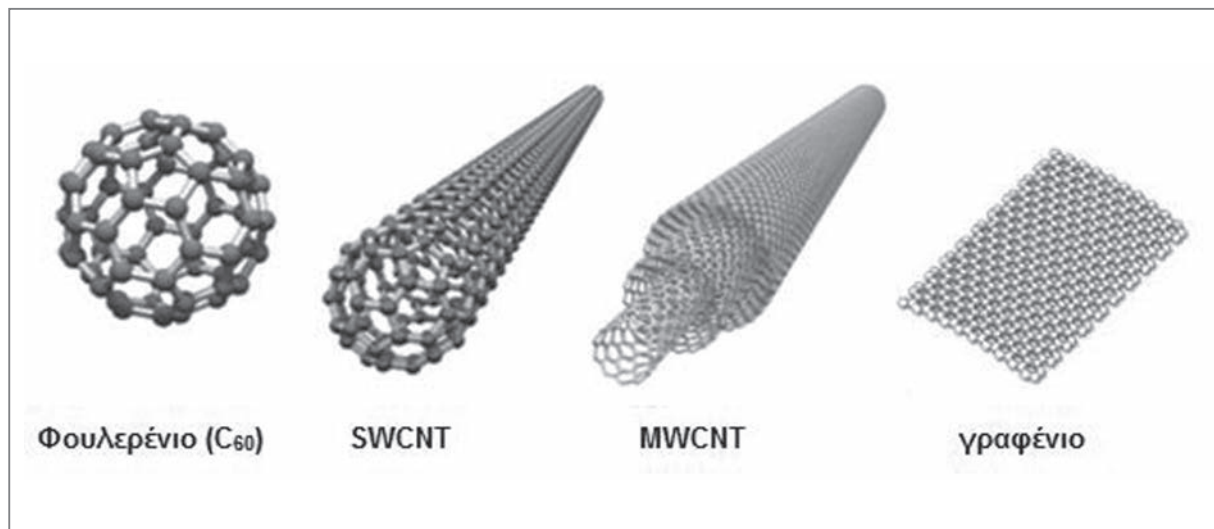


Σχήμα 1: Η δομή του νανοσωματιδίου του Zn_xO_y

Ομοίως, τα νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα έχουν αρνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Ως εκ τούτου, η δυνητική βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα τοξικότητα των φουλερενίων, των CNTs και του γραφενίου θα πρέπει να ερευνηθεί προσεκτικά πριν από την πλήρη εφαρμογή αυτών σε διάφορες βιολογικές και εμπορικές εφαρμογές. Παρόλο που είναι όλα νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα, το καθένα από αυτά έχει διαφορετικούς παράγοντες, όπως είναι το μέγεθος και η έκταση, και επομένως έχουν ξεχωριστές ιδιότητες. Μελέτες, για παράδειγμα, έχουν δείξει ότι τα φουλερένια C_{60} όταν εναιωρούνται μέσα στο νερό, χαρακτηρίζονται από αντιβακτηριακή δράση κατά της *Escherichia coli* και του *Bacillus subtilis*¹⁷ εντούτοις προκαλούν τοξικότητα σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές¹⁸. Ειδικότερα, η κυτταροτοξικότητα του φουλερενίου C_{60} είναι χαμηλότερη από αυτή των SWCNTs, MWCNTs και του γραφίτη¹. Για αυτό το λόγο, η εκτίμηση επικινδυνότητας και των νανοϋλικών με βάση τον άνθρακα πρέπει να γίνεται για κάθε περίπτωση χωριστά, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί υψηλό επίπεδο ασφάλειας.

2. Ποσοτικές Σχέσεις Νανοδομής-Δραστικότητας (QNAR)

Η παραδοσιακή τοξικολογική αξιολόγηση των σταδίων ανάπτυξης διαφόρων προϊόντων περιλαμβάνει



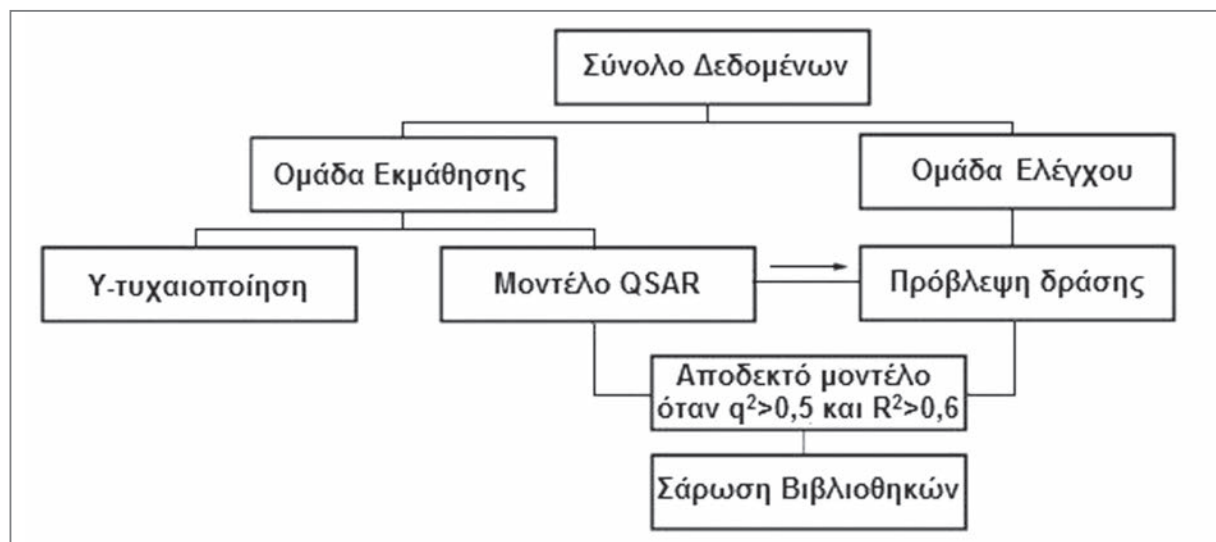
Σχήμα 2: Οι δομές των νανοσωματιδίων άνθρακα: (από τα αριστερά) φουλερένιο (C₆₀), νανοσωλήνας άνθρακα μονού τοιχώματος (SWCNT), νανοσωλήνας άνθρακα πολλαπλών τοιχωμάτων (MWCNT), γραφένιο

ακριβές, χρονοβόρες και υψηλής έντασης εργατικού δυναμικού τεχνικές διαδικασίες. Για τη μείωση των παραπάνω παραγόντων, έχουν αναπτυχθεί ευρέως προσεγγίσεις που βασίζονται στην υπολογιστική χημεία. Οι υπολογιστικές μέθοδοι είναι ένα σημαντικό εργαλείο, καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να προβλέψουν τις τοξικολογικές (βιολογικές γενικότερα) επιπτώσεις των νανοσωματιδίων αποκλειστικά από τις φυσικές και χημικές τους ιδιότητες πριν ακόμα συντεθούν. Στη συνέχεια, με την εικονική σάρωση *in silico* βιβλιοθηκών νανοϋλικών, τα νανοϋλικά με τις πιο ελπιδοφόρες προβλεπόμενες ιδιότητες λαμβάνουν προτεραιότητα για έλεγχο. Με τον τρόπο αυτό οι δαπανηρές τοξικολογικές μελέτες επικεντρώνονται μόνο σε ένα μικρό αριθμό επιλεγμένων ή/και ορθολογικά σχεδιασμένων νανοσωματιδίων.

Από το 2007, το REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals - Καταχώριση, Αξιολόγηση και Αδειοδότηση των Χημικών), που συστάθηκε από το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο, είναι επίσημα ένα νέο σύστημα διαχείρισης των χημικών ουσιών¹⁹. Ένας από τους βασικούς στόχους του REACH είναι να μειωθεί ο αριθμός των ενώσεων που απαιτούν δοκιμές τοξικότητας σε ζώα²⁰. Η νομοθεσία REACH ενθαρρύνει και προβλέπει τη χρήση εναλλακτικών *in silico* μεθόδων, όπως οι ποσοτικές σχέσεις δομής - δραστηριότητας (QSAR), ώστε να αποφεύγεται η χρήση ζώων για την αξιολόγηση του κινδύνου των ENMs.

Σίγουρα η μοντελοποίηση των κατασκευασμένων νανοσωματιδίων είναι μία σημαντική πρόκληση για τους επιστήμονες, λόγω της υψηλής πολυπλοκότητας της δομής και της ποικιλομορφίας τους. Για το λόγο αυτό, είναι πολύ δύσκολο να αναπτυχθούν ποσοτικές παράμετροι που θα χαρακτηρίζουν τις δομικές και χημικές ιδιότητες των νανοσωματιδίων. Η δυσκολία γίνεται ακόμα μεγαλύτερη με την απουσία των πειραματικών δεδομένων που απαιτούνται για την επικύρωση των υπολογιστικών μεθόδων. Ο Ruzyn²¹ και οι συνεργάτες του πρώτοι πρότειναν ότι η μοντελοποίηση ποσοτικών σχέσεων δομής - δραστηριότητας (QSAR) μπορεί να εφαρμοστεί σε υπολογιστικές μελέτες νανοτοξικολογίας και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει μοντέλο νανο-QSAR που μπορεί να εκτιμήσει με ακρίβεια την τοξικότητα όλων των πιθανών νανοσωματιδίων.

Ομοίως με τη γενική στρατηγική της μοντελοποίησης QSAR, ο συνολικός στόχος της μοντελοποίησης QNAR είναι να αναπτυχθεί ένα μαθηματικό και στατιστικά σημαντικό μοντέλο. Για να ξεκινήσει η μοντελοποίηση των κατασκευασμένων νανοσωματιδίων, κάθε σωματίδιο πρέπει να περιγράφεται από αριθμητικές παραμέτρους, τους περιγραφείς (descriptors), οι οποίοι υπολογίζονται ή μετρώνται πειραματικά. Το μαθηματικό μοντέλο περιγράφει τη σχέση μεταξύ των μετρούμενων προφίλ βιολογικής ή τοξικολογικής δραστηριότητας των νανοσωματιδίων και των



Σχήμα 3: Διάγραμμα ροής εργασίας για τη μοντελοποίηση QSAR

περιγραφών που χαρακτηρίζουν τα νανοσωματίδια. Οι ιδιότητες, όπως το μέγεθος, το σχήμα, η μορφολογία και η έκταση επιφάνειας μετρώνται συνήθως πειραματικά. Δυστυχώς τέτοια δεδομένα για τις νανοδομές δεν υπάρχουν, και ως εκ τούτου αποτελεί προφανή ανάγκη η ανάπτυξη και χρήση των υπολογιστικών περιγραφών για τις δομές των νανοσωματιδίων. Μέχρι σήμερα, χιλιάδες περιγραφείς μηδενικής διάστασης (0D, αναφέρονται σε μετρήσεις ατόμων και τύπων δεσμών), 1D, 2D, και 3D (ακόμη 4D και 5D!) έχουν εφευρεθεί και υπάρχουν διάφορα εμπορικά διαθέσιμα λογισμικά πακέτα (όπως τα MOE, DRAGON, CODESSA, SYBYL) για να υπολογισθούν οι περιγραφείς για καθένα μόριο. Παρόλα αυτά και μέχρι τώρα, δεν υπάρχει κανένα τέτοιο πακέτο λογισμικού για τα νανοσωματίδια, λόγω της πολυπλοκότητας της δομής τους (μίγμα οργανικών και ανόργανων μοτίβων στο ίδιο μόριο, επανάληψη των διαρθρωτικών μοτίβων). Ως εκ τούτου, οι περιγραφείς των νανοσωματιδίων πρέπει να μετρώνται πειραματικά μέχρι να αναπτυχθούν νέοι και πιο κατάλληλοι τύποι περιγραφών. Για να ξεκινήσουν οι μελέτες QNAR, θα πρέπει να υπάρχει αρκετά μεγάλος όγκος δεδομένων και να γίνει χρήση ενός επαρκώς καθορισμένου πρωτοκόλλου για την επιλογή μοντέλου και την επικύρωση.

Τα μοντέλα μπορούν να κατασκευαστούν χρησιμοποιώντας πολύπλοκους αλγόριθμους μηχανικής μάθη-

σης, όπως της Πολλαπλής Γραμμικής Παλινδρόμησης (MLR), των Τεχνητών Νευρωνικών Δικτύων (ANN), των Διανυσματικών Μηχανών Υποστήριξης (SVM), του Τυχαίου Δάσους (Random Forest, RF) ή των k-Πλησιέστερων Γειτόνων (k-Nearest Neighbors, k-NN).

Η ροή εργασίας για τη δημιουργία ενός μοντέλου QSAR αποτελείται από τρία βήματα (Σχήμα 3): α) την προετοιμασία των δεδομένων (ενώσεις και περιγραφείς), β) την κατασκευή του μοντέλου, και γ) την επικύρωση του μοντέλου.

Αρχικά, και όπως περιγράφεται στη μεθοδολογία QSAR, το σύνολο των ενώσεων χωρίζεται τυχαία σε μία ομάδα εκμάθησης και μία ομάδα ελέγχου. Το μοντέλο κατασκευάζεται με χρήση μόνο των ενώσεων της ομάδας εκμάθησης, και στη συνέχεια εφαρμόζεται στην ομάδα ελέγχου για να αξιολογηθούν οι ιδιότητές τους. Εφαρμόζονται μεθοδολογίες για την αξιολόγηση τόσο της πρόβλεψης όσο και της ανθεκτικότητας του μοντέλου, όπως με τη μέθοδο leave-one-out, όπου η επικύρωση γίνεται όταν κάθε φορά ένα δεδομένο εξάγεται από το δείγμα, τη διασταυρωμένη επικύρωση ή την Υ-τυχαιοποίηση. Σε ένα σταθερό μοντέλο θα πρέπει να προβλέπεται τόσο η ομάδα εκμάθησης όσο και η ομάδα ελέγχου και να πληροί ορισμένες προϋποθέσεις. Τέλος, το μοντέλο QSAR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξόρυξη χημικών δεδομένων και στο σχεδιασμό συνδυαστικής βιβλιοθήκης.

Ένα μοντέλο QSAR για να είναι κατάλληλα επικυρωμένο σε ένα ρυθμιστικό περιβάλλον θα πρέπει να συμμορφώνεται με τις κατευθυντήριες γραμμές του OECD, όπου απαιτείται: (α) ένας σαφής ορισμός της ιδιότητας, (β) η χρήση ενός σαφούς αλγορίθμου, (γ) αναγκαιότητα καθορισμού πεδίου εφαρμογής, (δ) υπολογισμός των κατάλληλων μετρήσεων της καλής προσαρμογής (goodness-of-fit), ανθεκτικότητας και προβλεψιμότητας, και (ε) παροχή μιας μηχανιστικής ερμηνείας, αν είναι δυνατή (<http://www.oecd.org>).

Η πρόβλεψη των βιολογικών επιδράσεων των ναυούλικων πριν από τη σύνθεσή τους είναι τόσο ενδιαφέρουσα και απαραίτητη, και επομένως, η ανάπτυξη αποτελεσματικών υπολογιστικών προσεγγίσεων ικανά για αυτό, είναι πολύ σημαντική. Με τη μεθοδολογία QSAR, εάν είναι διαθέσιμα μόνο για μερικές ενώσεις σε μια ομάδα τα τοξικολογικά δεδομένα, οι τοξικολογικές ιδιότητες των άλλων ενώσεων στην ίδια ομάδα μπορεί επίσης να προσδιοριστούν χρησιμοποιώντας μόνο υπολογιζόμενους μοριακούς περιγραφείς και ένα κατάλληλο μαθηματικό μοντέλο.

Αναλύοντας τα δεδομένα από τη βιβλιογραφία, εξάγεται το συμπέρασμα ότι, ακόμη και αν μια κατηγορία των νανοσωματιδίων με παρόμοια δομή δοκιμάζεται με την ίδια δοκιμασία και πρωτόκολλο, ο αριθμός των ενώσεων που δοκιμάζονται είναι συχνά ανεπαρκής για να εκτελέσει πλήρη εσωτερική και εξωτερική επικύρωση ενός μοντέλου και να υπολογίσει την κατάλληλη προβλεψιμότητα στο QSAR. Για παράδειγμα, ο Limbach και οι συνεργάτες του²² μελέτησαν την *in vitro* κυτταροτοξικότητα επτά νανοσωματιδίων οξειδίου μετάλλων σε κύτταρα ανθρώπου και τρωκτικού και πρότειναν δύο διαφορετικές κατατάξεις: (i) $\text{Fe}_2\text{O}_3 \approx \text{αμίαντος} > \text{ZnO} > \text{CeO}_2 \approx \text{ZrO}_2 \approx \text{TiO}_2 \approx \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ και (ii) $\text{ZnO} > \text{αμίαντος} \approx \text{ZrO}_2 > \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \approx \text{Fe}_2\text{O}_3 \approx \text{CeO}_2 \approx \text{TiO}_2$, αντίστοιχα. Σε μια άλλη μελέτη,²³ η ίδια ερευνητική ομάδα διαπίστωσε ότι η αιτία σχηματισμού ριζών οξυγόνου που είναι υπεύθυνη για την τοξικότητα των τεσσάρων μεταλλικών νανοσωματιδίων (TiO_2 , Fe_2O_3 , Mn_3O_4 , και Co_3O_4) στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονα ήταν η χημική τους σύνθεση. Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι με μια σειρά δεδομένων που περιέχει μόνο λίγες ενώσεις δε θα μπορούσε να δομηθεί ένα κατάλληλο επικυρωμένο μοντέλο QSAR.

Στην παρούσα εργασία, θα συζητηθεί η χρήση της

μοντελοποίησης Ποσοτικών Σχέσεων Νανοδομής - Δραστικότητας, προς πρόβλεψη των βιολογικών επιδράσεων, κυρίως της τοξικότητας, που προκαλείται από διάφορα είδη των νανοσωματιδίων. Μάλιστα αναφέρονται ορισμένες πρόσφατες μελέτες κατασκευής μοντέλων πρόβλεψης QNAR για την αξιολόγηση του κινδύνου των νανοσωματιδίων.

Μέχρι σήμερα, έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία αρκετές μελέτες QNAR, εντούτοις, λόγω των περιορισμών της μοντελοποίησης QNAR, ο αριθμός των QNAR μοντέλων που εξήχθη είναι πολύ μικρός. Η πλειοψηφία των δημοσιευμένων μοντέλων nanoSAR επικεντρώνονται κυρίως στις προβλέψεις των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των νανοσωματιδίων (QSPR) π.χ. στη διαλυτότητα και το μέτρο του Young σε νανοδομές που βασίζονται στον άνθρακα²⁴⁻²⁶. Τα τελευταία χρόνια με απαρχή το 2010, έχουν δημοσιευθεί αρκετές μελέτες δημιουργίας μοντέλων QSAR για την πρόβλεψη της τοξικότητας των νανοσωματιδίων. Στον πίνακα 1 παρατίθενται έντεκα σύνολα δεδομένων των ναυούλικων από τη βιβλιογραφία για μοντελοποίηση QNAR. Από αυτά μόνο τρία σύνολα πληρούν το κριτήριο του σχετικά μεγάλου μεγέθους του δείγματος ($n > 50$), όπως επισημαίνονται στον πίνακα, ενώ τα περισσότερα χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες που αναφέρονται στην παρούσα εργασία.

Το 2010, ο Fourches και οι συνεργάτες του^{36,37} ανέπτυξαν ένα μοντέλο QSAR για την πρόβλεψη της κυτταρικής πρόσληψης 109 νανοσωματιδίων οξειδίου μετάλλου σε παγκρεατικά καρκινικά κύτταρα (PaCa2). Σύμφωνα με τον Weissleder,²⁹ κάθε νανοσωματίδιο φέρει τον ίδιο πυρήνα μέταλλου (οξείδιο του σιδήρου/ NH_2), αλλά διαφορετικό τροποποιητή επιφάνειας, ένα μικρό οργανικό μόριο, δηλαδή, συζευγμένο με την επιφάνεια του νανοσωματιδίου. Κατά συνέπεια, το κάθε νανοσωματίδιο εκπροσωπήθηκε από ένα μοναδικό σύνολο περιγραφέων, οι οποίες καθορίζονται από το διαφορετικό οργανικό μόριο. Συνολικά, υπολογίστηκαν 150 περιγραφείς MOE. Για την ανάπτυξη του μοντέλου QNAR χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των k-πλησιέστερων γειτόνων (kNN), ώστε να συσχετιστεί η βιολογική δραστικότητα με τους περιγραφείς που υπολογίστηκαν. Τα ικανοποιητικά στατιστικά αποτελέσματα ($R^2 = 0,72$) οδήγησαν τους συγγραφείς στο συμπέρασμα ότι η μέθοδος QSAR είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για να προβλέψει

Πίνακας 1. Κατάλογος με τα διαθέσιμα σύνολα δεδομένων των νανοϋλικών

No.	Σύνολο Δεδομένων	Μέγεθος Συνόλου	Περιγραφή	Καταληκτικό Σημείο
1	Liu et al., 2011 ²⁷	9	Οξειδία μετάλλου	Κυτταροτοξικότητα
2	Zhang et al., 2012 ²⁸	24	Οξειδία μετάλλου	Κυτταροτοξικότητα
3	Weissleder et al., 2005 ²⁹	146	1 πυρήνας μετάλλου	Κυτταρική πρόσληψη στα PaCa2
4	Shaw et al., 2008 ³⁰	51	4 πυρήνες μετάλλου	Απόπτωση
5	Puzyn et al., 2011 ²¹	17	Οξειδία μετάλλου	EC ₅₀ στα E.Coli
6	Sayes et al., 2010 ³¹	24	Κατασκευαστικά νανοϋλικά	Καταστροφή κυτταρικής μεμβράνης
7	Gaudin et al., 2012 ³²	10	MIL-88B(Fe) MOFs	Πρόσληψη καφεΐνης
8	Shinohara et al., 2009 ³³	20	Φουλερένια C ₆₀	Μεταλλακτικότητα
9	Zhou et al., 2008 ¹¹	84	f-MWCNTs	Δέσμευση από τις πρωτεΐνες, κυτταροτοξικότητα, ανοσοαποκρίσεις
10	Tassa et al., 2010 ³⁴	20	MNPs	K _a , K _d της κίνησης Aurora A
11	Luan et al., 2014 ³⁵	41	Οξειδία μετάλλου	Κυτταροτοξικότητα

την κυτταρική συμπεριφορά μίας ολόκληρης βιβλιοθήκης νανοσωματιδίων που βασίζονται σε κοινό πυρήνα οξειδίου μετάλλου, ενώ το ληφθέν μοντέλο τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να σχεδιασθεί ένα ειδικό υλικό επικάλυψης στην επιφάνεια του νανοσωματιδίου και να ελέγχεται η κυτταρική πρόσληψη.

Στην ίδια μελέτη,^{36, 37} οι ερευνητές μελέτησαν επίσης ένα σύνολο δεδομένων από 51 νανοσωματίδια που βασίζονται σε οξειδία σιδήρου και κβαντικές κουκίδες με τέσσερις διαφορετικούς πυρήνες μετάλλου και τροποποιητές επιφάνειας. Τα διαφορετικά νανοσωματίδια είχαν εξεταστεί *in vitro* έναντι τεσσάρων κυτταρικών σειρών σε διαφορετικές δοκιμασίες από τον Shaw και τους συνεργάτες του,³⁰ ώστε να μελετηθούν οι επαγόμενες βιολογικές τους επιδράσεις. Το μοντέλο «δομήθηκε» χρησιμοποιώντας την ταξινόμηση βασισμένη στη διανυσματική μηχανή υποστήριξης (Supporting Vector Machine, SVM). Τα δεδομένα χωρίστηκαν σε δύο (ίδιου αριθμού ομάδες κάνοντας χρήση ενός αυθαίρετου ορίου και χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις πειραματικοί περι-

γραφείς για να ταξινομηθούν τα νανοσωματίδια σε δύο συστάδες (clusters): το μέγεθος, οι χαλαρότητες και το δυναμικό ζήτα (z). Αναφέρθηκε ένα μοντέλο ακρίβειας ταξινόμησης της τάξης του 73%, αλλά χωρίς οριστική ταυτοποίηση των αληθινά τοξικών τελικών σημείων. Οι συγγραφείς πρότειναν ότι τα μοντέλα QNAR μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη του προφίλ βιολογικής δράσης των νέων νανοϋλικών, και για την προτεραιότητα στο σχεδιασμό και την κατασκευή ενός ολόκληρου νανοϋλικού προς ασφαλέστερα προϊόντα.

Σε μια πρόσφατη μελέτη,³¹ οι νανο-SAR ταξινομητές με βάση τις ιδιότητες των νανοσωματιδίων, όπως το αρχικό μέγεθος, το μέγεθος των συσσωματωμάτων σε διάφορα μέσα, και το δυναμικό z αναπτύχθηκαν για να προβλέπεται η βλάβη της μεμβράνης των κυττάρων που προκαλείται από τα TiO₂ και ZnO. Οι συγγραφείς σύγκριναν δύο προσεγγίσεις για την ανάπτυξη μαθηματικών μοντέλων που έχουν τη δυνατότητα να προβλέψουν τη ζημιά σε κυτταρικές μεμβράνες, όπως μετράται με την απελευθέ-

ρωση της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH), των νανοσωματιδίων των δύο οξειδίων μετάλλων που προκύπτουν από διάφορα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Λόγω του σχετικά μικρού αριθμού των δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκαν σχετικά απλά μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για να μελετηθούν πιθανές σχέσεις δομής - δραστηριότητας που σχετίζονται με το τελικό σημείο ενδιαφέροντος - κατάσταση κυτταρικής μεμβράνης. Στις περιπτώσεις όπου η εφαρμογή των μοντέλων παλινδρόμησης δίνουν κατάλληλα αποτελέσματα, εφαρμόστηκε ταξινόμηση γραμμικής διακριτικής ανάλυσης (Linear Discriminant Analysis, LDA), και όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί συνόλων του ενός, δύο και τριών χαρακτηριστικών ερευνήθηκαν και κατατάχθηκαν ανάλογα με το πόσο επιτυχώς διακρίθηκαν μεταξύ των διαφόρων βαθμών κυτταρικών αποκρίσεων του βιολογικού συστήματος δοκιμής.

Το 2011, ο Cohen και οι συνεργάτες του²⁷ ανέπτυξαν μια ταξινόμηση κυτταροτοξικότητας με βάση τη σχέση νανοδομών - δραστηριότητας (nanoSAR) με τη χρήση των δεδομένων προσυμπτωματικού ελέγχου τοξικότητας υψηλής απόδοσης (HTS) για μετασχηματισμένα επιθηλιακά κύτταρα των βρόγχων (BEAS-2B) εκτιθέμενα σε εννέα νανοσωματίδια οξειδίου του μετάλλου. Το μοντέλο βασίστηκε σε μια λογιστική παλινδρόμηση και επικυρώθηκε μετά από αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές επικύρωσης QSAR. Τα δεδομένα της HTS επεξεργάστηκαν αρχικά για τον εντοπισμό και την επισήμανση τοξικών έναντι μη τοξικών γεγονότων σε σχέση με ένα μη εκτεθειμένο κυτταρικό πληθυσμό-μάρτυρα. Το μοντέλο με την καλύτερη επίδοση είχε 100% ακρίβεια ταξινόμησης και βασίστηκε σε τρεις περιγραφείς: την ενέργεια διάσπασης του οξειδίου του μετάλλου, την περίοδο των μεταλλικών νανοσωματιδίων, και το αρχικό μέγεθος των νανοσωματιδίων. Επιπροσθέτως, έγινε χρήση του κλάσματος όγκου των νανοσωματιδίων. Οι συγγραφείς πρότειναν αυτή την επιτυχημένη προσέγγιση μοντελοποίησης για καθιέρωση κατάταξης κινδύνου νανοσωματιδίων οξειδίου μετάλλου (με βάση τα δεδομένα της HTS), ωστόσο, αναγνώρισαν ότι είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθεί ένα σημαντικά μεγαλύτερο σύνολο δεδομένων προκειμένου να βελτιωθεί η αξιοπιστία και να αυξηθεί η εμπιστοσύνη προσέγγισης του nanoSAR.

Το 2011, ο Puzyn και οι συνεργάτες του²¹ διερεύνησαν την κυτταροτοξικότητα 17 νανοσωματιδίων οξειδίου μετάλλου έναντι του βακτηρίου της *Escherichia coli*. Με βάση τα δεδομένα τοξικότητας και τους υπολογισμένους δομικούς περιγραφείς, και παρόλο που ο αριθμός των νανοσωματιδίων ήταν μικρός, δόμησαν ένα μοντέλο για να προβλεφθεί η κυτταροτοξικότητα των άλλων νανοϋλικών. Ειδικότερα, οι συγγραφείς υπολόγισαν ποσοτικά δώδεκα περιγραφείς της μεταβλητότητας της δομής των νανοσωματιδίων. Οι τιμές EC_{50} των μελετημένων νανοσωματιδίων στη συνέχεια προβλέφθηκαν με τη χρήση της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης (MLR). Το επιτυχέστερο μοντέλο MLR δομήθηκε χρησιμοποιώντας έναν περιγραφέα που είχε επιλεγεί από γενετικό αλγόριθμο. Τα αποτελέσματα έδειξαν προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου. Έτσι, οι συγγραφείς πρότειναν ότι το μοντέλο τους QSAR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προβλεφθεί αξιόπιστα η τοξικότητα νανοϋλικών που δεν έχουν εξεταστεί, κυρίως οξείδια μετάλλων σε υπολογιστικές μελέτες νανοτοξικολογίας.

Το 2012, ο Winkler και οι συνεργάτες του³⁸ περάτωσαν την πρώτη τους υπολογιστική μελέτη μοντέλου, χρησιμοποιώντας τα δύο μεγάλα σύνολα πειραματικών δεδομένων με νανοσωματίδια από τους Weissleder και Shaw^{29,30}. Μελέτησαν όλους τους δυνατούς συνδυασμούς των βιολογικών προσδιορισμών και κυτταρικών τύπων, και δημιούργησαν ισχυρά μοντέλα κυτταρικής πρόσληψης και επαγωγής της απόπτωσης από νανοσωματίδια οξειδίου μετάλλου. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, το QNAR είναι μια πολλά υποσχόμενη τεχνική μοντελοποίησης, καθώς μπορεί να είναι χρήσιμη για την ανάλυση των βιολογικών επιδράσεων των νανοσωματιδίων. Με τη χρήση της μπορεί να μοντελοποιηθούν οι επιπτώσεις της σύνθεσης των νανοσωματιδίων σε διαφορετικά περιβάλλοντα του σώματος, όπως στον ορό, στο πλάσμα, ή στα υγρά των πνευμόνων, καθώς και την κυτταρική πρόσληψη των νανοσωματιδίων και την αλληλεπίδρασή τους με τα κυτταρικά βιοχημικά συστήματα.

Στη Σιγκαπούρη, οι Chau και Yap (2012)³⁹ μελέτησαν την ικανότητα χρήσης της μεθοδολογίας QNAR με σκοπό να προβλέψουν την κυτταρική πρόσληψη των νανοσωματιδίων του Weissleder με τον έναν μόνο πυρήνα μετάλλου στα παγκρεατικά καρκινι-

κά κύτταρα (PaCa2). Χρησιμοποίησαν τέσσερις διαφορετικές μεθόδους μοντελοποίησης για την ανάπτυξη υποψήφιων μοντέλων, τον ταξινομητή naïve Bayesian, τη λογιστική παλινδρόμηση, του k-πλησιέστερου γείτονα και της διανυσματικής μηχανής υποστήριξης. Το τελικό συναινετικό μοντέλο, που αναπτύχθηκε χρησιμοποιώντας τα πέντε επιτυχήτερα υποψήφια μοντέλα, οδήγησε στην πρόβλεψη με ακρίβεια 86,7-98,2% των νανοσωματιδίων με μεγάλη κυτταρική πρόσληψη και 67,3-76,6% των νανοσωματιδίων με μικρή κυτταρική πρόσληψη. Έτσι, οι συγγραφείς πρότειναν ότι είναι πρακτικό να χρησιμοποιείται η φυσική, χημική ή/και γεωμετρική δραστηριότητα για την ανάπτυξη μοντέλων πρόβλεψης QNAR.

Μια ακόμη προσπάθεια πραγματοποιήθηκε από τον Ghorbanzadeh και τους συνεργάτες του⁴⁰ για την κατασκευή ενός μοντέλου πρόβλεψης της κυτταρικής πρόσληψης των 109 μαγνητικά φθορίζοντων (magnetofluorescent) νανοσωματιδίων στα παγκρεατικά καρκινικά κύτταρα. Χρησιμοποιήθηκε ένα τεχνητό νευρωνικό δίκτυο, και οι περιγραφείς υπολογίστηκαν με τη χρήση των προγραμμάτων HYPERCHEM και DRAGON. Επιλέχτηκαν έξι περιγραφείς συνδυάζοντας τον αυτο-οργανωτικό χάρτη και σταδιακά την πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση (MLR), ενώ χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές μοντελοποίησης πολυεπίπεδων νευρωνικών δικτύων (MLP-NN) για να συσχετιστεί η νανοδομή των σωματιδίων που μελετήθηκαν με τη δραστηριότητά τους. Για τα μοντέλα MLR και MLP-NN, ο συντελεστής συσχέτισης ήταν 0,769 και 0,934 αντίστοιχα, και το σφάλμα (RMS) ήταν 0,364 και 0,150, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν μετά από μια δοκιμή διασταυρούμενης επικύρωσης αποκάλυψαν την αξιοπιστία της MLP-NN για την πρόβλεψη της κυτταρικής πρόσληψης των νανοσωματιδίων. Επιπλέον, η ανάλυση ευαισθησίας του μοντέλου MLP-NN έδειξε ότι ο αριθμός των θέσεων δότη δεσμού υδρογόνου στην οργανική επικάλυψη του νανοσωματιδίου είναι ο κυρίαρχος παράγοντας που ευθύνεται για την κυτταρική πρόσληψη.

Μία ακόμη προσέγγιση QSAR πραγματοποιήθηκε από τον C. Gaudin και τους συνεργάτες του³² για την πρόβλεψη και την περαιτέρω ερμηνεία της πρόσληψης καφεΐνης που μετρήθηκε πειραματικά με τεχνι-

κές HPLC και TGA σε μία σειρά από λειτουργικά υλικά MIL-88B (Fe). Τα δύο ξεχωριστά αλλά συναινετικά μοντέλα QSAR δομήθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο MLR και ένα ευρύ φάσμα μοριακών περιγραφών που υπολογίστηκαν για τη σειρά των εξεταζόμενων εμβολιασμένων οργανικών συνδετικών. Τα ληφθέντα μοντέλα, που επικυρώθηκαν με τις διαδικασίες των leave-one-out, διασταυρούμενης επικύρωσης και Υ-τυχαιοποίησης, οδήγησαν σε μια επιτυχή συσχέτιση μεταξύ των παρατηρούμενων και των υπολογιζόμενων τιμών της πρόσληψης καφεΐνης για τη σειρά των τροποποιημένων MIL-88B δικαυροξυλικών μέταλλο-οργανικών πλαισίων σιδήρου (MOFs).

Ο Leszczynski και οι συνεργάτες του⁴¹ συνέχισαν τις έρευνες για την κυτταροτοξικότητα των νανοσωματιδίων οξειδίου του μετάλλου σε βακτήρια *Escherichia coli*, και ένα χρόνο αργότερα από τη μελέτη του Puzyn, χρησιμοποιώντας το λογισμικό CORAL και το ίδιο σύνολο δεδομένων νανοσωματιδίων οξειδίου του μετάλλου, ενίσχυσαν τη μοντελοποίηση QNAR. Στην προσέγγιση αυτή, χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές pEC_{50} της κυτταροτοξικότητας των νανοσωματιδίων οξειδίων μετάλλου σε βακτήρια *E. coli* και εξετάστηκαν έξι τυχαίοι διαχωρισμοί στα σύνολα εκμάθησης και δοκιμής. Όλα τα μοντέλα που ελήφθησαν ήταν ικανοποιητικά. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, το CORAL, μια εύκολη εφαρμογή και ένα διαθέσιμο λογισμικό στο Διαδίκτυο (<http://www.insilico.eu/coral>), αποδείχθηκε ως ένα αξιόπιστο εργαλείο για την ανάλυση QSAR της τοξικότητας των νανοσωματιδίων οξειδίου μετάλλου.

Το λογισμικό CORAL χρησιμοποιήθηκε επίσης από τους Togorov και τους συνεργάτες του,⁴² προκειμένου να κατασκευαστεί ένα μοντέλο QSAR για την πρόβλεψη της κυτταρικής πρόσληψης των 109 νανοσωματιδίων στα καρκινικά κύτταρα του παγκρέατος (PaCa2). Οι προβλέψεις των νανοσωματιδίων στα καρκινικά κύτταρα PaCa2 για πέντε τυχαίους διαχωρισμούς ήταν ικανοποιητικές και σταθερές. Οι βέλτιστοι μοριακοί περιγραφείς, που παρέχονται από το CORAL, υπολογίστηκαν απευθείας από το απλοποιημένο σύστημα εισόδου μοριακών γραμμών εισόδου (SMILES) και χρησιμοποιήθηκαν για να συσχετιστούν με διάφορες παραμέτρους. Τα SMILES σταδιακά έγιναν η πιο δημοφιλής αναπαράσταση της μοριακής δομής στις βάσεις δεδομένων που δι-

ατίθενται στο Διαδίκτυο, και μπορούν να αποτελέσουν μία ελκυστική εναλλακτική λύση των “κλασικών” περιγραφών. Έτσι, οι συγγραφείς πρότειναν αυτή την ιδέα ως εναλλακτική λύση για τη δημιουργία QSAR με αποκλειστική διανομή των διαθέσιμων δεδομένων που εισάγονται στο υποσύνολο της εκμάθησης και το υποσύνολο της επικύρωσης.

Παρόμοια με την προηγούμενη τους μελέτη, οι Torogon και Torogona εργάστηκαν στα νανοσωματίδια TiO_2 ⁴³. Τα πειραματικά δεδομένα για τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των νανοσωματιδίων TiO_2 και η επιρροή τους στην βλάβη της μεμβράνης ελήφθησαν από τη βιβλιογραφία. Οι βέλτιστοι περιγραφείς που υπολογίστηκαν με τη μέθοδο Monte Carlo δημιούργησαν ένα μοντέλο πρόβλεψης για την καταστροφή της μεμβράνης. Οι συγγραφείς πρότειναν ότι οι βέλτιστοι περιγραφείς μπορούν να είναι ένα εργαλείο για τη μοντελοποίηση της καταστροφής της μεμβράνης. Η κατανομή των διαθέσιμων δεδομένων σε σύνολα εκμάθησης και δοκιμής έχει επιρροή επάνω στη στατιστική ποιότητα των μοντέλων που υπολογίζονται με τους άριστους περιγραφείς με βάση την εκπροσώπηση των νανοσωματιδίων TiO_2 από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους.

Το 2013, ο Liu και οι συνεργάτες του ερεύνησαν nanoSARs για την τοξικότητα των νανοσωματιδίων οξειδίων μετάλλου, χρησιμοποιώντας τις μετρήσεις με βάση την ανάλυση δόσης-απόκρισης και την ομαδοποίηση σε χάρτη ομόφωνης αυτο-οργάνωσης⁴⁴. Ένα σύνολο δεδομένων με 24 νανοσωματίδια οξειδίου του μετάλλου έδωσε ένα πολυπαραμετρικό προφίλ τοξικότητας για δύο διαφορετικές κυτταρικές σειρές και επτά διαφορετικών δοκιμασιών τοξικότητας. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκαν 30 περιγραφείς και το επιτυχέστερης επίδοσης μοντέλο nanoSAR κατασκευάστηκε με τη διανυσματική μηχανή υποστήριξης που βασίστηκε σε δύο περιγραφείς. Οι περιγραφείς, όπως η ενεργειακή ταινία αγωγιμότητας (EC) και ο ιοντικός δείκτης (Z^2/r) είχαν υψηλή ακρίβεια ταξινόμησης της τάξης του 94%. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, οι πιθανότητες ταξινόμησης που παρέχονται από το μοντέλο nanoSAR επέτρεψαν την κατασκευή των περιθωρίων απόφασης όσον αφορά την ταξινόμηση της τοξικότητας κάτω από διαφορετικά επίπεδα αποδοχής των ψευδώς αρνητικές σε σχέση με τις ψευδώς θετικές προβλέψεις.

Πρόσφατα, οι Torogon και Torogona χρησιμοποίησαν επίσης τους βέλτιστους περιγραφείς, προκειμένου να δημιουργηθεί ένα μοντέλο QNAR και να προβλεφθεί η μεταλλαξιγόνο δράση των νανοσωματιδίων του φουλερενίου C_{60} σε διάφορες συνθήκες⁴⁵. Τα δεδομένα ελήφθησαν από τη βιβλιογραφία³³. Οι περιγραφείς υπολογίστηκαν με τη μέθοδο Monte Carlo και το μοντέλο των 20 νανοσωματιδίων φουλερενίου C_{60} ήταν η μαθηματική συνάρτηση (α) της δόσης (g/πλάκα), (β) της μεταβολικής ενεργοποίησης (δηλαδή με S9 mix ή χωρίς S9 mix), και (γ) του φωτισμού (δηλαδή σκοτάδι ή ακτινοβολία).

Στα πρώτα χρόνια ανάπτυξης της νανοτεχνολογίας, ο Zhou και οι συνεργάτες του¹¹ ανακάλυψαν λειτουργικούς νανοσωληνές άνθρακα πολλών τοιχωμάτων με μειωμένη πρόσδεση πρωτεΐνης, κυτταροτοξικότητα, και ανοσολογική απόκριση. Χρησιμοποίησαν μια συνδυαστική τεχνική σύνθεσης για να διακοσμήσουν τη μεγάλη επιφάνεια των CNTs με μια σειρά από οργανικά μόρια και διερευνήθηκε η συνολική τοξικότητα της ληφθείσας σειράς των νανοσωματιδίων. Όλα τα CNTs είχαν την ίδια δομή πυρήνα και έτσι η βιολογική/τοξικολογική συμπεριφορά τους θα μπορούσε να εξαρτάται μόνο από την επιφανειακή τροποποίησή τους. Το σύνολο των 84 f-MWCNTs δοκιμάστηκε σε αρκετές *in vitro* τοξικολογικές δοκιμασίες σε δύο διαφορετικές δόσεις, συμπεριλαμβανομένων των ποσοτικών προσδιορισμών πρόσδεσης πρωτεΐνης, δοκιμασιών οξείας τοξικότητας, και δοκιμασιών τοξικότητας του ανοσοποιητικού. Οι συγγραφείς παρατήρησαν σημαντική, υψηλή σταθερότητα των πειραματικών μετρήσεων για όλα τα f-MWCNTs και πρότειναν περαιτέρω έρευνες μοντελοποίησης QNAR.

Ο Tropsha και οι συνεργάτες του συνέχισαν το έργο του Zhou και των συνεργατών του και ανέπτυξαν ένα σημαντικό στατιστικά και μοντέλο πρόβλεψης³⁷. Αρχικά, υπολόγισαν τους 2D DRAGON περιγραφείς, προβαίνοντας σε χημειοπληροφορική ανάλυση του συνόλου των δεδομένων. Τα ευρήματά τους επικύρωσαν την υπόθεση ότι κάθε f-MWCNP μπορεί να μοντελοποιηθεί χρησιμοποιώντας ένα ενιαίο, οργανικό μόριο στην επιφάνεια του μόνο αν όλα τα νανοσωματίδια έχουν τον ίδιο πυρήνα. Στη συνέχεια, προχώρησαν σε μία ταξινόμηση τοξικότητας δυαδικού τύπου για κάθε νανοσωματίδιο (1 ως τοξικό και 0 ως μη τοξικό) βασισμένη σε δοκιμασία οξείας τοξικότητας και

της τοξικότητας που μετρήθηκε για τους CNT χωρίς τροποποιητές επιφανείας³⁸. Ισχυρές τοξικές ουσίες (κατηγορία 1), έναντι 35 αδύναμων τοξικών ουσιών (κατηγορία 0) υποβλήθηκαν σε QNAR με προσέγγιση τυχαίου δάσους (RF), και διεξήχθησαν πέντε φορές σε εξωτερική διασταυρούμενη επικύρωση. Τα αποτελέσματα ήταν τόσο ικανοποιητικά που τη μελέτη των συγγραφών ακολούθησε εικονική σάρωση βιβλιοθήκης με 240.000 δυνητικούς τροποποιητές επιφάνειας των CNT προκειμένου να εντοπιστούν εκείνα τα υλικά με τις επιθυμητές ιδιότητες.

Πρόσφατα, αναπτύχθηκε μία ειδική πλατφόρμα, η ENALOS InSilico Nano, η οποία στοχεύει να αντιμετωπίσει την ανάγκη μείωσης του χρόνου που δαπανάται από τους επιστήμονες στην αντιστοίχιση διαφορετικών πηγών δεδομένων για την λήψη αποφάσεων σχετικά με το σχεδιασμό των νανοσωματιδίων, και να προσφέρει μια αποτελεσματική και αποδοτική απάντηση στην επιθυμία να μειωθούν οι *in vitro* / *in vivo* δοκιμές. Οι διαθέσιμες ροές εργασίας της πλατφόρμας κατασκευάζονται με βάση διαφορετικές πηγές και αξιόπιστα στοιχεία, όπου ενσωματώνονται προηγμένα εργαλεία *in silico* ώστε να παρέχουν ακριβείς προβλέψεις^{46, 47}.

Συμπεράσματα

Είναι προφανές ότι στη νανοτεχνολογία παρουσιάζονται προοπτικές εξέλιξης φτάνει αυτές να αξιοποιηθούν κατάλληλα. Οι μοναδικές ιδιότητες των νανοϋλικών έχουν πολλές εφαρμογές στην επιστήμη, καθώς και στον τομέα της ιατρικής, αλλά οι ίδιες ιδιότητες μπορεί να οδηγήσουν σε νέες οδούς και μηχανισμούς τοξικής δράσης. Η μοντελοποίηση

ση QNAR ασφαλέστερων προϊόντων νανοκλίμακας μπορεί να αναδειχθεί ως ένα χρήσιμο εργαλείο για την κατανόηση των σχέσεων μεταξύ της δομής και των βιολογικών δραστηριοτήτων των νανοϋλικών. Για να πραγματοποιηθεί αυτό, πρέπει να αντιμετωπιστούν κάποιοι φραγμοί. Τα σύνολα δεδομένων σχετικά με τις επιπτώσεις των νανοϋλικών θα πρέπει να εμπλουτιστούν και να επεκταθούν με καλά καθορισμένες και συνεπείς πειραματικές μετρήσεις. Επιπλέον, υπάρχει μία μεγάλη ανάγκη για τη συμπλήρωση του ήδη υπάρχοντος συνόλου των μοριακών περιγραφών με τους καινοτόμους νανο-περιγραφείς (nanodescriptors) που μπορεί να αντιπροσωπεύσει τις ιδιότητες των νανοϋλικών εξαρτώμενες από το μέγεθος. Οι περιγραφικοί δείκτες πρέπει να είναι τόσο θεωρητικοί / υπολογιστικοί όσο και πειραματικοί με βάση τη δομή, προκειμένου να συσχετιστούν με τις βιολογικές απολήξεις. Μία έντονη συνεργασία μεταξύ των πειραματιστών (χημικών, βιολόγων, τοξικολόγων κλπ) και των μοντελιστών QSAR πρέπει να θεσπιστεί, και δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι η χρήση των μοντέλων QNAR θα παραγάγει ζωτικής σημασίας υποστήριξη σε πειραματικές μελέτες με στόχο τον εντοπισμό ασφαλέστερων νανοσωματιδίων με τις επιθυμητές ιδιότητες⁴⁸.

Ευχαριστίες

Το έργο χρηματοδοτήθηκε από το Έβδομο Πρόγραμμα Πλαίσιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης για έρευνα, τεχνολογική ανάπτυξη και επίδειξη στο πλαίσιο της συμφωνίας επιχορήγησης με αριθμό: 310451 (Project NanoMILE). □

Nanomaterials and Quantitative Structure - Activity Relationships

Eleni Vrontaki^{1,2}, Georgia Melagraki²,
Antreas Afantitis²,
Thomas Mavromoustakos^{1*}

¹Laboratory of Organic Chemistry, Department of Chemistry, University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou, 15784, Athens, Greece

²Department of Chemoinformatics, NovaMechanics Ltd, Nicosia, Cyprus

Summary

In the last few decades, nanotechnology has been deeply established into human's everyday life with a great number of applications in cosmetics, textiles, electronics, optics, medicine, and many more. Although nanotechnology

applications are rapidly increasing, the toxicity of some nanomaterials to living organisms and the environment still remains unknown and needs to be explored. The traditional toxicological evaluation of nanoparticles with the wide range of types, shapes, and sizes often involves expensive and time-consuming procedures. An efficient and cheap alternative is the development and application of predictive computational models using Quantitative Nanostructure-Activity Relationship (QNAR) methods.

Towards this goal, researchers are mainly focused on the adverse effects of metal oxides and carbon nanotubes, but to date, QNAR studies are rare mainly because of the limited number of available organized datasets. In this work, recent studies for predictive QNAR models for the risk assessment of nanomaterials are reported.

KEY WORDS: nanotechnology; nanomaterials; QNAR; nanoparticles; toxicology

Βιβλιογραφία

- Gajewicz A., Rasulev B., Dinadayalane T.C., Urbaszek P., Puzyn T., Leszczynska D., Leszczynsk J. Advancing risk assessment of engineered nanomaterials: Application of computational approaches. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64, 1663-93, 2012.
- Kahru A., Ivask A. Mapping the dawn of nanotoxicological research. *Acc. Chem. Res.* 46, 823-33, 2013.
- Clark K.A., White R.H., Silbergeld E.K. Predictive models for nanotoxicology: Current challenges and future opportunities. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 59, 361-3, 2011.
- Klaine S.J., Alvarez P.J.J., Batley G.E., Fernandes T.F., Handy R.D., Lyon D.Y., Mahendra S., McLaughlin M.J., Lead J.R. Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1825-51, 2008.
- Baun A., Hartmann N.B., Grieger K., Kusk K.O. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing. *Ecotoxicology* 17, 387-95, 2008.
- Delay M., Frimmel F.H. Nanoparticles in aquatic systems. *Anal. Bioanal. Chem.* 402, 583-92, 2012.
- Handy R.D., Shaw B.J. Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: Implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health, Risk & Society* 9, 125-44, 2007.
- Nel A., Xia T., Madler L., Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311, 622-7, 2006.
- Oberdörster G., Maynard A., Donaldson K., Casanova V., Fitzpatrick J., Ausman K., Carter J., Karn B., Kreyling W., Lai D., Olin S., Monteiro-Riviere N., Warheit D., Yang H. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: Elements of a screening strategy. *Part. Fibre Toxicol.* 6, 8, 2005.
- Puzyn T., Rasulev B., Gajewicz A., Hu X.K., Dasari T.P., Michalkova A., Hwang H.M., Toropov A.,

- Leszczynska D., Leszczynski J. Using nano-QSAR to predict the cytotoxicity of metal oxide nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* 6, 175-8, 2011.
11. Zhou H., Mu Q., Gao N., Liu A., Xing Y., Gao S., Zhang Q., Qu G., Chen Y., Liu G., Zhang B., Yan B. A Nano-Combinatorial Library Strategy for the Discovery of Nanotubes with Reduced Protein-Binding, Cytotoxicity, and Immune Response. *Nano Lett.* 8, 859-65, 2008.
 12. Karlsson H.L., Cronholm P., Gustafsson J., Möller L. Copper Oxide Nanoparticles Are Highly Toxic: A Comparison between Metal Oxide Nanoparticles and Carbon Nanotubes. *Chem. Res. Toxicol.* 21, 1726-32, 2008.
 13. Kang S.J., Kim B.M., Lee Y.J., Chung H.W. Titanium Dioxide Nanoparticles Trigger P53-Mediated Damage Response in Peripheral Blood Lymphocytes. *Environ. Mol. Mutagen.* 49, 399-405, 2008.
 14. Gordon T., Chen L.C., Fine J.M., Schlesinger R.B., Su W.Y., Kimmel T.A., Amdur M.O. Pulmonary effects of inhaled zinc oxide in human subjects, guinea pigs, rats, and rabbits. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 53, 503-9, 1992.
 15. Rehn B., Seiler F., Rehn S., Bruch J., Maier M. Investigations on the inflammatory and genotoxic lung effects of two types of titanium dioxide: Untreated and surface treated. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 189, 84-95, 2003.
 16. Chen Y., Chen J., Dong J., Jin Y. Comparing study of the effect of nanosized silicon dioxide and micro-sized silicon dioxide on fibrogenesis in rats. *Toxicol. Ind. Health* 20, 21-7, 2004.
 17. Lyon D.Y., Fortner J.D., Sayes C.M., Colvin V.L., Hughe J.B. Bacterial cell association and antimicrobial activity of a C60 water suspension. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 2757-62, 2005.
 18. Sayes C.M., Fortner J.D., Guo W., Lyon D., Boyd A.M., Ausman K.D., Tao Y.J., Sitharaman B., Wilson L.J., Hughes J.B., West J.L., Colvin V.L. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. *Nano Lett.* 4, 1881-7, 2004.
 19. OECD (2007) Guidance document on the grouping of chemicals. Organisation of Economic Cooperation and Development, <http://www.oecd.org>. Accessed 15 May 2008
 20. Schaafsma G., Kroese E.D., Tielemans E.L.J.P., Van de Sandt J.J.M., Van Leeuwen C.J. REACH, non-testing approaches and the urgent need for a change in mind set. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 53, 70-80, 2009.
 21. Puzyn T., Leszczynska D., Leszczynski J. Toward the development of "Nano-QSARs": Advances and challenges. *Small* 5, 2494-509, 2009.
 22. Limbach L.K., Li Y., Grass R.N., Brunner T.J., Hintermann M.A., Muller M., Gunther D., Stark W.J. Oxide nanoparticle uptake in human lung fibroblasts: Effects of particle size, agglomeration, and diffusion at low concentrations. *Environ. Sci. Technol.* 39, 9370-6, 2005.
 23. Brunner T.J., Wick P., Manser P., Spohn P., Grass R.N., Limbach L.K., Bruinink A., Stark W.J. In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: Comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4374-81, 2006.
 24. Toropov A.A., Leszczynski J. A new approach to the characterization of nanomaterials: Predicting young's modulus by correlation weighting of nanomaterials codes. *Chem. Physics Lett.* 433, 125-9, 2007.
 25. Toropov A.A., Leszczynska D., Leszczynski J. Predicting water solubility and octanol water partition coefficient for carbon nanotubes based on the chiral vector. *Comput. Biol. Chem.* 31, 127-8, 2007.
 26. Martin D., Maran U., Sild S., Karelson M. QSPR modeling of solubility of polyaromatic hydrocarbons and fullerene in 1-octanol and n-heptan. *J. Phys. Chem. B* 111, 9853-7, 2007.
 27. Liu R., Rallo R., George S., Ji Z., Nair S., Nel A.E., Cohen Y. Classification NanoSAR Development for Cytotoxicity of Metal Oxide Nanoparticles. *Small* 7, 1118-26, 2011.
 28. Zhang H., Ji Z., Xia T., Meng H., Low-Kam C., Liu R., Pokhrel S., Lin S., Wang X., Liao Y.-P., Wang M., Li L., Rallo R., Damoiseaux R., Telesca D., Mädler L., Cohen Y., Zink J.I., Nel A.E. Use of Metal Oxide Nanoparticle Band Gap To Develop a Predictive Paradigm for Oxidative Stress and Acute Pulmonary Inflammation. *ACS Nano* 6, 4349-68, 2012.
 29. Weissleder R., Kelly K., Sun E.Y., Shtatland T., Josephson L. Cell-specific targeting of nanoparticles by multivalent attachment of small molecules. *Nat. Biotechnol.* 23, 1418-23, 2005.

30. Shaw S.Y., Westly E.C., Pittet M.J., Subramanian A., Schreiber S.L., Weissleder R. Perturbational Profiling of Nanomaterial Biologic Activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 7387-92, 2008.
31. Sayes C., Ivanov I. Comparative Study of Predictive Computational Models for Nanoparticle-Induced Cytotoxicity. *Risk Anal.* 30, 1723-34, 2010.
32. Gaudin C., Cunha D., Ivanoff E., Horcajada P., Chevé G., Yasri A., Loget O., Serre C., Maurin G. A quantitative structure activity relationship approach to probe the influence of the functionalization on the drug encapsulation of porous metal-organic frameworks. *Microporous Mesoporous Mater.* 157, 124-30, 2012.
33. Shinohara N., Matsumoto K., Endoh S., Maru J., Nakanishi J. In vitro and in vivo genotoxicity tests on fullerene C60 nanoparticles. *Toxicol. Lett.* 191, 289-96, 2009.
34. Tassa C., Duffner J.L., Lewis T.A., Weissleder R., Schreiber S.L., Koehler A.N., Shaw S.Y. Binding affinity and kinetic analysis of targeted small molecule-modified nanoparticles. *Bioconjugate Chem.* 21, 14-9, 2010.
35. Luan F., Kleandrova V.V., González-Díaz H., Ruso J.M., Melo A., Speck-Planche A., Cordeiro M.N. Computer-aided nanotoxicology: assessing cytotoxicity of nanoparticles under diverse experimental conditions by using a novel QSTR-perturbation approach. *Nanoscale* 6, 10623-30, 2014.
36. Fourches D., Pu D.Q.Y., Tassa C., Weissleder R., Shaw S.Y., Mumper R.J., Tropsha A. Quantitative Nanostructure Activity Relationship Modeling. *ACS Nano* 4, 5703-12, 2010.
37. Fourches D., Pu D., Tropsha A. Exploring Quantitative Nanostructure-Activity Relationships (QNAR) Modeling as a Tool for Predicting Biological Effects of Manufactured Nanoparticles. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 14, 217-25, 2011.
38. Epa V.C., Burden F.R., Tassa C., Weissleder R., Shaw S., Winkler D.A. Modeling Biological Activities of Nanoparticles. *Nano Lett.* 12, 5808-12, 2012.
39. Chau Y.T., Yap C.W., Quantitative Nanostructure-Activity Relationship modelling of nanoparticles. *RSC Advances* 2, 8489-96, 2012.
40. Ghorbanzadeh M., Fatemi M.H., Karimpour M. Modeling the Cellular Uptake of Magnetofluorescent Nanoparticles in Pancreatic Cancer Cells: A Quantitative Structure Activity Relationship Study. *Ind. Eng. Chem. Res.* 51, 10712-8, 2012.
41. Toropov A.A., Toropova A.P., Benfenati E., Gini G., Puzyn T., Leszczynska D., Leszczynski J. Novel application of the CORAL software to model cytotoxicity of metal oxide nanoparticles to bacteria *Escherichia coli*. *Chemosphere* 89, 1098-102, 2012.
42. Toropov A.A., Toropova A.P., Puzyn T., Benfenati E., Gini G., Leszczynska D., Leszczynski J. QSAR as a random event: Modeling of nanoparticles uptake in PaCa2 cancer cells. *Chemosphere* 92, 31-7, 2013.
43. Toropova A.P., Toropov A.A. Optimal descriptor as a translator of eclectic information into the prediction of membrane damage by means of various TiO₂ nanoparticles. *Chemosphere* 93, 2650-5, 2013.
44. Liu R., Zhang H.Y., Ji Z.X., Rallo R., Xia T., Chang C.H., Nel A.E., Cohen Y. Development of Structure-Activity Relationship for Metal Oxide Nanoparticles. *Nanoscale* 5, 5644-53, 2013.
45. Toropov A.A., Toropova A.P. Optimal descriptor as a translator of eclectic data into endpoint prediction: Mutagenicity of fullerene as a mathematical function of conditions. *Chemosphere* 104, 262-4, 2014.
46. Melagraki G., Afantitis A. A risk assessment tool for the virtual screening of metal oxide nanoparticles through Enalos InSilicoNano Platform. *Curr. Top. Med. Chem.* 15, 1827-36, 2015.
47. Melagraki G., Afantitis A. Enalos InSilicoNano Platform: An online decision support tool for the design and virtual screening of nanoparticles. *RSC Adv.* 4, 50713-25, 2014.
48. Vrontaki E., Mavromoustakos T., Melagraki G., Afantitis A. (2015) Quantitative nanostructure-activity relationship models for the risk assessment of nanomaterials, in Roy K. ed. Quantitative structure-activity relationships in drug design, predictive toxicology, and risk assessment, *IGI Global*, pp. 535-539.

Νεότερα φάρμακα στη Χρόνια και Οξεία Καρδιακή Ανεπάρκεια

Νικόλαος Κατσίνας, Αναστασία Τσουκιά, Ιωάννα Ανδρεάδου*

Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α. Πανεπιστημιόπολις, Ζωγράφου, Αθήνα 157 71

Περίληψη

Η καρδιακή ανεπάρκεια είναι μια πολύπλοκη, εξελισσόμενη διαταραχή διακρινόμενη σε Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια (ΧΚΑ) και Οξεία Καρδιακή Ανεπάρκεια (ΟΚΑ). Μετά από μια σύντομη περιγραφή των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που εμπλέκονται στις διαταραχές αυτές, η παρούσα επισκόπηση παρέχει πληροφορίες για τη φαρ-

μακευτική τους αντιμετώπιση. Παρουσιάζονται οι δομές, ο μηχανισμός δράσης και οι μοριακοί στόχοι, η φαρμακολογία και σε ορισμένες περιπτώσεις η φαρμακοκινητική και οι ανεπιθύμητες ενέργειες των νεότερων φαρμάκων που περιλαμβάνονται στο σύγχρονο οπλοστάσιο για την χρόνια και την οξεία καρδιακή ανεπάρκεια.

ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ: Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια, Οξεία Καρδιακή Ανεπάρκεια, Φαρμακευτική αντιμετώπιση, Μηχανισμός Δράσης, Φαρμακοκινητική

1. Εισαγωγή¹⁻⁴

1.1 Ορισμοί¹

Η καρδιακή ανεπάρκεια (ΚΑ) είναι μια πολύπλοκη, εξελισσόμενη διαταραχή, κατά την οποία η καρδιά αδυνατεί να αντλήσει επαρκή ποσότητα αίματος προκειμένου να ανταποκριθεί στις ανάγκες των ιστών του σώματος για παροχή οξυγόνου.

Προκαλείται από την μειωμένη ικανότητα της καρδιάς να πληρωθεί επαρκώς ή να αντλήσει το αίμα. Συχνά συνοδεύεται από παθολογική αύξηση του όγκου του αίματος και του μεσοκυττάρου υγρού (εξ' ου και ο όρος «συμφορητική» καρδιακή ανεπάρκεια).

Η Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια (ΧΚΑ) ορίζεται ως η μακροχρόνια κατάσταση κατά την οποία ο ασθενής χρήζει συχνών νοσηλείων. Κύρια συμπτώματα είναι δύσπνοια, εύκολη κόπωση και περιφερικά οιδήματα από κατακράτηση υγρών λόγω ελαττωμένης νεφρικής άρδευσης και συνακόλουθα μειωμένης διούρησης.

Η Οξεία Καρδιακή Ανεπάρκεια (ΟΚΑ) ορίζεται ως η αιφνίδια και ταχεία έναρξη ή επιδείνωση προϋπαρχόντων συμπτωμάτων και σημείων μετά από ανωμαλία της καρδιακής λειτουργίας. Εκδηλώνεται είτε ως πρωτοεμφανιζόμενη ΚΑ είτε ως επιδείνωση της χρόνιας ΚΑ. Η καρδιακή δυσλειτουργία μπορεί να σχετίζεται με συστολική ή διαστολική δυσλειτουργία, ανωμαλίες στον καρδιακό ρυθμό ή διαταραχές στο προφορτίο και μεταφορτίο της καρδιάς. Είναι συχνά απειλητική για την ζωή και χρειάζεται άμεση θεραπευτική αντιμετώπιση.

1.2 Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί⁵

Το παθοφυσιολογικό υπόστρωμα στην ΧΚΑ περιλαμβάνει την χρόνια ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος καθώς και του άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης με αποτέλεσμα την αναδιαμόρφωση (remodelling) του καρδιακού μυοκυττάρου, την απώλεια και υπερτροφία των εναπο-

* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία: Ιωάννα Ανδρεάδου e-mail: jandread@pharm.uoa.gr

μενόντων μυοκυττάρων, και την ίνωση στο μεσοκυττάριο χώρο.

Η ΚΑ μπορεί να εκδηλωθεί σε ασθενείς που εμφανίζουν σοβαρή μείωση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου (π.χ. μετά από οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου ή λόγω πρωτοπαθούς μυοκαρδιακής πάθησης όπως διατατικής μυοκαρδιοπάθειας). Στην περίπτωση αυτή ομιλούμε για καρδιακή ανεπάρκεια σε έδαφος συστολικής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας. Η καρδιά προοδευτικά διατείνεται όσον αφορά το μέγεθος των κοιλοτήτων της, η αριστερή κοιλία γίνεται πιο σφαιρική και παύει να λειτουργεί αποτελεσματικά ως αντλία.

Εξίσου συχνό αίτιο καρδιακής ανεπάρκειας ιδίως στους ηλικιωμένους αποτελεί η διαστολική καρδιακή ανεπάρκεια που εκδηλώνεται σε ασθενείς με φυσιολογική συστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας. Στην περίπτωση αυτή, εμφανίζεται μια παθολογική αύξηση των πιέσεων στην αριστερή κοιλία κατά τη φάση της διαστολικής πλήρωσης (π.χ. από 10-12 σε 20-30 ή και 40 mm Hg). Οι αυξημένες αυτές πιέσεις πλήρωσης της αριστερής κοιλίας μεταδίδονται στις πνευμονικές φλέβες και τα πνευμονικά τριχοειδή, δημιουργούν πνευμονική συμφόρηση και προκαλούν συμπτώματα παρόμοια με αυτά της συστολικής μυοκαρδιακής δυσλειτουργίας (δύσπνοια μέχρι και οξύ πνευμονικό οίδημα, περιφερικά οίδημα κ.λπ.)

Στις υποκείμενες αιτίες περιλαμβάνονται κατά κύριο λόγο η στεφανιαία νόσος, η υπέρταση, οι βαλβιδοπάθειες, η διατατική μυοκαρδιοπάθεια και οι συγγενείς καρδιοπάθειες.

Η μέχρι τώρα φαρμακευτική αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας έχει μελετηθεί κυρίως στην καρδιακή ανεπάρκεια με συστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας. Αντίθετα δεν έχει διαπιστωθεί βελτίωση της επιβίωσης από την φαρμακευτική αγωγή σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια και καλή συστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας.

Η ΟΚΑ οφείλεται στην συνδυαστική δράση των εξής αιμοδυναμικών μηχανισμών: μειωμένη μυοκαρδιακή συσπαστικότητα, αυξημένη διαστολική δυσλειτουργία, περιφερική αγγειοσύσπαση και κατακράτηση Na^+ και H_2O . Οι μηχανισμοί αυτοί οδηγούν τόσο σε προς τα πρόσω (μειωμένη αιμάτωση) όσο και προς τα πίσω (πνευμονική συμφόρηση) ανεπάρκεια.

Η οξεία απορρόθμιση της ΧΚΑ χαρακτηρίζεται από

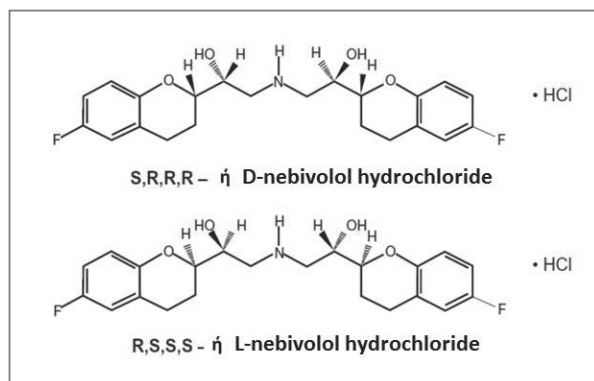
βαθμιαία επιδείνωση της δύσπνοιας και των οιδημάτων, κυρίως λόγω της μη συμμόρφωσης στην δίαιτα και την φαρμακευτική αγωγή, αλλά και λόγω επιδείνωσης αυτής καθ' αυτής της καρδιακής λειτουργίας. Αντίθετα, η οξεία de novo καρδιακή ανεπάρκεια ή άλλως οξεία καρδιαγγειακή ανεπάρκεια οφείλεται σε οξεία αύξηση των διαστολικών πιέσεων της αριστερής κοιλίας, σημαντική αύξηση των συστηματικών αντιστάσεων (>7000 dynes) με ταυτόχρονη ενεργοποίηση μηχανισμών φλεγμονής και νευροορμονικών μηχανισμών. Στην de novo ΟΚΑ αντίθετα με την απορρόθμιση της ΧΚΑ ο ρόλος της υπερφόρτωσης όγκου και άλατος στην παθογένεση του συνδρόμου είναι λιγότερο ξεκάθαρος. Υποθέτουμε ότι η αιφνίδια έναρξη της πνευμονικής συμφόρησης οφείλεται κυρίως σε επανακατανομή του κυκλοφορούντος όγκου παρά στην αύξηση αυτού. Αυτή η επανακατανομή οφείλεται στην οξεία υποσυσπαστικότητα σε συνδυασμό με αύξηση των περιφερικών αγγειακών αντιστάσεων που οδηγεί σε υπέρμετρη αύξηση του μεταφορτίου.

2. Χρόνια Καρδιακή Ανεπάρκεια - Φαρμακευτική αντιμετώπιση

2.1 Νεμπιβολόλη (Nebivolol)

Οι β-αναστολείς (β-blockers) για πολλά χρόνια αποτελούσαν αντένδειξη στη θεραπεία της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας (ΧΚΑ) και είναι εύλογη ακόμα η δυσκολία στην απόφαση της χορήγησης των φαρμάκων αυτών σε ασθενείς με ΧΚΑ. Η ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος (ΣΝΣ), που επάγεται από τη δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας, και οι αρνητικές βιολογικές επιπτώσεις αυτής της ενεργοποίησης στα καρδιακά κύτταρα παρέχει τη λογική βάση της χρήσης των β-αναστολέων στη ΧΚΑ⁶⁻¹⁰.

Η νεμπιβολόλη είναι ένας β-αναστολέας με μεγαλύτερη εκλεκτικότητα στους β_1 -αδρενεργικούς υποδοχείς της καρδιάς και τη μεγαλύτερη β_1 -/ β_2 -εκλεκτικότητα σε σύγκριση με άλλους β-αναστολείς που αξιολογήθηκαν ex vivo. Το φάρμακο αυτό δεν έχει καμία δράση στους α-υποδοχείς και στερείται ενδογενούς συμπαθομιμητικής δραστηριότητας¹¹⁻¹². Λόγω των χαρακτηριστικών της, η νεμπιβολόλη μειώνει την αρτηριακή πίεση και την περιφερική αγγειακή αντίσταση και δεν καταστέλλει, αλλά μάλλον τείνει να διατηρήσει ή να βελτιώσει τη λειτουργία της αριστερής



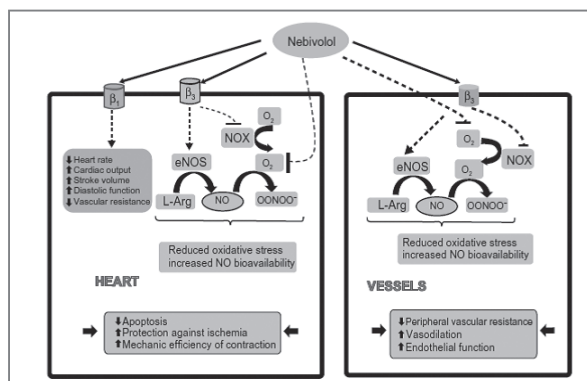
Σχήμα 1. Χημική δομή D- και L- ισομερών νεμπιβολόλης

κοιλίας σε υγιή άτομα ή σε ασθενείς με υπέρταση, αυξάνοντας την καρδιακή παροχή και τον όγκο παλμού, μειώνοντας τη συστηματική αγγειακή αντίσταση και βελτιώνοντας τη διαστολική λειτουργία¹³⁻¹⁸.

Η νεμπιβολόλη διεγείρει επίσης την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO)¹⁹, κάτι που δεν εξαρτάται από την αναστολή των β_1 -αδρενεργικών υποδοχέων. Οι δράσεις της στον καρδιακό ιστό για την απελευθέρωση NO και την προώθηση νεοαγγειογένεσης επιτυγχάνονται με διαμεσολάβηση των β_3 -αδρενεργικών υποδοχέων¹⁹. Διαπιστώθηκε ότι η νεμπιβολόλη δεν επάγει την παραγωγή NO στην καρδιά παρουσία του ανταγωνιστή β_3 -αδρενεργικών υποδοχέων SR59230A. Επιπλέον, οι β_3 -αδρενεργικοί υποδοχείς έχουν αναδειχθεί ως πιθανοί στόχοι για τη θεραπεία καρδιακών νοσημάτων^{20,21}. Τα καρδιοπροστατευτικά αποτελέσματα της νεμπιβολόλης μπορεί να αποδίδονται ιδιαίτερα επωφελή για τη θεραπεία της ισχαιμικής βλάβης και της καρδιακής ανεπάρκειας μέσω διατήρησης της στεφανιαίας εφεδρείας (coronary flow reserve)²². Πράγματι, πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει ότι η νεμπιβολόλη, καθώς και δύο άλλοι ειδικοί β_3 -αδρενεργικοί αγωνιστές προστατεύουν τη βλάβη ισχαιμίας- επαναιμάτωσης, μέσω ταχείας ενεργοποίησης της ενδοθηλιακής και της νευρωνικής συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου, με αποτέλεσμα την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του NO²³.

2.1.1 Δομή-Μηχανισμός Δράσης

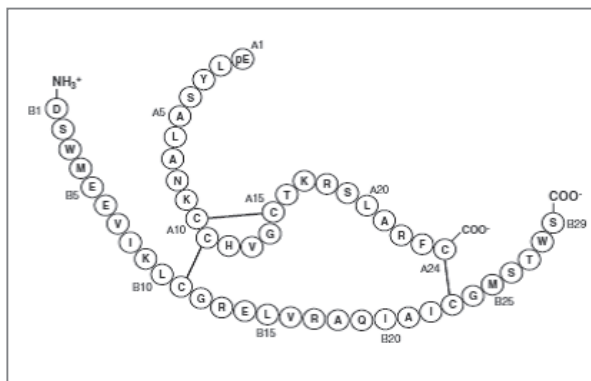
Η νεμπιβολόλη είναι ρακεμικό μείγμα δύο ισομερών: D-Nebivolol και L-Nebivolol.²⁴ (Σχήμα 1).



Σχήμα 2. Μηχανισμός δράσης της νεμπιβολόλης στο καρδιαγγειακό σύστημα

Η δράση της νεμπιβολόλης ως αναστολέας των β_1 -υποδοχέων οφείλεται στο D-ισομερές, ενώ η δράση της στην απελευθέρωση του NO οφείλεται κυρίως στο L-εναντιομερές^{25,26}. Η μείωση της ταχυκαρδίας κατά την άσκηση είναι εμφανής με το ρακεμικό μείγμα²⁴.

Το ρακεμικό μείγμα και τα εναντιομερή της νεμπιβολόλης έχουν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση που επιδρά στον κυτταρικό μεταβολισμό του NO²⁷. Η νεμπιβολόλη απομακρύνει τις δραστικές (ελεύθερες) ρίζες οξυγόνου με άμεση αλληλεπίδραση με τις ρίζες (δράση ανεξάρτητη από υποδοχέα). Έχει αποδειχθεί ακόμη ότι μειώνει την συγκέντρωση του ανιόντος υπεροξειδίου στα ενδοθηλιακά κύτταρα²⁸ και τη συγκέντρωση του υπεροξυνιτρώδους ανιόντος^{29,30}. Με αυτόν τον τρόπο, όχι μόνο μειώνει το οξειδωτικό στρες, αλλά και αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητα του NO. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι μειώνει τη δραστηριότητα της NAD(P). Η οξειδάσης σε διάφορους τύπους υπέρτασης (συμπεριλαμβανομένων αρουραίων που τους είχε χορηγηθεί αγγειοτασίνη II, αυθόρμητων υπερτασικών ποντικών και διαγονιδιακών ποντικών που υπερκεφαλίζουν ρενίνη)^{29,31,32}. Αυτός είναι ένας ακόμη τρόπος με τον οποίο το φάρμακο μπορεί να μειώσει την υπερπαραγωγή O₂- και το οξειδωτικό στρες (περιβάλλον που κυρίως χαρακτηρίζει την υπέρταση). Η νεμπιβολόλη έχει συνεργιστικό μηχανισμό δράσης, διεγείρει την ενδοθηλιακή συνθετάση του NO και έχει β_1 ανταγωνιστική δράση παρέχοντας έτσι καρδιαγγειακή προστασία (Σχήμα 2).



Σχήμα 3. Σχηματική δομή ρελαξίνης

2.1.2 Κλινική εικόνα

Όσον αφορά στην καρδιακή ανεπάρκεια, κλινικές μελέτες δείχνουν ότι οι β-αναστολείς (μετοπρολόλη, βισοπρολόλη, καρβεδιλόλη και νεμπιβολόλη) μειώνουν την πενταετή θνησιμότητα και τη νοσηρότητα για περίπου το ένα τρίτο των ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια, προκαλώντας μείωση της αδρενεργικής υπερδραστηριότητας, τροποποίηση επί τα βελτίω της ισορροπίας του συμπαθητικού-παρασυμπαθητικού νευρικού συστήματος και της μεταβλητότητας του καρδιακού ρυθμού, καθώς και βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας. Παρ' όλα αυτά, η θεραπεία με β-αναστολείς έχει δυνητικά σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες σε αυτούς τους ασθενείς εφόσον δεν χορηγηθούν προσεκτικά με προοδευτική τιτλοδότηση της δόσης³². Αυτές οφείλονται κυρίως στην αρνητική ινότροπη και χρονότροπη δράση αυτών των ενώσεων. Η νεμπιβολόλη και η καρβεδιλόλη όμως διατηρούν τη λειτουργία της αριστερής κοιλίας, τον όγκο παλμού και την καρδιακή παροχή, παράγουν περιφερική αγγειοδιαστολή και διατηρούν τον καρδιακό χρονοτροπισμό κατά τη διάρκεια της άσκησης³³⁻³⁶. Επιπλέον, σε αντίθεση με τους κλασικούς β-αναστολείς, ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι η νεμπιβολόλη έχει ουδέτερη ή ευεργετική επίδραση σε αιμοδυναμικές παραμέτρους, όπως η μέση πίεση της πνευμονικής αρτηρίας και η πίεση πνευμονικής ενσφύνωσης^{37,38}.

Τα αποτελέσματα της νεμπιβολόλης στην καρδιακή ανεπάρκεια αξιολογήθηκαν στην μελέτη SENIORS (Study of Effects of Nebivolol Intervention on Outcomes and Rehospitalization in Seniors with heart failure), όπου πάνω από 2000 ασθενείς ηλικίας

άνω των 70 ετών με ιστορικό καρδιακής ανεπάρκειας (με εισαγωγή στο νοσοκομείο για καρδιακή ανεπάρκεια μέσα στο προηγούμενο έτος ή με γνωστό κλάσμα εξώθησης μικρότερο του 35%) τυχαιοποιήθηκαν σε νεμπιβολόλη (n=1067) από 1,25 mg έως 10 mg ημερησίως ή σε placebo (n=1061). Τα τελικά σημεία ήταν η θνησιμότητα από οποιασδήποτε αιτία και η καρδιαγγειακή νοσηλεία σε νοσοκομείο κατά τη μέση διάρκεια παρακολούθησης 21 μηνών. Η νεμπιβολόλη ήταν αποτελεσματικότερη έναντι του placebo και καλά ανεκτή στους ηλικιωμένους αυτούς ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια³⁹.

2.2 Ρελαξίνη (Relaxin)

Η ρελαξίνη, η οποία παράγεται φυσιολογικά από το ωχρό σωμάτιο κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου και της εγκυμοσύνης στις γυναίκες και από τον προστάτη στους άντρες, είναι ένα 6-kDa διπλής αλυσίδας πεπτιδίο που αποτελείται από 53 αμινοξέα (Σχήμα 3). Οι δυο αλυσίδες A και B συνδέονται μεταξύ τους με δι-σουλφιδικούς δεσμούς. Ανήκει στην υπερικογενεία των ινσουλινών.

Χημικά συντίθεται ως μια ενιαία αλυσίδα, που διπλώνει και υποβάλλεται σε αφαίρεση ενός C-πεπτιδίου, για να παράγει ένα μόριο 2 αλυσίδων με δι-σουλφιδικούς δεσμούς. Το συντιθέμενο μόριο ρελαξίνης είναι ταυτόσημο σε αλληλουχία αμινοξέων με την ώριμη ανθρώπινη ρελαξίνη⁴⁰.

2.2.1 Υποδοχείς Ρελαξίνης-Μηχανισμός Δράσης

Έχουν ταυτοποιηθεί 4 υποδοχείς που αποτελούν φυσιολογικούς στόχους των πεπτιδίων τύπου ρελαξίνης και ανήκουν στην υπερικογενεία GPCR (G-protein coupled receptors). Η ρελαξίνη εμφανίζει μεγαλύτερη συγγένεια με τον υποδοχέα LGR7 (ή RXFP1)⁴¹. Οι υποδοχείς LGR7 εντοπίζονται κυρίως στη μικρή νεφρική, μεσεντέρια και θωρακική αορτή σε ποντίκια και αρουραίους και των 2 φύλων⁴². Στον άνθρωπο, έχουν εντοπιστεί επίσης στα αιμοφόρα αγγεία, καθώς και στο μυοκάρδιο⁴³. Ο υποδοχέας LGR8 (ή RXFP2) έχει μεγάλη ομοιότητα με τον υποδοχέα LGR7, έχει ωστόσο 10 φορές μικρότερη συγγένεια με τη ρελαξίνη από ότι ο LGR7. Παρ' όλ' αυτά, μπορεί να ενεργοποιήσει παρόμοια, αλλά όχι ταυτόσημα, σηματοδοτικά μονοπάτια⁴⁴. Η ίδια η ρελαξίνη έχει ανιχνευθεί σε θωρακική, μεσεντέρια και νεφρική αορτή αρουραίου⁴² και

στην ανθρώπινη σαφήνη φλέβα, μαστική αρτηρία και στα αιμοφόρα αγγεία του δέρματος⁴⁵.

Ένας σημαντικός ενδοκυττάριος δεύτερος αγγελιοφόρος που εμπλέκεται στη δράση της ρελαξίνης είναι το cAMP. Η σύνδεση της ρελαξίνης στον υποδοχέα της οδηγεί στην ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης ενεργοποιούμενη από μιτογόνο (MAPK) καθώς και της φωσφατιδυλοϊνοσιτολικής-3-κινάσης (PI3K), που προκαλεί αύξηση του cAMP στα κύτταρα-στόχους⁴⁶⁻⁴⁸. Στα υπόλοιπα κύτταρα στα οποία μετρήθηκαν οι απαντήσεις ρελαξίνης, περιγράφηκαν μόνο μικρές παροδικές αυξήσεις του cAMP⁴⁹ ή ενεργοποίηση της MAPK χωρίς αύξηση cAMP⁵⁰, υποδεικνύοντας την ύπαρξη εναλλακτικών οδών σηματοδότησης^{44,47}.

Η ρελαξίνη προκαλεί έμμεσα συστηματικά και νεφρικά αιμοδυναμικά αποτελέσματα. Το NO⁵¹⁻⁵³ και οι υποδοχείς Β της ενδοθηλίνης^{47,54} λειτουργούν ως διαμεσολαβητές της αγγειοδιασταλτικής δράσης της ρελαξίνης. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες του ενδοκυττάριου δικτύου (Matrix Metalloproteases, MMPs), που διεγείρονται από τη ρελαξίνη, μετατρέπουν τη μεγάλη ενδοθηλίνη στη βιοδραστική της μορφή, την ενδοθηλίνη 1-32, και είναι απαραίτητες για την αγγειοδιαστολή, που προκαλείται από τη ρελαξίνη⁵⁵. Άλλοι πιθανοί μεσολαβητές της αγγειοδιασταλτικής δράσης της ρελαξίνης είναι το κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο (atrial natriuretic peptide, ANP)⁵⁶, που παράγεται στην καρδιά, και ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) στο ενδομήτριο^{57,58}.

Η διέγερση των πολλαπλών αγγειακών μονοπατιών στο αγγειακό σύστημα με ρελαξίνη μπορεί να προσφέρει ιδιαίτερα πλεονεκτήματα για τη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας. Εξαιτίας του ότι η ρελαξίνη λειτουργεί έμμεσα, μέσω πολλαπλών μηχανισμών με βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες επιδράσεις στην αιμοδυναμική, μπορεί να είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας, με οξεία και διαρκή αποτελέσματα, και να παρέχει ένα ευνοϊκό προφίλ οφέλους-κινδύνου.

2.2.2 Φαρμακολογία

Συστηματική αγγειοδιαστολή

Σε μοντέλα αρουραίων, η ρελαξίνη μειώνει τη συστηματική αγγειακή αντίσταση (Systemic Vascular Resistance, SVR) ιδιαίτερα όταν η βασική SVR είναι

υψηλή⁵⁹. Η μείωση στην SVR συνοδεύεται από αύξηση της καρδιακής παροχής, κυρίως λόγω της αύξησης του όγκου παλμού⁵⁹.

Η ρελαξίνη αναστέλλει επίσης τις αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες των δύο βασικών μεσολαβητών αγγειοσυσπασσης στην καρδιακή ανεπάρκεια, της ενδοθηλίνης και της αγγειοτασίνης II⁶⁰⁻⁶². Έχει διαπιστωθεί ότι αντιστρέφει τα αποτελέσματα της αγγειοτασίνης II στις αιμοδυναμικές παραμέτρους στους αρουραίους⁶³. Αγγεία από την μεσεντέρια αορτή, που απομονώθηκαν από αρουραίους μετά από χορήγηση ρελαξίνης, έδειξαν επίσης μειωμένες απαντήσεις σε αγγειοσυσταλτικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων της νορεπινεφρίνης και της αγγειοτασίνης II⁶². Η ρελαξίνη έχει δείξει αγγειοδιασταλτική δράση ανώτερη της ακετυλοχολίνης ή του νιτροπρωσσικού νατρίου σε απομονωμένες καρδιές αρουραίων και ενδικών χοιριδίων⁵². Προκαλεί επίσης αγγειοδιαστολή σε απομονωμένα ανθρώπινα αγγεία όταν χορηγείται *ex vivo*^{64,65}.

Νεφρική αγγειοδιαστολή

Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, αγγειοδιαστολή εμφανίζεται στα νεφρικά αγγεία, προκαλώντας νεφρικές αγγειακές αιμοδυναμικές ρυθμίσεις που προβλέπουν τις αυξανόμενες μεταβολικές απαιτήσεις του εμβρύου. Ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης (Glomerular Filtration Rate, GFR) και η νεφρική ροή αίματος (RBF) αυξάνονται κατά 45% κατά το πρώτο τρίμηνο, σε σύγκριση με την περίοδο προ της εγκυμοσύνης ή μετά τον τοκετό^{65,66}. Άμεσες και έμμεσες μετρήσεις στους νεφρούς, μας έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι η αγγειοδιαστολή τόσο των απαγωγών όσο και των προσαγωγών νεφρικών αρτηριδίων που εμφανίζεται, δεν οδηγεί σε αύξηση της σπειραματικής πίεσης⁶⁷. Στην εγκυμοσύνη, η αύξηση της RBF υπερβαίνει την αύξηση του GFR, οδηγώντας σε μια μείωση στο υπολογιζόμενο κλάσμα διήθησης. Η αύξηση του GFR πιστεύεται ότι ως επί το πλείστον οφείλεται στην αύξηση του RBF. Ένα μεγάλο κομμάτι της έρευνας σε μοντέλα τρωκτικών έχει προτείνει ότι αυτές οι αιμοδυναμικές μεταβολές, σε μεγάλο μέρος, γίνονται με τη μεσολάβηση της ρελαξίνης⁶⁸.

Η νεφρική αγγειοδιαστολή που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης έχει διαπιστωθεί μετά από εξωγενή έγχυση ρελαξίνης σε αρου-

ραίους^{60,61}. Η GFR και η αποτελεσματική νεφρική ροή πλάσματος (Effective renal plasma flow, ERPF) αυξήθηκαν κατά 33% και 49% σε σχέση με την αρχική τιμή, αντίστοιχα, σε αρουραίους με ωοθηκτομή στους οποίους χορηγήθηκε ρελαξίνη και αυτό συνέβη μέσα σε 1-2 ώρες μετά από την έγχυση της ρελαξίνης⁶⁹. Η νεφρική αγγειοδιαστολή εξαιτίας της ρελαξίνης και η βελτίωση της GFR μεσολαβήθηκαν από τον ενδοθηλιακό υποδοχέα B (ETB), που πιθανώς βρίσκεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα⁷⁰, και από το NO^{60,61}. Φαίνεται ότι η ρελαξίνη ενεργεί απευθείας στα αγγεία και ότι η σηματοδότηση που απαιτείται (συμπεριλαμβανομένης της επαγωγής των MMPs, της παραγωγής ET1-32 που οδηγεί στην ενεργοποίηση του υποδοχέα ETB, και της παραγωγής NO) εμφανίζεται τοπικά στο αγγείο.

Αρτηριακή αναδιαμόρφωση

Η ενεργοποίηση των MMPs οδηγεί σε αύξηση της αρτηριακής αναδιαμόρφωσης (arterial remodeling).^{61,72} Η ρελαξίνη, που εγχύεται για σύντομη χρονική περίοδο 2-3 ημερών σε αρουραίους, έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει συνολικά την αρτηριακή αναδιαμόρφωση, παρέχοντας αύξηση της καρδιακής παροχής και μείωση των συστηματικών αγγειακών αντιστάσεων⁵⁹ και ταυτίζεται με το ρόλο της στην εγκυμοσύνη⁷³.

2.3 Ουροντιλατίνη/ουλαριτίδη (Urodilatin/ularitide)

Η Ουροντιλατίνη είναι ένα νατριουρητικό πεπτιδίο αποτελούμενο από 32 τμήματα αμινοξέων, που απομονώθηκε από τα ανθρώπινα ούρα⁷⁴. Μετά τη σύνθεσή του στα άπω σωληνοειδή κύτταρα, εκκρίνεται, συλλέγεται μεταγενέστερα στο εσωτερικό μυελοειδές, δεσμεύεται σε υποδοχείς νατριουρητικού πεπτιδίου τύπου A, αυξάνει τα επίπεδα ενδοκυτταρικής κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP) και έτσι ρυθμίζει τη νεφρική απέκκριση νατρίου και νερού⁷⁵. Η ουλαριτίδη είναι η συνθετική μορφή του πεπτιδίου.

Η διπλή-τυφλή έρευνα, ελεγχόμενη με placebo που περιγράφεται κατωτέρω⁷⁶, είχε ως στόχο να προσδιορίσει αιμοδυναμικά και νευρορμονικά αποτελέσματα, καθώς και να αξιολογήσει το προφίλ

ασφάλειας των 24-ωρων συνεχών εγχύσεων διαφόρων δόσεων ουροντιλατίνης σε ασθενείς με αντιρροπούμενη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (DHF). Στη μελέτη συμμετείχαν 24 λευκοί ασθενείς με DHF, με δύσπνοια σε ηρεμία ή ελάχιστη σωματική δραστηριότητα, που απαιτούσαν νοσηλεία. Κύρια κριτήρια αποκλεισμού ήταν η συστολική αρτηριακή πίεση <90mmHg, έμφραγμα του μυοκαρδίου εντός των 4 προηγούμενων εβδομάδων, σοβαρή αορτική στένωση και καρδιογενές σοκ. Για λόγους ασφαλείας, οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε τρεις ομάδες δόσεων ουροντιλατίνης (7,5, 15 και 30 ng/(kg d min)) κατά αύξουσα σειρά, ξεκινώντας από 7,5 ng/(kg d min). Όλοι οι ασθενείς έλαβαν τη βασική καρδιαγγειακή φαρμακευτική αγωγή τους. Κατά τη διάρκεια ενός πενταώρου (ξεκινώντας 3 ώρες πριν την έναρξη έγχυσης του φαρμάκου μελέτης), αναστολείς φωσφοδιεστεράσης και ενδοφλέβια χορήγηση διουρητικών, αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (AMEA) και νιτρικά άλατα δόθηκαν μόνο όταν ήταν ανάγκη.

Συνεχείς εγχύσεις δοβουταμίνης/ντοπαμίνης επετράπησαν σε σταθερή δόση κατά τη διάρκεια αυτού του πενταώρου. Μετρήθηκαν τα επίπεδα cGMP και N-terminal (NT) pro-brain peptide στο πλάσμα (NT-pro-BNP). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι 24-ώρες εγχύσεις αυξανόμενων δόσεων ουροντιλατίνης είχαν ευεργετικά αιμοδυναμικά και νευρορμονικά αποτελέσματα σε ασθενείς με DHF. Η ουροντιλατίνη σε ποσότητα 30 ng/(kg min) μείωσε την πίεση ενσφήνωσης πνευμονικών τριχοειδών (Pulmonary Capillary Wedge Pressure, PCWP) και την πίεση δεξιού κόλπου (Right Atrial Pressure, RAP) σε σχέση με το placebo σε 6 ώρες, ενώ στην ομάδα των 7,5 ng/(kg min), δεν παρατηρήθηκε κανένα αποτέλεσμα από το φάρμακο.

Η ουροντιλατίνη προκαλεί ανεπιθύμητες ενέργειες στους νεφρούς όπως διούρηση και νατριούρηση. Τα επίπεδα κρεατινίνης του ορού μεταξύ των ομάδων δε διέφεραν σημαντικά. Η νεφρική λειτουργία έχει αντίκτυπο στην πρόγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας⁷⁷. Επομένως, εκτός από βελτίωση της αιμοδυναμικής λειτουργίας, βελτίωση ακόμη και της νεφρικής λειτουργίας μπορεί να αποτελέσει σημαντικό στόχο για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της DHF από την ουροντιλατίνη.

2.4 BG9719 (Ανταγωνιστής των υποδοχέων A1 της Αδενোসίνης)

Σύγχρονες μελέτες έχουν δείξει ότι η επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας σχετίζεται με φτωχότερη κλινική έκβαση των νοσηλευόμενων ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια⁷⁸. Η νεφρική λειτουργία μπορεί να τροποποιηθεί από τα εξωκυττάρια επίπεδα αδενোসίνης που δρουν σε συγκεκριμένους μεμβρανικούς υποδοχείς.

Ο BG9719 είναι ένας εκλεκτικός ανταγωνιστής A1 υποδοχέων αδενোসίνης με την ικανότητα να βελτιώνει τη νεφρική λειτουργία σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια σύμφωνα με μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή διασταυρούμενη μελέτη 3 δόσεων BG9719 σε σύγκριση με placebo⁷⁹. Το BG9719 χορηγήθηκε μόνο του και σε συνδυασμό με 80 mg ενδοφλέβιας φουροσεμίδης σε 63 ασθενείς με συμπτωματική καρδιακή ανεπάρκεια και περιφερικά οιδήματα. Στόχος ήταν ακόμη η αξιολόγηση του όγκου των ούρων και της απέκκρισης ηλεκτρολυτών. Στη μελέτη συμμετείχαν ασθενείς από 8 κλινικά κέντρα που νοσηλεύτηκαν εκεί για καρδιακή ανεπάρκεια τους τελευταίους 14 μήνες. Όλοι οι ασθενείς ελάμβαναν αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης Ι. Οι δόσεις BG9719 που χρησιμοποιήθηκαν σχεδιάστηκαν για να αποδώσουν συγκεντρώσεις ορού της τάξης των 0,1, 0,75 ή 2,5 g/mL. Χορηγήθηκε αυξανόμενη δόση, συνοδευόμενη από μια 7-ωρη έγχυση. Διαπιστώθηκε ότι ο BG9719 αύξησε την παραγωγή ούρων και την απέκκριση νατρίου όταν χορηγήθηκε χωρίς διουρητικό σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια που λάμβαναν παράλληλα αναστολείς ACE, κάτι που δηλώνει τις διουρητικές ιδιότητες των ανταγωνιστών A1 υποδοχέων. Αυξήθηκε επίσης η παραγωγή ούρων όταν συνχορηγήθηκε φουροσεμίδα. Παρόλο που η φουροσεμίδα από μόνη της προκάλεσε μια μείωση στην κάθαρση κρεατινίνης, όταν δόθηκε μαζί με τις δύο χαμηλότερες δόσεις BG9719 η κάθαρση κρεατινίνης διατηρήθηκε, έχοντας μια αποτελεσματική διούρηση. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι ο BG9719 μπορεί να αποτρέψει την επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας, ενώ αυξάνει την παραγωγή ούρων κατά τη διάρκεια της συνήθους θεραπείας της καρδιακής ανεπάρκειας. Επιπλέον, ο ανταγωνισμός των υποδοχέων A1 της αδενোসίνης μπορεί να προστατέψει από την συχνά παρατηρού-

μενη μείωση της σπειραματικής διήθησης, που σχετίζεται με τη χρήση διουρητικών αγκύλης.

Τα αποτελέσματα αυτά συνηγορούν ότι ανταγωνιστές των A1 υποδοχέων αδενোসίνης μπορεί να είναι χρήσιμοι στη θεραπεία της οξείας συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας.

2.4.1 Πιθανός μηχανισμός δράσης

Η αδενোসίνη δρα σε δύο διαφορετικούς υπο-τύπους υποδοχέων στους νεφρούς: τους υποδοχείς A1 και τους A2⁸⁰. Η διέγερση των A2 υποδοχέων αυξάνει τη ροή του αίματος στο μυελό των νεφρών και αναμένεται να βελτιώνει έτσι τη νεφρική λειτουργία. Ωστόσο, οι A1 υποδοχείς κυριαρχούν στους νεφρούς. Μέσω διέγερσης των A1, η αδενোসίνη μπορεί να μειώνει άμεσα τη σπειραματική διήθηση, μέσω διάτασης των μετα-σπειραματικών αγγείων⁸¹ ή αγγειοσυστολής πριν από το σπείραμα, μειώνοντας έτσι τη νεφρική ροή του αίματος⁸². Ο A1 υποδοχέας φαίνεται να είναι ο μεσολαβητής μιας σωληναριακής/σπειραματικής ανατροφοδότησης (μηχανισμός ωχράς κηλίδας), με την οποία η αυξημένη συγκέντρωση Νατρίου (επαναρρόφηση Νατρίου) στο εγγύς σωληνάριο οδηγεί σε μείωση της σπειραματικής διήθησης⁸³.

Ο αποκλεισμός επομένως των A1 υποδοχέων θα μπορούσε να αναστείλει την σωληναριακή/σπειραματική ανατροφοδότηση και να διαστέλλει τα προσαγωγά αρτηρίδια, οδηγώντας σε βελτίωση της σπειραματικής διήθησης. Ο επιλεκτικός αποκλεισμός A1 υποδοχέων φαίνεται να επηρεάζει επίσης άμεσα τα εγγύς και άπω σωληνάκια, αυξάνοντας την απέκκριση Νατρίου⁸⁴, ενώ απέδειξε παράλληλα τον φυσιολογικό ρόλο της αδενোসίνης στον έλεγχο της σωληναριακής λειτουργίας⁸⁵.

25 Ιβαμπραδίνη (ivabradine)

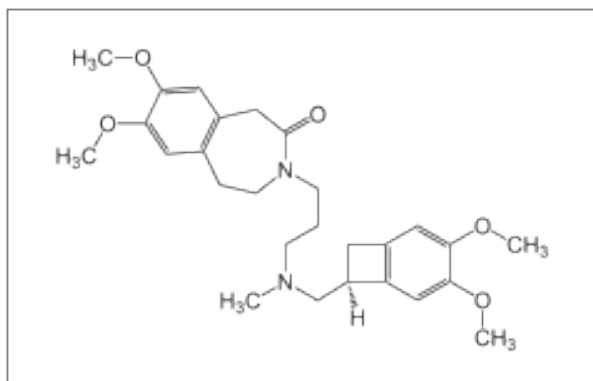
Η ιβαμπραδίνη (Σχήμα 4) είναι ένας ειδικός αναστολέας If στον φλεβόκομβο⁸⁶. Αποτελέσματα από μελέτες δείχνουν ότι, η ιβαμπραδίνη σε συγκεντρώσεις που επιτυγχάνονται κατά τη διάρκεια της θεραπευτικής χρήσης, δεν έχει καμία δράση σε άλλους διαύλους της καρδιάς ή του αγγειακού συστήματος. Σε αντίθεση με τους β-αναστολείς, η ιβαμπραδίνη δεν τροποποιεί τη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου ακόμη και σε ασθενείς με μειωμένη συστολική λειτουργία⁸⁷.

Η μελέτη SHIFT⁸⁸ (Systolic Heart failure treatment with the If inhibitor ivabradine Trial) σχεδιάστηκε με στόχο την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της ιβαμπραδίνης έναντι εικονικού φαρμάκου σε ασθενείς που έπασχαν από συστολική καρδιακή ανεπάρκεια. Η μελέτη SHIFT ήταν μια πολυεθνική, τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη από placebo, παράλληλων ομάδων κλινική δοκιμή σε ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια και αριστερή κοιλιακή συστολική δυσλειτουργία. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε 677 κέντρα σε 37 χώρες. Οι ασθενείς που επελέγησαν ήταν άντρες ή γυναίκες 18 ετών ή μεγαλύτεροι, με φλεβοκομβικό ρυθμό και υψηλή αρχική καρδιακή συχνότητα (≥ 70 bpm), σταθερή συμπτωματική χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια και αριστερό κοιλιακό κλάσμα εξώθησης 35% ή χαμηλότερο. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν είτε σε ομάδα θεραπείας είτε σε ομάδα placebo. Η αρχική δόση ήταν 5 mg δύο φορές ημερησίως ιβαμπραδίνης ή placebo. Μετά από μια 14-ήμερη περίοδο εξατομίκευσης της δοσολογίας, η δόση αυξήθηκε στα 7,5 mg δύο φορές ημερησίως (ή αντίστοιχα του εικονικού φαρμάκου), εκτός εάν η καρδιακή συχνότητα ήταν 60 bpm ή λιγότερο. Αν ο ρυθμός της καρδιάς ήταν μεταξύ 50 και 60 bpm, η δόση αυτή διατηρήθηκε στα 5 mg δύο φορές ημερησίως. Εάν η καρδιακή συχνότητα ήταν χαμηλότερη από 50 bpm ή εάν ο ασθενής είχε σημάδια ή συμπτώματα που σχετίζονται με βραδυκαρδία, η δόση μειώθηκε σε 2,5 mg δύο φορές ημερησίως. Το κύριο τελικό σημείο ήταν ο συνδυασμός καρδιαγγειακού θανάτου ή εισαγωγής στο νοσοκομείο για επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας. Το δευτερεύον τελικό σημείο ήταν ο συνδυασμός του καρδιαγγειακού θανάτου ή εισαγωγής στο νοσοκομείο για επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας σε ασθενείς που λάμβαναν τουλάχιστον το 50% της στοχευόμενης ημερήσιας δόσης ενός β-αναστολέα (όπως ορίζεται από τις κατευθυντήριες γραμμές της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιολογίας) κατά την τυχαιοποίηση⁸⁹. Η ομάδα των ασθενών που λάμβαναν αγωγή με ιβαμπραδίνη εμφάνισε μείωση κατά 18% του σχετικού κινδύνου όσον αφορά το πρωτεύον τελικό σημείο σε σύγκριση με την ομάδα που λάμβανε placebo. Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι η ιβαμπραδίνη μειώνει σημαντικά τους κινδύνους που συνδέονται με την καρδιακή ανεπάρκεια, όταν προστίθεται στην ενδεδειγμένη

θεραπεία σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες, αποτελέσματα που έγιναν εμφανή ήδη εντός 3 μηνών από την έναρξη της θεραπείας, και διατηρήθηκαν μέσα από την πορεία της μελέτης. Η ιβαμπραδίνη ήταν καλά ανεκτή. Αξίζει να σημειωθεί ότι, αν και βραδυκαρδία καταγράφηκε στο 10% των ασθενών, εξέταση της πιθανότητας απόσυρσης έγινε μόνο στο 1% του συνολικού πληθυσμού, το οποίο είναι αξιοσημείωτο, δεδομένου ότι το 89% λάμβαναν β-αναστολείς. Στον πληθυσμό SHIFT, οι ασθενείς με υψηλότερο καρδιακό ρυθμό από το μέσο όρο είχαν αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης συμβάματος και επωφελήθηκαν μια μεγαλύτερη μείωση συμβαμάτων από την ιβαμπραδίνη από ότι τα άτομα με καρδιακή συχνότητα χαμηλότερη από τη μέση. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι το μέγεθος του οφέλους που συνδέεται με την ιβαμπραδίνη ποικίλλει άμεσα με την καρδιακή συχνότητα προ θεραπείας. Το συμπέρασμα αυτό είναι σύμφωνο με μια μετα-ανάλυση των β-αναστολέων σε δοκιμές χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας, που υποδηλώνει ότι υπάρχει σχέση μεταξύ του μεγέθους μείωσης καρδιακού ρυθμού και αποτελέσματος⁹⁰. Έτσι, τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την ιδέα ότι η καρδιακή συχνότητα παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της καρδιακής ανεπάρκειας και ότι η διαφοροποίηση του καρδιακού ρυθμού μπορεί να επηρεάσει την εξέλιξη της νόσου.

2.6 Επλερενόνη (Eplerenone)

Η επλερενόνη (Σχήμα 5) αποτελεί ανταγωνιστή της αλδοστερόνης. Η αλδοστερόνη είναι μια στεροειδής ορμόνη που εκκρίνεται από τη μυελώδη μούρα του φλοιού των επινεφριδίων και εμπλέκεται άμεσα στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Ασκει κύριες επιπτώσεις στην άπω σωληναριακή περιοχή του νεφρώνα, όπου αυξάνει την επαναπορρόφηση νερού και χλωριούχου νατρίου, με αποτέλεσμα την αύξηση του εξωκυττάριου όγκου υγρών. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι, εκτός από τα αποτελέσματα στους νεφρούς και το ρυθμιστικό ρόλο της για την ισορροπία των ηλεκτρολυτών, η αλδοστερόνη δρα σε διάφορους τύπους κυττάρων που επηρεάζουν κυτταρικούς μηχανισμούς, οι οποίοι μεσολαβούν για υπερτροφία και ίνωση. Μελέτες έχουν ανιχνεύσει έκφραση υποδοχέων με υψηλή συγγένεια για αλδοστερόνη σε καρδιομυοκύτταρα και ινοβλάστες που προέρχονται από



Σχήμα 4. Χημική δομή ιβαμπραδίνης

ανθρώπινες καρδιές⁹¹. Εδώ και μια δεκαετία, δύο κυρίως εργασίες διερεύνησαν τις επιπτώσεις των ανταγωνιστών αλδοστερόνης-συγκεκριμένα της σπειρονολακτόνης και της επλερενόνης- σε ασθενείς με συστολική καρδιακή ανεπάρκεια λειτουργικής κατηγορίας III-IV.

ΟΙ μελέτες έδειξαν σημαντική μείωση στο ποσοστό θνησιμότητας (mortality) και νοσηρότητας (morbidity) σε σύγκριση με ασθενείς που λάμβαναν εικονικό φάρμακο. Πρόκειται για τις μελέτες RALES⁹² (Randomized Aldactone Evaluation Study) και EPHESUS⁹³ (Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study) που έγιναν σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια κατηγορίας κατά NYHA III-IV, στους οποίους χορηγήθηκε σπειρονολακτόνη καθώς και σε ασθενείς μετά από έμφραγμα μυοκαρδίου με σοβαρή διαταραχή στη συστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας, στους οποίους χορηγήθηκε επλερενόνη αντίστοιχα. Και οι δύο έρευνες έδειξαν τα πλεονεκτήματα του ανταγωνισμού των υποδοχέων της αλδοστερόνης σε σύγκριση με εικονικό φάρμακο σε ασθενείς με προχωρημένα επίπεδα συστολικής καρδιακής ανεπάρκειας.

Πρόσφατα πραγματοποιήθηκε και η μελέτη EMPHASIS⁹⁴ (Eplerenone in Mild Patients Hospitalization and Survival Study in Heart Failure). Σε αυτή την έρευνα, 2737 ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια κατηγορίας κατά NYHA II και κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας μικρότερο του 35% τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν είτε επλερενόνη είτε placebo επιπρόσθετα στη συμβατική θεραπεία. Αυτή

η έρευνα ολοκληρώθηκε πρόωρα, μετά από μια μέση περίοδο παρακολούθησης 21 μηνών, επειδή το σύνθετο τελικό σημείο καρδιαγγειακού θανάτου και νοσηλείας για καρδιακή ανεπάρκεια ήταν σημαντικά λιγότερο συχνό σε ασθενείς που τους χορηγήθηκε επλερενόνη (αναλογία κινδύνου 0,63 ή μείωση του σχετικού κινδύνου κατά 37%).

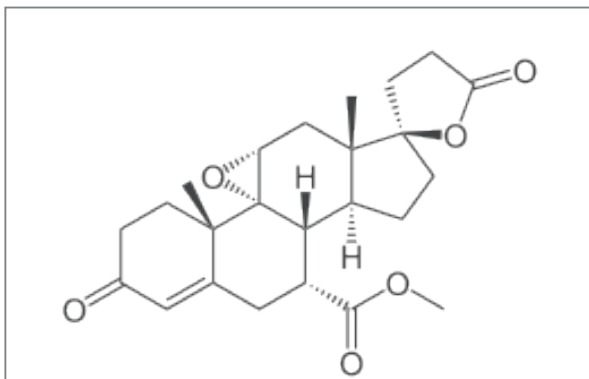
Σε μια άλλη μικρού μεγέθους έρευνα σε 44 ηλικιωμένους ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια και διατηρούμενη συστολική λειτουργία (κλάσμα εξώθησης > 45%) πραγματοποιήθηκε τυχαιοποίηση των ασθενών αυτών σε συμβατική θεραπεία με ή χωρίς επλερενόνη και επανεκτιμήθηκε η λειτουργικότητα της αριστερής κοιλίας με συμβατική ηχοκαρδιογραφία και απεικόνιση με ιστικό Doppler σε 6 και 12 μήνες⁹⁵. Σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με επλερενόνη, επήλθε βελτίωση της διαστολικής λειτουργίας, σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν συμβατική θεραπεία. Η παραπάνω βελτίωση σχετιζόταν με μια σημαντικά βραδύτερη αύξηση των επιπέδων προκολλαγόνου στο πλάσμα.

Τα αποτελέσματα των ερευνών δηλώνουν ένα πιθανό όφελος από τον αποκλεισμό υποδοχέων αλδοστερόνης σε αυτή την υποκατηγορία της καρδιακής ανεπάρκειας και χρήζουν περισσότερης διερεύνησης. Οι χρησιμοποιηθείσες δόσεις της επλερενόνης και της σπειρονολακτόνης (από 25 έως 50 mg/μέρα) δεν μειώνουν την αρτηριακή πίεση, κάτι που εμμέσως υποδηλώνει ότι οι καρδιοπροστατευτικές δράσεις των ανταγωνιστών αλδοστερόνης επισυμβαίνουν ανεξάρτητα από την πίεση του αίματος και συνακόλουθα ανεξάρτητα από το αιμοδυναμικό φορτίο της καρδιάς.

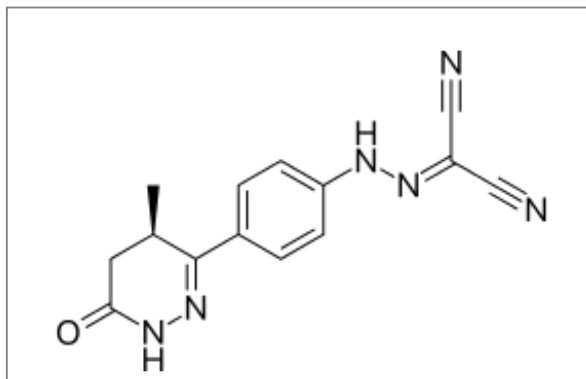
3. Οξεία Καρδιακή Ανεπάρκεια- Φαρμακευτική Αντιμετώπιση

3.1 Λεβοσιμεντάνη (Levosimendan)^{4,96-100}

Μία από τις στρατηγικές που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας (CHF) είναι η αύξηση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου, χωρίς αύξηση του μεταφορτίου. Τα θετικά ινότροπα είναι μια ομάδα φαρμάκων που επιτυγχάνουν τον διπλό αυτό στόχο με αύξηση της συσταλτικότητας και αγγειοδιαστολή. Αυτή η κατηγορία φαρμάκων περιλαμβάνει τη δοβουταμίνη (β-δρενεργικό αγωνιστή) και τη μιλρινόνη (αναστολέας



Σχήμα 5. Χημική δομή αλδοστερόνης



Σχήμα 6. Χημική δομή λεβοσιμεντάνης

της φωσφοδιεστεράσης III) οι οποίες αυξάνουν την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του ελεύθερου ασβεστίου. Ωστόσο, η δράση αυτή αυξάνει σημαντικά την μυοκαρδιακή κατανάλωση ενέργειας, η οποία συμβάλλει στον κίνδυνο πρόκλησης αρρυθμιών.

Η λεβοσιμεντάνη (Σχήμα 6) ανήκει σε μια νέα κατηγορία ινοτρόπων φαρμάκων, τους ευαισθητοποιητές ασβεστίου. Η λεβοσιμεντάνη έχει σήμερα άδεια χορήγησης σε 10 Ευρωπαϊκές χώρες για τη θεραπεία της οξείας καρδιακής ανεπάρκειας.

3.1.1 Μηχανισμός δράσης

Η λεβοσιμεντάνη είναι ένα παράγωγο πυριδαζίνης που φέρει ομάδα δινιτριλίου. Πρωταρχική δράση της είναι η ενίσχυση της καρδιακής συσταλτικότητας. Αυτό επιτυγχάνεται με ένα φαρμακολογικό μηχανισμό γνωστό ως ευαισθητοποίηση ασβεστίου. Δεν αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του ελεύθερου ασβεστίου. Ενώνεται με την καρδιακή τροπονίνη C με έναν εξαρτώμενο απ' το ασβέστιο τρόπο και σταθεροποιεί την τροπονίνη C. Αυτό προκαλεί διασταυρούμενες-γέφυρες ακτίνης-μυοσίνης, χωρίς αύξηση κατανάλωσης της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) από το μυοκάρδιο. Η καρδιακή συσταλτικότητα και απόδοση είναι σημαντικά βελτιωμένες χωρίς αύξηση των συνολικών ενεργειακών απαιτήσεων του μυοκαρδίου και της κατανάλωσης οξυγόνου. Η πιθανότητα αρρυθμίας είναι επίσης μειωμένη καθώς τα ενδοκυττάρια επίπεδα ασβεστίου δεν αυξάνονται. Ένα πρόσθετο όφελος είναι ότι το σταθεροποιητικό αποτέλεσμα είναι εξαρτώμενο από το ασβέστιο και η λεβοσιμεντάνη ασκεί τη δράση της κατά τη διάρ-

κεια της συστολής. Έτσι δεν επηρεάζεται η διάρκεια της διαστολής και άρα ούτε και η χαλάρωση της κοιλίας. Κατά συνέπεια, εξακολουθεί να υπάρχει επαρκής πλήρωση της κοιλίας και βέλτιστη στεφανιαία αιμάτωση. Η λεβοσιμεντάνη προκαλεί επί-σης φλεβική, αρτηριακή και στεφανιαία αγγειοδιαστολή, λόγω διάνοιξης των ATP-ευαίσθητων διαύλων καλίου στις λείες μυϊκές ίνες. Η λεβοσιμεντάνη είναι επίσης επωφελής για την ρύθμιση της πνευμονικής αγγειοσπασίας και της δυσλειτουργίας της δεξιάς κοιλίας και μειώνει την πνευμονική αγγειακή αντίσταση⁹⁸.

3.1.2 Φαρμακοκινητική

Η λεβοσιμεντάνη προσδένεται κατά 98% στις πρωτεΐνες του πλάσματος και μεταβολίζεται πλήρως πριν την απέκκριση. Περίπου το 5% της δόσης βιομετατρέπεται στο γαστρεντερικό σωλήνα, και στη συνέχεια σε ένα πολύ ενεργό μεταβολίτη με χρόνο ημίσειας ζωής 75-80 ώρες (σε σύγκριση με χρόνο ημίσειας ζωής 1 ώρα για την ίδια τη λεβοσιμεντάνη). Αυτός ο μεταβολίτης φθάνει σε μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα περίπου 2 ημέρες μετά τη λήξη της έγχυσης και έχει αιμοδυναμικές δράσεις παρόμοιες με της λεβοσιμεντάνης. Λόγω του μεγάλου χρόνου ημιζωής του ενεργού μεταβολίτη, οι δράσεις αυτές διαρκούν έως και 7 έως 9 ημέρες μετά τη διακοπή μιας 24-ωρης έγχυσης λεβοσιμεντάνης.

Αιμοδυναμική απόκριση γενικά παρατηρείται εντός 5 λεπτών από την έναρξη της έγχυσης της δόσης εφόδου. Η μέγιστη δράση παρατηρείται εντός 10 έως 30 λεπτών της έγχυσης. Η διάρκεια δράσης της λεβοσιμεντάνης είναι περίπου 75-78 ώρες μέχρι μία εβδομά-

3.1.3 Σύγκριση λεβοσιμεντάνης με μιλρινόνη και δοβουταμίνη: ¹⁰³

	Levosimendan	Milrinone	Dobutamine
Κατηγορία	Ευαισθητοποιητής διαύλων Ca	Αναστολέας φωσφοδιεστεράσης III	Κατεχολαμίνη (β-αδρεν. αγωνιστής)
Αύξηση ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca ²⁺	Όχι	Ναι	Ναι
Αγγειοδιαστολή	Στεφανιαία και συστηματική	Περιφερική	Ήπια περιφερική
Αύξηση απαιτήσεων μυοκαρδίου σε O ₂	Όχι	Όχι	Ναι
Πρόκληση αρρυθμιών	Σπάνια	Κοιλιακή και υπερκοιλιακή	Κοιλιακή έκτοπη (λιγότερο αρρυθμιο-γόνος από μιλρινόνη)
Ανεπιθύμητες ενέργειες	Πονοκέφαλος, Υπόταση	Κοιλιακές αρρυθμίες, Υπόταση, Πονοκέφαλος	Ταχυκαρδία, Αυξημένη συστολική αρτηριακή πίεση σε υπερδοσολογία

δα χάρη στους ενεργούς μεταβολίτες. Δεν απαιτούνται προσαρμογές της δοσολογίας σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια νεφρική και ηπατική ανεπάρκεια. Η αποτελεσματικότητα με μία εβδομάδα χορήγησης την κάνει ένα πολλά υποσχόμενο φάρμακο^{99,100}. Η λεβοσιμεντάνη απορροφάται πολύ καλά από το στόμα και *per os* παρασκευάσματα είναι τώρα διαθέσιμα^{101,102}.

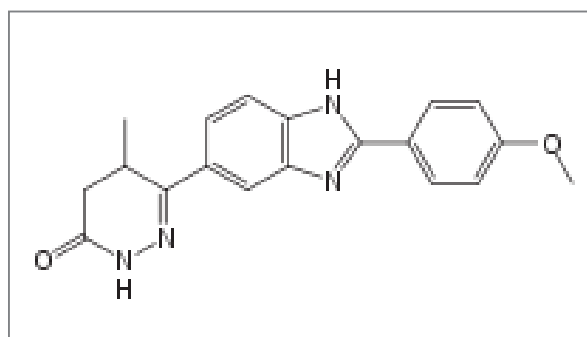
3.2 Πιμομπεντάνη (Pimobendan)¹⁰⁴⁻¹⁰⁷

Η πιμομπεντάνη (Σχήμα 7) ανήκει στην ίδια κατηγορία με την λεβοσιμεντάνη. Είναι ευαισθητοποιητής ασβεστίου με θετική ινότροπη δράση και αγγειοδιασταλτικά αποτελέσματα.

Επίσης, είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας της φωσφοδιεστεράσης III (PDE3). Χρησιμοποιείται για τη διαχείριση της καρδιακής ανεπάρκειας, που συνήθως προκαλείται από ενδοκαρδίτιδα ή διασταλτική μυοκαρδιοπάθεια.

3.2.2 Μηχανισμός δράσης

Η πιμομπεντάνη είναι ένα θετικό ινότροπο. Ευαισθητοποιεί και αυξάνει την αποτελεσματικότητα πρόσδεσης των καρδιακών μυικών ινών με τα ιόντα ασβεστίου που είναι ήδη παρόντα χωρίς να αυξάνει την κατανάλωση οξυγόνου και ενέργειας. Επίσης προκαλεί περιφερική αγγειοδιαστολή αναστέλλοντας τη λειτουργία της φωσφοδιεστεράσης III. Αυτό έχει ως



Σχήμα 7. Χημική δομή πιμομπεντάνης

αποτέλεσμα τη μείωση της πίεσης, που μεταφράζεται σε μικρότερο καρδιακό προφορτίο και μεταφορτίο.

3.2.3 Φαρμακοκινητική

Η πιμομπεντάνη απορροφάται γρήγορα όταν χορηγείται από το στόμα και έχει βιοδιαθεσιμότητα 60-65%. Μεταβολίζεται στην ενεργό της μορφή στο ήπαρ. Ο χρόνος ημίσειας ζωής στο αίμα είναι 0,4 ώρες και ο χρόνος ημίσειας ζωής των μεταβολιτών της είναι 2 ώρες. Η αποβολή γίνεται μέσω απέκκρισης από την χολή και στη συνέχεια με τα κόπρανα. Προσδένεται κατά 90-95% με τις πρωτεΐνες του πλάσματος στην κυκλοφορία. Αυτό έχει επιπτώσεις στους ασθενείς που πάσχουν από υπολευκωματιναιμία.

3.2.5 Συνδυασμοί

Η πιμομπεντάνη χρησιμοποιείται συχνά σε συνδυασμό με άλλα τρία φάρμακα για να μετριάσουν τα κλινικά συμπτώματα της νόσου. Αυτά είναι:

- Φουροσεμίδιο, ένα διουρητικό, για τη μείωση του πνευμονικού οιδήματος.
- Σπειρονολακτόνη, ένας ανταγωνιστής της αλδοστερόνης.
- Ένας α-MEA, συχνά εναλαπρίλη ή βεναζεπρίλη.

3.3 Νεσιριτίδη (Nesiritide)¹⁰⁸⁻¹¹¹

Η νεσιριτίδη ενδείκνυται για την ενδοφλέβια θεραπεία των ασθενών με οξεία μη αντιρροπούμενη συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια που έχουν δύσπνοια σε κατάσταση ηρεμίας ή με ελάχιστη δραστηριότητα. Σε αυτό τον πληθυσμό, η χρήση νεσιριτίδης προκαλεί μείωση της πίεσης ενσφήνωσης των πνευμονικών τριχοειδών και βελτίωση της δύσπνοιας.

Είναι ένα στείρο, καθαρό παρασκεύασμα μίας νέας τάξης φαρμάκων, του Β-νατριουρητικού πεπτιδίου (h-BNP) και κατασκευάζεται από το E.Coli με τη χρήση της τεχνολογίας του ανασυνδιασμένου DNA. Η Νεσιριτίδη έχει M.B. 3464 g/mol και χημικό τύπο: C143H244N50O42S4. Έχει την ίδια αμινοξική αλληλουχία με το ενδογενές πεπτίδιο, που παράγεται από το κοιλιακό μυοκάρδιο και περιλαμβάνει 32 αμινοξέα (Σχήμα 8).

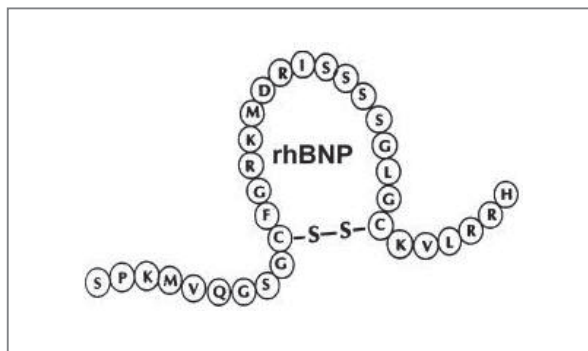
Το Natrecor κυκλοφορεί ως το κιτρικό άλας του ανασυνδυασμένου rhBNP, και παρέχεται σε ένα αποστειρωμένο, μίας χρήσης φιαλίδιο.

3.3.2 Μηχανισμός δράσης

Το hBNP συνδέεται στον υποδοχέα γουανυλικής κυκλάσης του αγγειακού λείου μυ και των επιθηλιακών κυττάρων, οδηγώντας σε αυξημένες ενδοκυττάριας συγκεντρώσεις cGMP και σε χαλάρωση του λείου μυός. Το κυκλικό GMP προκαλεί διαστολή φλεβών και αρτηριών. Η νεσιριτίδη έχει αποδειχθεί ότι στον άνθρωπο χαλαρώνει αρτηριακούς και φλεβικούς ιστούς. Επίσης έχει δείξει ότι προκαλεί δοσοεξαρτώμενες μειώσεις στην πίεση ενσφήνωσης πνευμονικών τριχοειδών (PCWP) και στην συστηματική αρτηριακή πίεση σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια.

3.3.3 Φαρμακοκινητική

Ο μέσος χρόνος ημιζωής είναι περίπου 18 λεπτά, ενώ



Σχήμα 8. Ανασυνδυασμένο h-BNP (rhBNP)

η μέση αρχική φάση απομάκρυνσης εκτιμάται σε περίπου 2 λεπτά.

Το hBNP απομακρύνεται από την κυκλοφορία με 3 ανεξάρτητους μηχανισμούς: Πρόσδεση στους υποδοχείς κάθαρσης της κυτταρικής επιφάνειας με επακόλουθη κυτταρική εσωτερικοποίηση και λυσοσωμική πρωτεόλυση, πρωτεολυτική διάσπαση του πεπτιδίου από ενδοπεπτιδάσες, που βρίσκονται στην επιφάνεια των αγγείων του αυλού, και τέλος νεφρική διήθηση.

3.3.4 Κλινικές μελέτες

Η κλινική δοκιμή VMAC (Vasodilatation in the Management of Acute CHF)¹¹⁰, ήταν μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή μελέτη 489 ασθενών που απαιτούσαν νοσηλεία λόγω μη αντιρροπούμενης οξείας ΚΑ. Η μελέτη συνέκρινε τα αποτελέσματα των Natrecor, placebo και iv νιτρογλυκερίνης όταν προστίθενται στην βασική θεραπεία. Οι ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, διατηρημένη συστολική λειτουργία, αρρυθμία και νεφρική ανεπάρκεια δεν εξαιρέθηκαν. Τα κύρια τελικά σημεία της μελέτης που ήταν η αλλαγή από την αρχική τιμή PCWP και η μεταβολή από την αρχική τιμή της δύσπνοιας των ασθενών, αξιολογήθηκαν μετά από τρεις ώρες. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε επίσης στην εμφάνιση και επιμονή της υπότασης, δεδομένης της σχετικά μεγάλης διάρκειας (σε σύγκριση με νιτρογλυκερίνη) των PK και PD χρόνων ημίσειας ζωής της νεσιριτίδης.

Οι ασθενείς που έλαβαν Natrecor ανέφεραν μεγαλύτερη βελτίωση στη δύσπνοιά τους σε 3 ώρες, σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν placebo.

Η PCWP, η πίεση δεξιού κόλπου (RAP), CI, καθώς

και άλλες μεταβλητές παρακολουθήθηκαν σε 246 από τους ασθενείς. Υπήρξε μείωση της μέσης PCWP εντός 15 λεπτών από την έναρξη της έγχυσης του Natrecor, με το μεγαλύτερο μέρος του αποτελέσματος που παρατηρείται στις 3 ώρες να επιτυγχάνεται μέσα στα πρώτα 60 λεπτά της έγχυσης.

3.3.5 Αντενδείξεις¹¹¹

Το Natrecor αντενδείκνυται σε ασθενείς που είναι υπερευαίσθητοι σε κάποιο από τα συστατικά του. Δεν πρέπει να χρησιμοποιείται ως κύρια θεραπεία για ασθενείς με καρδιογενές σοκ ή σε ασθενείς με συστολική αρτηριακή πίεση <90 mm Hg.

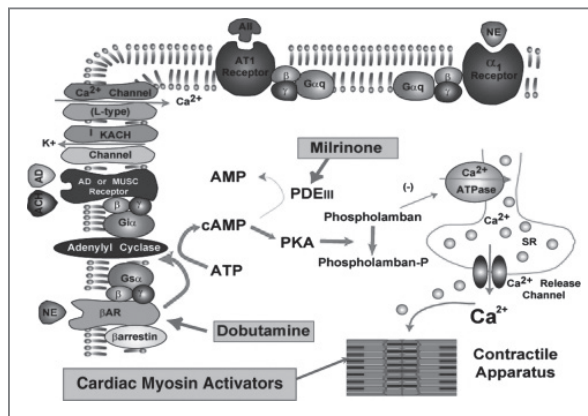
Η χορήγηση πρέπει να αποφεύγεται σε ασθενείς με χαμηλή καρδιακή πίεση πλήρωσης.

3.4 Ενεργοποιητές καρδιακής μυοσίνης¹¹²

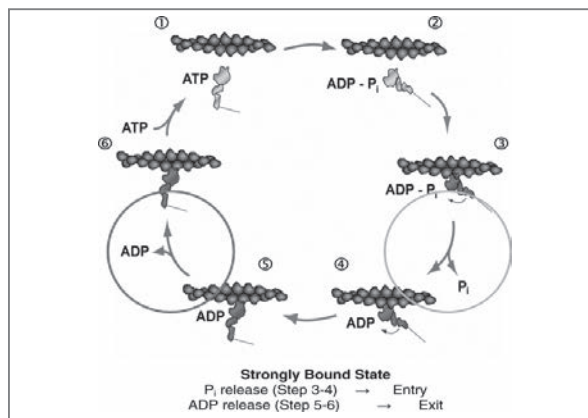
3.4.1 Καρδιακή μυοσίνη

Η καρδιακή μυοσίνη είναι η πρωτεΐνη του κυτταροσκελετικού κινητήρα στα κύτταρα του καρδιακού μυ που είναι άμεσα υπεύθυνη για τη μετατροπή της χημικής ενέργειας σε μηχανική ισχύ με αποτέλεσμα την καρδιακή συστολή. Η καρδιακή συσταλτικότητα προέρχεται από το καρδιακό σαρκομερίδιο, μία ιδιαίτερα διατεταγμένη κυτταροσκελετική δομή που αποτελείται από καρδιακή μυοσίνη, ακτίνη και μια σειρά από ρυθμιστικές πρωτεΐνες, και είναι η θεμελιώδης μονάδα της σύσπασης των μυών της καρδιάς (Σχήματα 9, 10).

Έρευνες έχουν εστιαστεί στην ανακάλυψη και ανάπτυξη μικρομοριακών ενεργοποιητών καρδιακής μυοσίνης προκειμένου να δημιουργηθεί η επόμενη γενιά θεραπειών για τη διαχείριση της οξείας και χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας. Η έρευνα βασίζεται στην υπόθεση ότι οι ενεργοποιητές της καρδιακής μυοσίνης μπορούν να φέρουν τα αποτελέσματα των υπάρχοντων θετικών ινοτρόπων παραγόντων όσον αφορά την αύξηση της καρδιακής συσταλτικότητας, χωρίς όμως αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου¹¹³. Οι παραδοσιακοί ινότροποι παράγοντες που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της οξείας αντιρροπούμενης καρδιακής ανεπάρκειας, όπως οι αγωνιστές β-αδρενεργικών υποδοχέων ή οι αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης, αυξάνουν την καρδιακή συσταλτικότητα με την αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυττάριου ασβεστίου, το οποίο ενεργοποιεί πε-



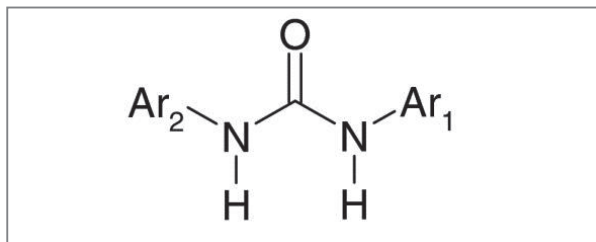
Σχήμα 9. Σχηματική απεικόνιση καρδιομυοκυττάρου και οδών σηματοδότησης



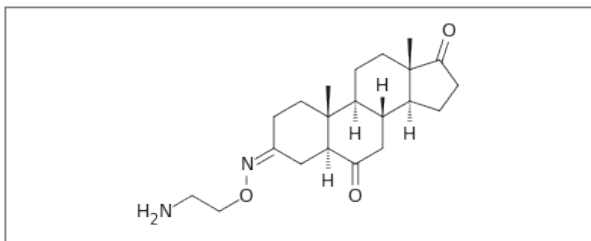
Σχήμα 10. Κύκλος ακτίνης-μυοσίνης

ραιτέρω το καρδιακό σαρκομερίδιο. Αυτή η επίδραση στα επίπεδα ασβεστίου όμως έχει συνδεθεί με δυνητικά απειλητικές για τη ζωή ανεπιθύμητες ενέργειες.

Ο μηχανισμός των σημερινών ινότροπων φαρμάκων αυξάνει την ταχύτητα της καρδιακής συστολής και μειώνει τον συστολικό χρόνο εξώθησης. Σε αντίθεση, οι ενεργοποιητές καρδιακής μυοσίνης έχει αποδειχθεί ότι λειτουργούν απουσία αλλαγών του ενδοκυτταρικού ασβεστίου με ένα νέο μηχανισμό που διεγείρει άμεσα τη δραστηριότητα της πρωτεΐνης-κινητήρα δηλ. της καρδιακής μυοσίνης. Οι ενεργοποιητές καρδιακής μυοσίνης επιταχύνουν το περιοριστικό βήμα του ρυθμού στον ενζυματικό κύκλο μυοσίνης και μεταφέρουν τον ενζυματικό κύκλο υπέρ της κατάστασης κατά την οποία παράγεται δύναμη. Αυτός ο μηχανισμός δράσης δεν έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ταχύτητας της



Σχήμα 11. Χημική δομή CK-1827452



Σχήμα 12. Χημική δομή ισταροξίμης

καρδιακής συστολής, αλλά αντ' αυτού, την επιμήκυνση του χρόνου της συστολικής εξώθησης, η οποία οδηγεί σε αύξηση της καρδιακής συσταλτικότητας και της καρδιακής παροχής.

3.4.2 CK-1827452 (Omeamtiv Mecarbil)¹¹⁴.

Ο παράγων CK-1827452 (Σχήμα 11) αυξάνει την δραστηριότητα της ΑΤΡάσης της καρδιακής μυοσίνης με ένα δοσοεξαρτώμενο τρόπο που είναι εκλεκτικός για την καρδιακή μυοσίνη και είναι ανεξάρτητος από τις σαρκομεριδιακές ρυθμιστικές πρωτεΐνες.

Ο παράγων CK-1827452 επιταχύνει την παραγωγική ελευθέρωση φωσφόρου (ακτινο-εξαρτώμενη απελευθέρωση P_i), αυξάνοντας τη μετάβαση από την αδύναμη στην ισχυρή δεσμευτική κατάσταση, ενώ αναστέλλεται η μη παραγωγική ελευθέρωση φωσφόρου (ακτινο-ανεξάρτητη απελευθέρωση P_i), μειώνοντας έτσι τη «σπατάλη» υδρόλυσης του ΑΤΡ. Σε κυτταρικά παρασκευάσματα αυτή η ένωση αύξησε σημαντικά την καρδιομυοκυτταρική συστολή με μια σχετική αύξηση στον χρόνο μέγιστης συστολής, υποδηλώνοντας μία αυξημένη διάρκεια συστολής. Το εύρημα αυτό είναι ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτών των παραγόντων, όπου η ταχύτητα συστολής είναι σε μεγάλο βαθμό αμετάβλητη, αλλά ο χρόνος συστολής αυξάνεται. Παρά τις αυξήσεις της συσταλτικότητας, δεν υπάρχουν παροδικές αλλαγές στο

ασβέστιο. Όλες οι μελέτες επιβεβαίωσαν τον μηχανισμό δράσης του CK-1827452 ως ειδικό ενεργοποιητή καρδιακής μυοσίνης, και μελέτες σε ζώα έδειξαν πιθανή κλινική αποτελεσματικότητά του.

3.5 Ισταροξίμη (Istaroxime)^{115,116}

Η ισταροξίμη (Σχήμα 12) είναι ένας ενδοφλέβια χορηγούμενος αναστολέας της αντλίας Na/K ΑΤΡάσης με ινότροπες και καρδιοδιασταλτικές ιδιότητες και αυξάνει την δραστηριότητα της Ca-ΑΤΡ ισομορφής 2^α (SERCA 2α) του ενδοπλασματικού δικτύου.

Αποδεικτικά στοιχεία για το ότι η βελτίωση της δραστηριότητας της SERCA 2α μπορεί να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική στρατηγική για την οξεία καρδιακή ανεπάρκεια προέρχονται από θετικά αποτελέσματα σε ζωικά μοντέλα είτε με υπερέκφραση της SERCA 2α ή με μείωση της δραστηριότητας της φωσφολαμβάνης, μιας 52 αμινοξέων δι-αμεμβρανικής πρωτεΐνης, που ρυθμίζει την αντλία Ca^{2+} στο καρδιακό μυ και στους σκελετικούς μυς. Τα αποτελέσματα του φαρμάκου στην αναστολή της αντλίας Na^+/K^+ είναι πιο έντονα από εκείνα της διγοξίνης. Σε ένα μοντέλο σκύλου με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, η ισταροξίμη μείωσε τους τελοδιαστολικούς και τελοσυστολικούς όγκους της αριστερής κοιλίας και αύξησε σημαντικά το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας με δοσοεξαρτώμενο τρόπο, χωρίς αύξηση της κατανάλωσης οξυγόνου του μυοκαρδίου.

Η HORIZON-HF, μια τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη δοκιμή, αξιολόγησε τις βραχυπρόθεσμες επιπτώσεις της ισταροξίμης σε νοσηλευόμενους ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια και κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας $\leq 35\%$ για να ελεγχθεί η υπόθεση ότι η ισταροξίμη βελτιώνει τη διαστολική δυσκαμψία στο σύνδρομο της οξείας καρδιακής ανεπάρκειας¹¹⁵. Σε σύγκριση με τους λήπτες placebo, οι ασθενείς που έλαβαν ισταροξίμη είχαν μια στατιστικά σημαντική μείωση της πνευμονικής πίεσης ενσφύνωσης, μείωση του διαστολικού όγκου αριστερής κοιλίας και αύξηση του καρδιακού δείκτη.

Με βάση προηγούμενες μελέτες σε ζώα και την ανωτέρω κλινική δοκιμή, υπάρχει ελπίδα ότι μπορεί η ισταροξίμη να αντιπροσωπεύει μια νέα, ασφαλή βραχυχρόνια ινότροπη θεραπεία της ΟΚΑ. Σε αντίθεση με τη δοβουταμίνη ή τη μιλρινόνη, μειώνει τον

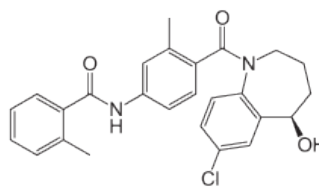
καρδιακό ρυθμό, μειώνει το διάστημα QTc, και δεν έχει αποδείξει προαρρυθμικές επιδράσεις. Μπορεί να μειώσει έντονα την πίεση πλήρωσης και, σε υψηλότερες δόσεις, βελτιώνει τόσο την καρδιακή παροχή όσο και την ενίσχυση της φάσης της καρδιακής διαστολής.

Είναι σαφές ότι για τους ασθενείς με οξεία συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια η ινóτροπη θεραπεία είναι η πλέον κατάλληλη για ένα μικρό υποσύνολο των ασθενών με ραγδαία αιμοδυναμική επιδείνωση και προοδευτική τελο-οργανική δυσλειτουργία (ιδιαίτερα, καρδιονεφρικού συνδρόμου). Υπάρχει ελπίδα ότι η ισταροξίμη μπορεί να αποδειχθεί ασφαλέστερη και πιο αποτελεσματική σε σχέση με τους σημερινούς θετικούς ινóτροπους παράγοντες σε αυτό το δύσκολο πληθυσμό με καρδιακή ανεπάρκεια. Με συνεχιζόμενες κλινικές μελέτες θα διαπιστωθεί αν το φάρμακο τελικά ανταποκρίνεται στην αρχική θεραπευτική υπόσχεσή του.

3.6 Βαπτάνες (ανταγωνιστές V2 υποδοχέων βαζοπρεσίνης)¹¹⁷⁻¹²⁰

Η AVP (Arginine vasopressin) ή αντιδιουρητική ορμόνη (ADH) είναι μια νευροϋποφυσιακή πεπτιδική ορμόνη που συντίθεται στον υπεροπτικό και παρακοιλιακό πυρήνα στον υποθάλαμο και απελευθερώνεται από τον οπίσθιο λοβό της υπόφυσης, κυρίως για τη διατήρηση της οσμωτικότητας του πλάσματος μέσω της νεφρικής ρύθμισης των υγρών. Η AVP επιδρά σε τρεις διαφορετικούς υποδοχείς: στον υποδοχέα V1A που βρίσκεται στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα όπου μεσολαβεί στην συστολή των αγγείων, στους V2 υποδοχείς που βρίσκονται κυρίως στα νεφρικά σωληνάρια συλλογής όπου μεσολαβούν στην επαναπορρόφηση υγρών, και στους V1B ή V3 υποδοχείς που βρίσκονται στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης και μεσολαβούν στην απελευθέρωση αδρενοκορτικοτροπίνης.

Όπως ήταν αναμενόμενο, ο ρόλος της ρύθμισης των υγρών οφείλεται κυρίως στα αποτελέσματα της δράσης στον υποδοχέα V2. Η επαγωγή του ενδοκυττάριου κυκλικού AMP ενεργοποιεί την διακίνηση των ακουαπορινών από τα ενδοκυτταρικά κυστίδια στις πλασματικές μεμβράνες των κυττάρων των αγωγών συλλογής στους νεφρώνες. Οι διαδικασίες αυτές επιτρέπουν στο νερό να απορροφηθεί, με



Σχήμα 13. Χημική δομή τολβαπτάνης

αποτέλεσμα την άμεση κατακράτησή του. Φυσικά, ο ανταγωνισμός των υποδοχέων V2 βαζοπρεσίνης θα επηρεάσει άμεσα αυτό το μονοπάτι του νερού ανεξάρτητα από την επαναρρόφηση ηλεκτρολυτών μεταφοράς, οδηγώντας έτσι σε απομάκρυνση του νερού (διούρηση).

Το 50% των ασθενών με προχωρημένη καρδιακή ανεπάρκεια έχουν αυξημένα επίπεδα βαζοπρεσίνης. Η επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας είναι αρκετά συνηθισμένη στην οξεία μη αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια, που εμφανίζεται περίπου στο 30% των ασθενών και σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα. Ειδικότερα, οι υψηλότερες δόσεις διουρητικών (συχνά μέσω της ενδοφλέβιας οδού) που χορηγούνται κατά την θεραπεία της οξείας καρδιακής ανεπάρκειας, θέτουν τον ασθενή σε κίνδυνο επιδείνωσης της νεφρικής λειτουργίας. Κατωτέρω περιγράφονται η τολβαπτάνη και η κονβαπτάνη, ανταγωνιστές των υποδοχέων της AVP.

3.6.1 Τολβαπτάνη (Tolvaptan)¹¹⁸⁻¹²¹

Η τολβαπτάνη, χορηγούμενη από το στόμα, μία φορά την ημέρα, είναι ένας ανταγωνιστής των V2 υποδοχέων. Είναι η πρώτη ένωση αυτής της κατηγορίας που αναπτύχθηκε (Σχήμα 13).

Οι μελέτες EVEREST¹¹⁸ εξέτασαν το όφελος του tolvaptan, όταν χορηγείται μία φορά την ημέρα (30 mg έναντι του placebo) σε 3 κλινικές δοκιμές: 2 βραχυπρόθεσμες μελέτες και μια πιο μακροπρόθεσμη δοκιμή ασφάλειας και έκβασης. Ένα σύνολο 4133 ασθενών με οξεία συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια τυχαιοποιήθηκαν σε μακροπρόθεσμη μελέτη, και με βάση έναν αλγόριθμο, περίπου 2000 ασθενείς αποτέλεσαν τις ομάδες για κάθε μια από τις 2 βραχυπρόθεσμες μελέτες. Η πρωταρχική μέτρηση έκβασης των βραχυπρόθεσμων δοκιμών ήταν η αλλαγή της

γενικής κλινικής κατάστασης και του σωματικού βάρους σε 7 ημέρες ή την ημέρα του εξιτηρίου. Η πρωταρχική μέτρηση έκβασης των πιο μακροπρόθεσμων δοκιμών ήταν η θνησιμότητα.

Οι βραχυπρόθεσμες δοκιμές έδειξαν μεγαλύτερη βελτίωση με την τολβαπτάνη σε σχέση με το placebo. Αυτό οφειλόταν σε μεγάλο βαθμό στην αλλαγή του σωματικού βάρους, καθώς η κλινική εικόνα δεν ήταν διαφορετική κατά την ημέρα 7. Δευτερεύοντα τελικά σημεία αποκάλυψαν μέτριες βελτιώσεις στη δύσπνοια και το οίδημα. Η μακροπρόθεσμη μελέτη δεν έδειξε μείωση του κινδύνου θανάτου και καμία σημαντική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας. Η υπονατρία, όταν υπήρχε, βελτιώθηκε. Στο σύνολό τους, τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν κάποια βραχυπρόθεσμα οφέλη του tolvaptan σε ορισμένα συμπτώματα της οξείας καρδιακής ανεπάρκειας και αντιπροσωπεύουν μια σημαντική συμβολή για την κατανόηση της διαχείρισης των ασθενών με ADHF.

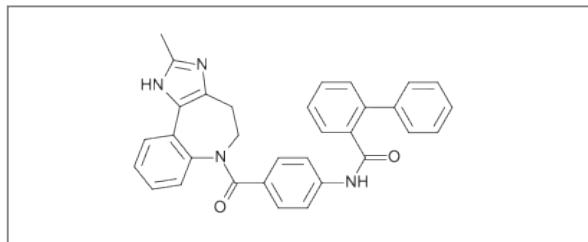
3.6.1.1 Σύγκριση με φουροσεμίδιο

Οι νεφρικές επιδράσεις της τολβαπτάνης σε σύγκριση με το φουροσεμίδιο μελετήθηκαν σε μια μικρή ανοικτή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με placebo διασταυρούμενη μελέτη σε 14 ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια. Όπως ήταν αναμενόμενο, η χορήγηση τολβαπτάνης σχετίστηκε με διούρηση χωρίς αύξηση της απέκκρισης νατρίου και καλίου. Το tolvaptan αύξησε επίσης τη νεφρική αιματική ροή, ενώ το φουροσεμίδιο οδήγησε σε μειωμένη νεφρική ροή του αίματος σε σύγκριση με το placebo¹²².

Ως εκ τούτου, η απέκκριση νερού και η διατήρηση της νεφρικής αιματικής ροής κάνουν τους αποκλειστές των υποδοχέων βαζοπρεσίνης ελκυστικούς για τη θεραπεία των ασθενών με οξεία καρδιακή ανεπάρκεια. Προηγούμενες μικρής κλίμακας μελέτες έδειξαν μείωση της κυκλοφοριακής συμφόρησης, μείωση του σωματικού βάρους, και διόρθωση της υπονατρίαμίας με εκλεκτική αναστολή των AVP V2 υποδοχέων.

3.6.1.2 Συγχορήγηση

Η τολβαπτάνη μεταβολίζεται κυρίως από την οδό του CYP3A4, οπότε η συγχορήγηση ανταγωνιστών διαύλων ασβεστίου, μακρολιδίων, ή αζολικών παραγών μπορεί να απαιτήσουν ρύθμιση της δόσης. Η



Σχήμα 14. Χημική δομή κονιβαπτάνης

συγχορήγηση με κετοконаζόλη, έναν ισχυρό αναστολέα του CYP3A4, αυξάνει τη μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα της τολβαπτάνης περίπου πεντε φορές, ενώ συγχορήγηση με ριφαμπικίνη, η οποία επάγει το CYP3A4, μειώνει τη μέγιστη συγκέντρωση της τολβαπτάνης κατά 85%¹²³. Ωστόσο, φαίνεται να μην υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ τολβαπτάνης και αμιωδαρόνης¹²⁴. Πρόσθετες μελέτες χρειάζονται για να αξιολογηθεί καλύτερα το επίπεδο των πιθανών αλληλεπιδράσεων φαρμάκων με την τολβαπτάνη.

3.6.2 Κονιβαπτάνη (Conivaptan)¹²⁵⁻¹²⁷

Η κονιβαπτάνη (Vaprisol®), είναι ένας ενδοφλέβια χορηγούμενος διπλός ανταγωνιστής των V1A / V2 υποδοχέων για την αύξηση της διούρησης χωρίς αυξημένη απέκκριση νατρίου, και είναι ο μοναδικός ανταγωνιστής των υποδοχέων βαζοπρεσίνης που έχει ήδη εγκριθεί από το FDA για χρήση στις ΗΠΑ (Σχήμα 14).

Σε μια διπλή τυφλή, πολυκεντρική μελέτη¹²⁵, 170 ασθενείς που είχαν νοσηλευτεί για επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας με καθιερωμένη θεραπεία τυχαιοποιήθηκαν σε θεραπεία με κονιβαπτάνη (20-mg δόσης ακολουθούμενη από 2 διαδοχικές 24-ώρες συνεχείς εγχύσεις των 40, 80, ή 120 mg /day) ή placebo. Δεν υπήρξε καμία ένδειξη επιδείνωσης της καρδιακής ανεπάρκειας σε οποιαδήποτε ομάδα. Η κονιβαπτάνη σε κάθε δόση αύξησε την παραγωγή ούρων πολύ περισσότερο από το placebo σε 24 ώρες, με διαφορά κατά μέσο όρο 1,0 - 1,5 L. Μειώσεις στο μέσο του σωματικού βάρους (1-2 kg) με χορήγηση κονιβαπτάνης 40 και 80 mg/day συσχετίστηκαν με την αύξηση της παραγωγής ούρων, αλλά δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Η κονιβαπτάνη ήταν καλά ανεκτή και δεν συνδέθηκε με κλινικά σημαντικές μεταβολές στα ζωτικά σημεία, ηλεκτρολυτικές διαταραχές, ή διαταραχές καρδιακού ρυθμού. Η κονιβαπτάνη

μεταβολίζεται από το κυτόχρωμα P450 3A4(CYP3A4), είναι ωστόσο και η ίδια ένας ισχυρός αναστολέας του CYP3A4. Ως εκ τούτου, η κονιβαπτάνη τείνει να αυξάνει τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα των συγχωρηγούμενων ουσιών που πρωτίστως μεταβολίζονται από το CYP3A4. Όταν μελετήθηκε σε *per os* μορφή, έδειξε πολλαπλές αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα, περιορίζοντας την έγκριση FDA μόνο σε ενδοφλέβια χρήση¹²⁸.

Άλλοι ανταγωνιστές των V2 υποδοχέων, η λιξιβαπτάνη (lixivaptan) (που αναπτύχθηκε από την CardioKline, Inc) και η σαταβαπτάνη (satavaptan) (που αναπτύχθηκε από την Sanofi Aventis), υποβάλλονται σε όψιμη φάση κλινικών δοκιμών¹²⁹.

3.7 Αδρενομεντουλίνη (Adrenomedullin, AM) σε συνδυασμό με hANP (Human Atrial Natriuretic Peptide)¹³⁰

Η Αδρενομεντουλίνη (AM), ένα ισχυρό αγγειοδιασταλτικό πεπτίδιο, αρχικά απομονώθηκε από το ανθρώπινο φαιοχρωμοκύτωμα. Μετά από έγχυση προκαλεί αγγειοδιαστολή, διούρηση και νατριούρηση. Η αγγειοδιασταλτική δράση της AM διαμεσολαβείται από cAMP και NO/ cGMP - εξαρτώμενους μηχανισμούς. Η AM αυξάνει το cAMP ενεργοποιώντας έτσι την πρωτεϊνική κινάση A, με αποτέλεσμα την μείωση της περιεκτικότητας σε ασβέστιο. Η αγγειοδιαστολή και η νατριούρηση είναι NO- και cGMP-εξαρτώμενες καθώς ο E-4021, ένας cGMP εκλεκτικός αναστολέας φωσφοδιεστεράσης, αναστέλλει αυτές τις δράσεις. Επίσης, η AM αυξάνει την καρδιακή παροχή και την συσταλτικότητα της αριστερής κοιλίας *in vivo* και ασκεί άμεση ινότροπη δράση *in vitro*.

Έχει αποδειχθεί ότι τα επίπεδα AM στο πλάσμα είναι αυξημένα σε ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια. Τα επίπεδα του AM πεπτιδίου έχουν επίσης αποδειχθεί ότι είναι αυξημένα στην καρδιά, τους νεφρούς και τους πνεύμονες αρουραίων με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια. Έτσι, η AM παίζει ρόλο στη ρύθμιση του όγκου και της ομοιοστατικής πίεσης στη συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια ως παρακρινής και/ή αυτοκρινής παράγοντας, και ως κυκλοφοριακή ορμόνη. Επιπλέον, έχει αναφερθεί η ευεργετική αιμοδυναμική και νεφρική επίδραση της έγχυσης AM σε ζώα με σύνδρομο καρδιακής ανεπάρκειας (ΣΚΑ). Στους ανθρώπους, συστηματικά χορη-

γούμενη έχει δείχθει ότι μειώνει τη μέση αρτηριακή πίεση (MAP) σημαντικά σε υγιείς εθελοντές, χωρίς δυσμενείς επιπτώσεις. Έχει αποδειχθεί ότι βραχυπρόθεσμη έγχυση AM αυξάνει τον καρδιακό δείκτη (CI) και μειώνει τη μέση πνευμονική αρτηριακή πίεση (MPA) μόνο σε ασθενείς με χρόνια σταθερή καρδιακή ανεπάρκεια.

Σε σύγκριση με το ανθρώπινο κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο (hANP), η AM είναι πιο ισχυρή στη μείωση της αγγειακής αντίστασης και την ενίσχυση της καρδιακής παροχής, και λιγότερο ισχυρή στη διούρηση και στη νατριούρηση. Η έγχυση του hANP προς το παρόν χρησιμοποιείται ως θεραπεία για την οξεία μη αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια (ADHF) στην Ιαπωνία. Ωστόσο, μερικοί από τους ασθενείς με ADHF είναι ανθεκτικοί στην hANP μονοθεραπεία. Έτσι, ερευνάται εάν μια AM + ANP θεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικό σχήμα στην οξεία συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια. Ωστόσο, δεν είναι γνωστό εάν η μακροχρόνια AM + ANP έγχυση στην ADHF είναι ευεργετική ή όχι.

Σε μια κλινική δοκιμή¹³⁰ μελετήθηκαν επτά ασθενείς με οξεία καρδιακή ανεπάρκεια (74 ± 5 ετών) με δύσπνοια και πνευμονική συμφόρηση. AM ($0,02 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) και hANP ($0,05 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) εγχυόταν για 12 ώρες και στη συνέχεια hANP ($0,05 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) εγχυόταν για 12 ώρες. Αξιολογήθηκε η αιμοδυναμική, νεφρική, ορμονική ανταπόκριση καθώς και η ανταπόκριση στο οξειδωτικό στρες. Το θεραπευτικό σχήμα AM + hANP μείωσε σημαντικά τη μέση αρτηριακή πίεση, τη πνευμονική αρτηριακή πίεση και τη συστηματική και πνευμονική αγγειακή αντίσταση, χωρίς αλλαγή του καρδιακού ρυθμού, και αύξησε την καρδιακή παροχή, για τα περισσότερα χρονικά σημεία σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές. Επιπλέον, ο συνδυασμός AM + hANP μείωσε την αλδοστερόνη και τις ελεύθερες ρίζες σε σύγκριση με τα δεδομένα κατά την έναρξη. Τέλος, προκλήθηκε αύξηση του όγκου των ούρων και του UNaV σε σύγκριση με τα δεδομένα έναρξης.

Σε αυτή τη μικρή, πιλοτική μελέτη, η AM + hANP θεραπεία είχε θετικές αιμοδυναμικές και ορμονικές επιδράσεις στην ADHF. Ενδοφλέβια έγχυση με AM και hANP θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικό φάρμακο στην ADHF. Τα δεδομένα αυτά βέ-

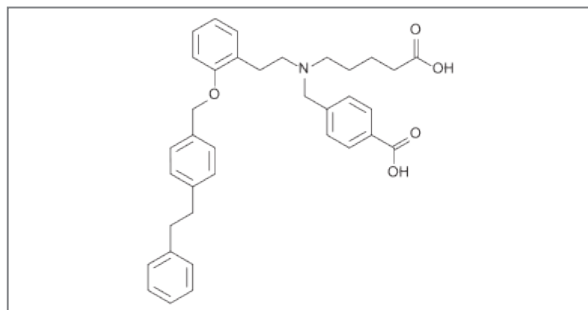
βια είναι προκαταρκτικά και απαιτούν επιβεβαίωση σε μια μεγαλύτερη κλινική μελέτη.

3.8 Cinaciguat (ενεργοποιητής διαλυτής γουανιλικής κυκλάσης)¹³¹

Η οδός μονοξειδίου του αζώτου (NO) / διαλυτής γουανιλικής κυκλάσης (SGC) / 3', 5'-μονοφωσφορικής κυκλικής γουανοσίνης (cGMP), διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του καρδιαγγειακού συστήματος προκαλώντας αγγειοδιαστολή και αναστέλλοντας τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Το NO/ SGC / cGMP μονοπάτι διακόπτεται στους ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια με αποτέλεσμα τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO και την αύξηση των NO-ανεπηρέαστων μορφών της SGC, με αποτέλεσμα την ανεπαρκή αγγειοδιαστολή. Φάρμακα που ενεργοποιούν την SGC με NO-ανεξάρτητο τρόπο μπορεί να παρέχουν σημαντικά θεραπευτικά πλεονεκτήματα στη θεραπεία αυτών των ασθενών.

Το Cinaciguat (BAY-58-2667) (Σχήμα 15), που βρίσκεται επί του παρόντος σε εξέλιξη από την Bayer AG, κατά προτίμηση ενεργοποιεί την SGC στην οξειδωμένη ή την ελεύθερη από την προσθετική ομάδα της αίμης κατάσταση¹³³.

Το Cinaciguat παρουσιάζει ισχυρή αγγειοδιασταλτική και αντιαιμοπεταλιακή δράση, μια μακροχρόνια αντιυπερτασική δράση και αιμο-δυναμικό προφίλ παρόμοιο με εκείνο των νιτρικών αλάτων. Σε κλινικές δοκιμές σε ασθενείς με οξεία αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια, το cinaciguat προκάλεσε αύξηση της καρδιακής παροχής και της νεφρικής αιματικής ροής, με διατηρούμενη νεφρική λειτουργία,



Σχήμα 15. Χημική δομή Cinaciguat

και το νάτριο και το νερό απεκκρίθηκαν χωρίς περαιτέρω νευρορμονική ενεργοποίηση. Η φαρμακοκινητική του cinaciguat έδειξε δόσοαναλογία με χαμηλή μεταβλητότητα και χαμηλή συχνότητα εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών. Η φάση I και II των κλινικών δοκιμών που εκτελούνται με το cinaciguat μέχρι στιγμής, ωστόσο, δεν επαρκούν για να παρέχουν πειστικές αποδείξεις για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του φαρμάκου. Έτσι, θα πρέπει να ασκείται προσοχή πριν την επέκταση των σημερινών προκαταρκτικών στοιχείων στην κλινική πρακτική.

4. Συμπεράσματα

Στην παρούσα ανασκόπηση παρουσιάστηκαν συνοπτικά οι νεώτερες θεραπείες για την αντιμετώπιση της χρόνιας και της οξείας καρδιακής ανεπάρκειας. Νέες δραστικές ουσίες έχουν αναπτυχθεί για υποδοχείς-στόχους που εμπλέκονται στην καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ σε εξέλιξη βρίσκονται περαιτέρω κλινικές μελέτες. □

Novel Medines for the Treatment of Chronic and Acute Heart Failure

Nikolaos Katsinas,
Anastasia Tsoukia and Ioanna Andreadou*

Department of Pharmaceuticla Chemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Athens,
Panepistimiopolis, Zogr;afou, Athens 157 71, Greece

Summary

Heart failure is a complex clinical syndrome, developing over time as the heart's pumping action grows weaker. It may be congestive heart failure (CHF) or Acute decompensated heart failure (ADHF).

In the present review article afer providing a short overview of the pathophysiological mechanism involved the arsenal of novel medicines used to treat chronic and acute heart failure is described. Chemical structures, mechanism of action and molecular targets as well as the pharmacology and if nesescary, pharmacokinetics and side effects of new drugs are presented.

KEYWORDS: Congestive Heart Failure, Acute Decompensated Heart Failure, Medical Treatment, Mechanism of Action, Pharmacokinetics

*Author for correspondence:

ioanna Andreadou,
e-mail: jandread@pharm.uoa.gr

Βιβλιογραφία

1. Champe P. C., Harvey R.A. (2007) «Φαρμακολογία» - 3η έκδοση, Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε., Αθήνα
2. Gheorghiade M., Zannad F., Sopko G., Klein L., Piña I.L., Konstam M.A., Massie B.M., Roland E., Targum S., Collins S.P., Filippatos G., Tavazzi L. Acute heart failure syndromes: current state and framework for future research. *Circulation* 112, 3958-68, 2005.
3. Goldberg R.J., Ciampa J., Lessard D., Meyer T.E., Spencer F.A. Long-term survival after heart failure: a contemporary population-based perspective. *Arch. Intern. Med.* 167,490-6, 2007.
4. Marino P., Sutin K.M. (2006) Acute heart failure syndromes. Chapter 14. The ICU Book. 3rd Edition. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins Publications p. 265
5. Seta Y., Shan K., Bozkurt B., Oral H., Mann D.L. Basic mechanisms in heart failure: The cytokine hypothesis. *J. Card. Fail.* 2, 243 -249, 1996.
6. Law M.R., Morris J.K., Wald N.J. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: metanalysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *Br. Med. J.* 19,338:b1665, 2009.
7. Kotseva K., Wood D., De Backer G., De Bacquer D., Pyörälä K., Reiner Z., Keil U. EUROASPIRE III. Management of cardiovascular risk factors in asymptomatic high-risk patients in general practice: cross-sectional survey in 12 European countries. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 17, 530-540, 2010.
8. Basile J.N. One size does not fit all: the role of vasodilating beta-blockers in controlling hypertension as a means of reducing cardiovascular and stroke risk. *Am. J. Med.* 123, S9-S15, 2010.
9. De Caterina A.R., Leone A.M. The role of beta-blockers as first-line therapy in hypertension. *Curr. Atheroscler. Rep.* 13,147-153, 2011.
10. Γεωργακόπουλος Π.Ν., Κυριακίδης Μ., Ο ρόλος των β-αδρενεργικών αποκλειστών στη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. *Arch. Hellenic Medicine* 20,18-29, 2003.
11. Van de Water A., Janssens W., Van Neuten J. Xhonneux R., De Cree J., Verhaegen H., Rene-

- man R.S., Janssen P.A. Pharmacological and hemodynamic profile of nebivolol, a chemically novel, potent, and selective beta 1-adrenergic antagonist. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 11,552-563, 1988.
12. Janssens W.J., Van de Water A., Xhonneux R., Reneman R.S., Van Nueten J.M., Janssen P.A. Nebivolol is devoid of intrinsic sympathomimetic activity. *Eur. J. Pharmacol.* 59, 89-95, 1989.
 13. Sorrentino S.A., Doerries C., Manes C., Speer T., Dessy C., Lobysheva I., Mohmand W., Akbar R., Bahlmann F., Besler C., Schaefer A., Hilfiker-Kleiner D., Lüscher T.F., Balligand J.L., Drexler H., Landmesser U. Nebivolol exerts beneficial effects on endothelial function, early endothelial progenitor cells, myocardial neovascularization, and left ventricular dysfunction early after myocardial infarction beyond conventional 1-blockade. *J. Am. Coll. Cardiol.* 57, 601-611, 2011.
 14. McEniery C.M., Schmitt M., Qasem A., Speer T., Dessy C., Lobysheva I., Mohmand W., Akbar R., Bahlmann F., Besler C., Schaefer A., Hilfiker-Kleiner D., Lüscher T.F., Balligand J.L., Drexler H., Landmesser U. Nebivolol increases arterial distensibility in vivo. *Hypertension*. 44, 305-310, 2004.
 15. Edes I., Gasior Z., Wita K. Effects of nebivolol on left ventricular function in elderly patients with chronic heart failure: results of the ENECA study. *Eur. J. Heart Fail.* 4, 631-639, 2005.
 16. Fountoulaki K., Dimopoulos V., Giannakoulis J., Zintzaras E., Triposkiadis F. Left ventricular mass and mechanics in mild-to-moderate hypertension: effect of nebivolol versus telmisartan. *Am. J. Hypertens.* 18, 171-177, 2005.
 17. Ignarro L.J., Byrns R.E., Trinh K., Sisodia M., Buga G.M. Nebivolol: a selective beta(1)-adrenergic receptor antagonist that relaxes vascular smooth muscle by nitric oxide- and cyclic GMP-dependent mechanisms. *Nitric Oxide.* 7, 75-82, 2002.
 18. Gao Y.S., Nagao T., Bond R.A. Nebivolol induces endothelium-dependent relaxations of canine coronary arteries. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 17, 964-969, 1991.
 19. Maffei A., Di Pardo A., Carangi R., Carullo P., Poulet R., Gentile M.T., Vecchione C., Lembo G. Nebivolol induces nitric oxide release in the heart through inducible nitric oxide synthase activation. *Hypertension.* 50, 652-656, 2007.
 20. Gauthier C., Tavernier G., Charpentier F., Langin D., Le Marec H. Functional beta3- adrenoceptor in the human heart. *J. Clin. Invest.* 98, 556-562, 1996.
 21. Rozec B., Gauthier C. Beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system: putative roles in human pathologies. *Pharmacol. Ther.* 111, 652-673, 2006.
 22. Erdogan D., Gullu H., Caliskan M., Ciftci O., Baycan S., Yildirim A., Muderrisoglu H. Nebivolol improves coronary flow reserve in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Heart.* 93, 319-324, 2007.
 23. Aragon J.P., Condit M.E., Bhushan S., Predmore B.L., Patel S.S., Grinsfelder D.B., Gundewar S., Jha S., Calvert J.W., Barouch L.A., Lavu M., Wright H.M., Lefer D.J. Beta(3)-adrenoceptor stimulation ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury via endothelial nitric oxide synthase and neuronal nitric oxide synthase activation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 58, 2683-2691, 2011.
 24. Van Nueten L., De Crie J. Nebivolol: comparison of the effects of dl-nebivolol, d-nebivolol, l-nebivolol, atenolol, and placebo on exercise induced increases in heart rate and systolic blood pressure. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 4, 339-344, 1998.
 25. Sacco G., Evangelista S., Criscuoli M., Goso C., Bigioni M., Binaschi M., Manzini S., Maggi C.A. Involvement of nitric oxide in both central and peripheral haemodynamic effect of D/L-nebivolol and its enantiomers in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 511, 167-174, 2005.
 26. Evangelista S., Garbin U., Pasini A.F., Stranieri C., Boccioletti V., Cominacini L. Effect of DL-nebivolol, its enantiomers and metabolites on the intracellular production of superoxide and nitric oxide in human endothelial cells. *Pharmacol. Res.* 55, 303-309, 2007.
 27. Ignarro L.J. Different pharmacological proper-

- ties of two enantiomers in a unique beta-blocker, nebivolol. *Cardiovasc. Ther.* 26,115-134, 2008.
28. Cominacini L., Fratta Pasini A., Garbin U., Nava C., Davoli A., Criscuoli M., Crea A., Sawamura T., Lo Cascio V. Nebivolol and its 4-keto derivative increase nitric oxide in endothelial cells by reducing its oxidative inactivation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 42, 1838-1844, 2003.
 29. Mason R.P., Kubant R., Jacob R.F., Walter M., Boychuk B., Malinski T. Effect of nebivolol on endothelial nitric oxide and peroxynitrite release in hypertensive animals: role of antioxidant activity. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 48, 862-869, 2006.
 30. Whaley-Connell A., Habibi J., Johnson M., Tilmont R., Rehmer N., Rehmer J., Wiedmeyer C., Ferrario C.M., Sowers J.R. Nebivolol reduces proteinuria and renal NADPH oxidase-generated reactive oxygen species in the transgenic Ren2 rat. *Am. J. Nephrol.* 30, 354-360, 2009.
 31. Oelze M., Daiber A., Brandes R.P., Hortmann M., Wenzel P., Hink U., Schulz E., Mollnau H., von Sandersleben A., Kleschyov A.L., Mülsch A., Li H., Förstermann U., Münzel T. Nebivolol inhibits superoxide formation by NADPH oxidase and endothelial dysfunction in angiotensin II-treated rats. *Hypertension.* 48, 677-684, 2006.
 32. Shibata M.C., Flather M.D., Wang D. Systematic review of the impact of beta blockers on mortality and hospital admissions in heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 3, 351-357, 2001.
 33. Kamp O., Sieswerda G.T., Visser C.A. Comparison of effects on systolic and diastolic left ventricular function of nebivolol versus atenolol in patients with uncomplicated essential hypertension. *Am. J. Cardiol.* 92,344-348, 2003.
 34. Wisenbaugh T., Katz I., Davis J., Essop R., Skoularigis J., Middlemost S., Röthlisberger C., Skudicky D., Sareli P. Long-term (3-month) effects of a new beta-blocker (nebivolol) on cardiac performance in dilated cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 21,1094-1100, 1993.
 35. Uhlir O., Dvorak I., Gregor P., Malek I., Spinarova L., Vojacek J., Van Nueten L. Nebivolol in the treatment of cardiac failure: a double-blind controlled clinical trial. *J. Card. Fail.* 3,271-276, 1997.
 36. Zanchetti A. Clinical pharmacodynamics of nebivolol: new evidence of nitric oxide-mediated vasodilating activity and peculiar haemodynamic properties in hypertensive patients. *Blood Press. Suppl* 1, 17-32, 2004.
 37. Nodari S., Metra M., Dei Cas L. Beta-blocker treatment of patients with diastolic heart failure and arterial hypertension. A prospective, randomized, comparison of the long-term effects of atenolol vs nebivolol. *Eur. J. Heart Fail.* 5,621-627, 2003.
 38. Brune S., Schmidt T., Tebbe U., Kreuzer H. Hemodynamic effects of nebivolol at rest and on exertion in patients with heart failure. *Angiology.* 41,696-701, 1990.
 39. Flather M.D., Shibata M.C. Coats A.J., et al. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur. Heart J.* 26,215-225, 2005.
 40. Hossain M.A., Rosengren K.J., Samuel C.S., Shabanpoor F., Chan L.J., Bathgate R.A., Wade J.D. The minimal active structure of human relaxin-2. *J. Biol. Chem.* 286, 37555-37565, 2011.
 41. Halls M.L., Bond C.P. Sudo S., Kumagai J., Ferraro T., Layfield S., Bathgate R.A., Summers R.J. Multiple binding sites revealed by interaction of relaxin family peptides with native and chimeric relaxin family peptide receptors 1 and 2 (LGR7 and LGR8). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 313, 677-687, 2005.
 42. Novak J., Parry L.J. Matthews J.E., Kerchner L.J., Indovina K., Hanley-Yanez K., Doty K.D., Debrah D.O., Shroff S.G., Conrad K.P. Evidence for local relaxin ligand receptor expression and function in arteries. *FASEB J.* 20, 2352-2362, 2006.
 43. Hsu S.Y., Nakabayashi K. Nishi S., Kumagai J., Kudo M., Sherwood O.D., Hsueh A.J. Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. *Science* 295, 671-674, 2002.
 44. Halls M.L., Bathgate R.A., Summers R.J. Comparison of signalling pathways activated by the relaxin family peptide receptors, RXFP1

- and RXFP2, using reporter genes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 320,281-290, 2007.
45. Kohsaka T., Min G. Lukas G., Trupin S., Campbell E.T., Sherwood O.D. Identification of specific relaxin binding cells in the human female. *Biol. Reprod.* 59,991-999, 1998.
 46. Zhang Q., Liu S.H., Erikson M., Lewis M., Unemori E. Relaxin activates the MAP kinase pathway in human endometrial stromal cells. *J. Cell Biochem.* 85,536-544, 2002.
 47. Dschietzig T., Bartsch C., Richter C., Laule M., Baumann G., Stangl K. Relaxin, a pregnancy hormone, is a functional endothelin-1 antagonist: attenuation of endothelin-1-mediated vasoconstriction by stimulation of endothelin type-B receptor expression via ERK-1/2 and nuclear factor kappaB. *Circ. Res.* 92, 32-40, 2003.
 48. Nguyen B.T., Yang L., Sanborn B.M., Dessauer C.W. Phosphoinositide 3-Kinase activity is required for biphasic stimulation of cyclic AMP by relaxin. *Mol. Endocrinol.* 17,1075-1084, 2003.
 49. Samuel C.S., Unemori E.N., Mookerjee I., Bathgate R.A., Layfield S.L., Mak J., Tregear G.W., Du X.J. Relaxin modulates cardiac fibroblast proliferation, differentiation, and collagen production and reverses cardiac fibrosis in vivo. *Endocrinology* 145, 4125-4133, 2004.
 50. Palejwala S., Stein D., Wojtczuk A., Weiss G., Goldsmith L.T. Demonstration of a relaxin receptor and relaxin-stimulated tyrosine phosphorylation in human lower uterine segment fibroblasts. *Endocrinology* 139,1208-1212, 1998.
 51. Bani D., Failli P., Bello M.G., Thiemermann C., Bani Sacchi T., Bigazzi M., Masini E. Relaxin activates the L-argininenitric oxide pathway in vascular smooth muscle cells in culture. *Hypertension* 31,1240-1247, 1998.
 52. Bani-Sacchi T., Bigazzi M., Bani D., Mannaioni P.F., Masini E. Relaxin-induced increased coronary flow through stimulation of nitric oxide production. *Br. J. Pharmacol.* 116,1589-1594, 1995.
 53. Danielson L.A., Conrad K.P. Acute blockade of nitric oxide synthase inhibits renal vasodilation and hyperfiltration during pregnancy in chronically instrumented conscious rats. *J. Clin. Invest.* 96, 482-490, 1995.
 54. Conrad K.P., Gandley R.E., Ogawa T., Nakanishi S., Danielson L.A. Endothelin mediates renal vasodilation and hyperfiltration during pregnancy in chronically instrumented conscious rats. *Am. J. Physiol.* 276, F767- F776, 1999.
 55. Jeyabalan A., Novak J., Danielson L.A., Kerchner L.J., Opett S.L., Conrad K.P. Essential role for vascular gelatinase activity in relaxin-induced renal vasodilation, hyperfiltration, and reduced myogenic reactivity of small renal arteries. *Circ. Res.* 93,1249-1257, 2003.
 56. Toth M., Taskinen P., Ruskoaho H. Relaxin stimulates atrial natriuretic peptide secretion in perfused rat heart. *J. Endocrinol.* 150,487-495, 1996.
 57. Palejwala S., Tseng L. Wojtczuk A., Weiss G., Goldsmith L.T. Relaxin gene and protein expression and its regulation of procollagenase and vascular endothelial growth factor in human endometrial cells. *Biol. Reprod.* 66,1743-1748, 2002.
 58. Unemori E.N., Erikson M.E. Rocco S.E., Sutherland K.M., Parsell D.A., Mak J., Grove B.H. Relaxin stimulates expression of vascular endothelial growth factor in normal human endometrial cells in vitro and is associated with menometrorrhagia in women. *Hum. Reprod.* 14, 800-806,1999.
 59. Conrad K.P., Debrah D.O., Novak J., Danielson L.A., Shroff S.G. Relaxin modifies systemic arterial resistance and compliance in conscious, nonpregnant rats. *Endocrinology* 145, 3289-3296, 2004.
 60. Danielson L.A., Sherwood O.D. Conrad K.P. Relaxin is a potent renal vasodilator in conscious rats. *J. Clin. Invest.* 103, 525-533, 1999.
 61. Danielson L.A., Kercher L.J., Conrad K.P. Impact of gender and endothelin on renal vasodilation and hyperfiltration induced by relaxin in conscious rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 279, R1298-R1304, 2000.
 62. Massicotte G., Parent A., St-Louis J. Blunted re-

- sponses to vasoconstrictors in mesenteric vasculature but not in portal vein of spontaneously hypertensive rats treated with relaxin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 190, 254-259, 1989.
63. Debrah D.O., Conrad K.P., Jeyabalan A., Danielson L.A., Shroff S.G. Relaxin increases cardiac output and reduces systemic arterial load in hypertensive rats. *Hypertension* 46,745-750, 2005.
 64. Fisher C., MacLean M., Morecroft I., Seed A., Johnston F., Hillier C., McMurray J. Is the pregnancy hormone relaxin also a vasodilator peptide secreted by the heart? *Circulation* 106,292-295, 2002.
 65. Sasser J.M., Lindheimer M.D., Baylis C. An Emerging Role for Relaxin as a Renal Vasodilator. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17, 2960-2961, 2006.
 66. Davison J.M., Noble M.C.B. Serial changes in 24-hour creatinine clearance during normal menstrual cycles and the first trimester of pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 88, 10-17, 1981.
 67. Schrier R.W., Dürr J.A. Pregnancy: an overfill or underfill state. *Am. J. Kidney Dis.* 9, 284-289, 1987.
 68. Baylis C. Relaxin may be the "elusive" renal vasodilatory agent of normal pregnancy. *Am. J. Kidney Dis.* 34, 1142-1144, 1999.
 69. Jeyabalan A., Conrad K.P. Renal function during normal pregnancy and preeclampsia. *Front Biosci.* 12,2425-2437, 2007.
 70. Danielson L.A., Conrad K.P. Time course and dose response of relaxin-mediated renal vasodilation, hyperfiltration, and changes in plasma osmolality in conscious rats. *J. Appl. Physiol.* 95,1509-1514, 2003.
 71. Gellai M., DeWolf R., Fletcher T., Nambi P. Contribution of endogenous endothelin-1 to the maintenance of vascular tone: role of nitric oxide. *Pharmacology* 55,299-308, 1997.
 72. Conrad K.P., Novak J. Emerging role of relaxin in renal and cardiovascular function. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 287,R250-R261, 2004.
 73. Unemori E.N., Amento E.P. Relaxin modulates synthesis and secretion of procollagenase and collagen by human dermal fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 265,10681-10685, 1990.
 74. Debrah D.O., Conrad K.P., Danielson L.A., Shroff S.G. Effects of relaxin on systemic arterial hemodynamics and mechanical properties in conscious rats: sex dependency and dose response. *J. Appl. Physiol.* 98,1013-1020, 2005.
 75. Schulz-Knappe P., Forssmann K., Herbst F., Hock D., Pipkorn R., Forssmann W.G. Isolation and structural analysis of burodilatinQ, a new peptide of the cardiodilatin-(ANP)-family, extracted from human urine. *Klin. Wochenschr.* 66,752-9, 1988.
 76. Mitrovic V., Lüss H., Nitsche K., Forssmann K., Maronde E., Fricke K., Forssmann W.G., Meyer M. Effects of the renal natriuretic peptide urodilatin (ularitide) in patients with decompensated chronic heart failure: A double-blind, placebo-controlled, ascending-dose trial. *Am. Heart J.* 150,1239, 2005.
 77. Akhter M.W., Aronson D., Bitar F., Khan S., Singh H., Singh R.P., Burger A.J., Elkayam U. Effect of elevated admission serum creatinine and its worsening on outcome in hospitalized patients with decompensated heart failure. *Am. J. Cardiol.* 94,957-60, 2004.
 78. Krumholz H.M., Chen Y.T., Vaccarino V., Wang Y., Radford M.J., Bradford W.D., Horwitz R.I. Correlates and impact on outcomes of worsening renal function in patients 65 years of age with heart failure. *Am. J. Cardiol.* 85,1110-1113, 2000.
 79. Gottlieb S.S., Brater D.C., Thomas I., Havranek E., Bourge R., Goldman S., Dyer F., Gomez M., Bennett D., Ticho B., Beckman E., Abraham W.T. D. BG9719 (CVT-124), an A1 Adenosine Receptor Antagonist, Protects Against the Decline in Renal Function Observed With Diuretic Therapy. *Circulation.* 105, 1348-1353, 2002.
 80. Balakrishnan V.S., Coles G.A., Williams J.D. Effects of intravenous adenosine on renal function in healthy human subjects. *Am. J. Physiol.* 40, F374-F381, 1996.
 81. Edlund A., Ohlsen H., Sollevi A. Renal effects of local infusion of adenosine in man. *Clin. Sci.* 87,143-149, 1994.
 82. Marraccini P., Fedele S., Marzilli M., Orsini E.,

- Dukic G., Serasini L., L'Abbate A. Adenosine-induced renal vasoconstriction in man. *Cardiovasc. Res.* 32,949-953,1996.
83. Schnermann J. Juxtaglomerular cell complex in the regulation of renal salt excretion. *Am. J. Physiol. Reg. Integr. Comp. Physiol.* 274, R263-R279, 1998.
 84. Yamagata T., Kobayashi T., Kusaka H., Karasawa A. Diuretic effect of KW 3902, a novel adenosine A1-receptor antagonist, in anesthetized dogs. *Biol. Pharm. Bull.* 17,1599-1603, 1994.
 85. Kuan C.J., Herzer W.A., Jackson E.K. Cardiovascular and renal effects of blocking A1 adenosine receptors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 21, 822-828, 1993.
 86. DiFrancesco D. Funny channels in the control of cardiac rhythm and mode of action of selective blockers. *Pharmacol. Res.* 53, 399-406, 2006.
 87. Savelieva I., Camm A.J. If inhibition with ivabradine: electrophysiological effects and safety. *Drug Saf.* 31, 95-107, 2008.
 88. Swedberg K., Komajda M., Bohm M., Borer J.S., Ford I., Dubost-Brama A., Lerebours G., Tavazzi L. Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomised placebo-controlled study, *Lancet.* 376, 875-85, 2010.
 89. Swedberg K., Cleland J., Dargie H., et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur. Heart. J.* 26, 1115-40, 2005.
 90. McAlister F.A., Wiebe N., Ezekowitz J.A., Leung A.A., Armstrong P.W. Meta-analysis: beta-blocker dose, heart rate reduction, and death in patients with heart failure. *Ann. Intern. Med.* 150, 784-94, 2009.
 91. Lombes M., Alfaidy N., Eugene E., Lessana A., Farman A., Bonvalet J.P. Prerequisite for cardiac aldosterone action: mineralocorticoid receptor and 11- β -hydroxysteroid dehydrogenase in the human heart. *Circulation* 92, 175-182,1995.
 92. Pitt B., Zannad F., Remme W.J., Cody R., Castaigne A., Perez A., Palensky J., Wittes J. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N. Engl. J. Med.* 341, 709-717, 1999.
 93. Pitt B., Remme W., Zannad F., Neaton J., Martinez F., Roniker B., Bittman R., Hurley S., Kleiman J., Gatlin M. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 348, 1309-1321, 2003.
 94. Zannad F., McMurray J.J.V., Krum H., van Veldhuisen D.J., Swedberg K., Shi H., Vincent J., Pocock S.J., Pitt B. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *N. Engl. J. Med.* 364, 11-21, 2011.
 95. Mak G.J., Ledwidge M.T., Watson C.J., Phelan D.M., Dawkins I.R., Murphy N.F., Patle A.K., Baugh J.A., McDonald K.M. Natural history of markers of collagen turnover in patients with early diastolic dysfunction and impact of eplerenone. *J. Am. Coll. Cardiol.* 54, 1674-1682, 2009.
 96. Figgitt D.P., Gillies P.S., Goa K.L. Levosimendan. *Drugs* 61, 613-627, 2001.
 97. Remme W.J., Swedberg K. and the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart failure, European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. *Eur. Heart J.* 22, 1527-1560, 2001.
 98. Parissis J.T., Andreadou I., Bistola V., Paraskevaidis I., Filippatos G., Kremastinos D. T. Novel biologic mechanisms of levosimendan and their effects on the failing heart. *Expert Opin Investig Drugs*, 17, 1143-1150, 2008.
 99. Sandell E.P., Hayha M., Antila S., Heikkinen P., Ottoila P., Lehtonen L.A., Pentikainen P.J. Pharmacokinetics of levosimendan in healthy volunteers and patients with congestive heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol.* 26,S57-62, 1995.
 100. Pierrakos C., Velissaris D. Franchi F., Muzzi L., Karanikolas M., Scolletta S. Levosimendan in Critical Illness: A Literature Review *J. Clin. Med. Res.* 6, 75-85, 2014.
 101. Harjola V.-P., Peuhkurinen K., Nieminen M.S., Niemala M., Sunderberg G. Oral Levosimendan improves cardiac function and hemodynamics in patients with severe congestive heart failure.

- Am. J. Cardiol.* 83, 4I-8I, 1999.
102. Poder P, Eha J., Sundberg S., Antila S., Heinpalu M., Loogna I., Planken U., Rantanen S., Lehtonen L. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of oral levosimendan and its metabolites in patients with severe congestive heart failure: a dosing interval study. *J. Clin. Pharmacol.* 44, 1143-1150, 2004.
 103. Schwarte LA, Picker O, Bornstein SR, Fournell A, Scheeren TW. Levosimendan is superior to milrinone and dobutamine in selectively increasing microvascular gastric mucosal oxygenation in dogs. *Crit. Care Med.* 33, 135-142, 2005.
 104. Gordon S.G., Miller M.W., Saunders A.B. Pimobendan in heart failure therapy - a silver bullet? *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 42, 90-3, 2006.
 105. Häggström J., Boswood A., O'Grady M., Jöns O. et al. Effect of Pimobendan or Benazepril Hydrochloride on Survival Times in Dogs with Congestive Heart Failure Caused by Naturally Occurring Myxomatous Mitral Valve Disease: The QUEST Study. *J. Vet. Intern. Med.* 22, 1124-35, 2008.
 106. Kusuri-no-Shiori Drug Information Sheet. RAD-AR Council, Japan. April 2005. Retrieved 2008-08-06.
 107. Nicolas C. Verny M., Maurizis J. C., Payard M., Faurie M. Synthesis of ¹⁴C-bucromarone succinate and hydrochloride. *J. Labeled Compd. Radiopharm.* 23, 837, 1986.
 108. Mohammed S.F., Korinek J., Chen H.H., John C. Burnett J.C., Redfield M.M. Nesiritide in Acute Decompensated Heart Failure: Current Status and Future Perspectives. *Rev. Cardiovas. Med.* 9, 151-158, 2008.
 109. Potter L.R., Yoder A.R., Flora D.R., Antos L.K., Dickey D.M. Natriuretic Peptides: Their Structures, Receptors, Physiologic Functions and Therapeutic Applications. *Handb. Exp. Pharmacol.* 191, 341-366, 2009.
 110. Publication Committee for the VMAC Investigators. Intravenous nesiritide vs nitroglycerin for treatment of decompensated congestive heart failure: a randomized controlled trial. *JAMA* 287, 1531- 40, 2002
 111. Elkayam U., Akhter M.W., Tummala P., Khan S., Singh H. Nesiritide: a new drug for the treatment of decompensated heart failure. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 7, 181-94, 2002.
 112. Teerlink J.R. A novel approach to improve cardiac performance: cardiac myosin activators. *Heart Fail. Rev.* 14, 289-298, 2009.
 113. Malik F.I., Hartman J.J., Elias K.A., et al. Cardiac myosin activation: a potential therapeutic approach for systolic heart failure. *Science.* 331, 1439-1443, 2011.
 114. Pollesello P., Papp Z., Papp J.Gy. Calcium sensitizers: What have we learned over the last 25 years? *Int. J. Cardiol.* 203, 543-548, 2016.
 115. Shah S.J., Blair J.E.A., Filippatos G.S., Macarie C., Ruzyllo W., Korewicki J., Bubenek-Turconi S.I., Ceracchi M., Bianchetti M., Carminati P., Kremastinos D., Grzybowski J., Valentini G., Sabbah H.N., Gheorghiade M., Effects of istaroxime on diastolic stiffness in acute heart failure syndromes: Results from the Hemodynamic, Echocardiographic, and Neurohormonal Effects of Istaroxime, a Novel Intravenous Inotropic and Lusitropic Agent: a Randomized Controlled Trial in Patients Hospitalized with Heart Failure (HORIZON-HF) trial. *Am. Heart J.* 157, 1035-1041, 2009.
 116. <http://www.drugdevelopment-technology.com/projects/istaroxime/>
 117. Lin T.E., Adams K.F. Jr, Patterson J.H. Potential roles of vaptans in heart failure: experience from clinical trials and considerations for optimizing therapy in target patients. *Heart Fail. Clin.* 10, 607-20, 2014
 118. Yancy C.W., Climbing the Mountain of Acute Decompensated Heart Failure. The EVEREST Trials *JAMA.* 297, 1374-1376., 2007.
 119. Aghel A., Tang W.H. Tolvaptan: the evidence for its therapeutic value in acute heart failure syndrome. *Core Evid.* 3, 31-43, 2008.
 120. Gheorghiade M, Konstam MA, Burnett JC Jr, Grinfeld L, Maggioni AP, Swedberg K, et al. Short-term clinical effects of tolvaptan, an oral vasopressin antagonist, in patients hospitalized for heart failure: The EVEREST Clinical Status Trials. *JAMA* 297, 1332 - 1343, 2007.

121. Gheorghiade M, Orlandi C, Burnett JC, Demets D, Grinfeld L, Maggioni A, et al. Rationale and design of the multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the Efficacy of Vasopressin antagonism in Heart Failure: Outcome Study with Tolvaptan (EVEREST). *J. Card. Fail.* 11, 260 -269, 2005.
122. Inomata T, Izumi T, Matsuzaki M., Hori M., Hirayama A. Phase III clinical pharmacology study of tolvaptan. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 25, Suppl 1, S57-65, 2011.
123. Shoaf S.E., Bricmont P., Mallikaarjun S. Effects of CYP3A4 inhibition and induction on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tolvaptan, a non-peptide AVP antagonist in healthy subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 73, 579-587, 2012.
124. Shoaf S.E., Elizari M.V., Wang Z., Sekar K., Grinfeld L.R., Barbagelata N.A., Lerman J., Bramer S.L., Trongé J., Orlandi C. Tolvaptan administration does not affect steady state amiodarone concentrations in patients with cardiac arrhythmias. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 10, 165-71, 2005.
125. Goldsmith S.R., Elkayam U., Haught W.H., Barve A., He W, Efficacy and Safety of the Vasopressin V1A/V2-Receptor Antagonist Conivaptan in Acute Decompensated Heart Failure: A Dose-Ranging Pilot Study. *J. Card. Fail.* 14, 641-7, 2008.
126. Mao Z.L., Stalker D., Keirns J. Pharmacokinetics of conivaptan hydrochloride, a vasopressin V(1A)/V(2)-receptor antagonist, in patients with euvolemic or hypervolemic hyponatremia and with or without congestive heart failure from a prospective, 4-day open-label study. *Clin. Ther.* 31, 1542-50, 2009.
127. Palmer B.F., Rock A.D., Woodward E.J. Dose comparison of conivaptan (Vaprisol®) in patients with euvolemic or hypervolemic hyponatremia - efficacy, safety, and pharmacokinetics. *Drug Des. Devel. Ther.* 10, 339-51, 2016.
128. National PBM Drug Monograph, Conivaptan Hydrochloride Injection (Vaprisol®) December 2006.
129. Izumi Y., Miura K., Iwao H. Therapeutic potential of vasopressin-receptor antagonists in heart failure. *J. Pharmacol. Sci.* 124, 1-6, 2014.
130. Nishikimi T, Tsuyoshi Karasawa T, Inaba C, Ishimura K., Tadokoro K., Koshikawa S., Yoshihara F., Nagaya N., Sakio H., Kangawa K, Matsuoka H. Effects of Long-Term Intravenous Administration of Adrenomedullin (AM) Plus hANP Therapy in Acute Decompensated Heart Failure -A Pilot Study. *Circ. J.* 73, 892 - 898, 2009.
131. Tamargo J., Duarte J., Caballero R, Delpón E. Cinaciguat, a soluble guanylate cyclase activator for the potential treatment of acute heart failure. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 11, 1039-47, 2010
132. de Oliveira MG, Calmasini FB, Alexandre EC, De Nucci G, Mónica FZ, Antunes E Activation of soluble guanylyl cyclase by BAY 58-2667 improves bladder function in cyclophosphamide-induced cystitis in mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2016 [Epub ahead of print]

Συμμετοχή της Ελλάδας στο πρόγραμμα SIMPATHY



10 Οργανισμοί

ROBERT GORDON UNIVERSITY
SCOTTISH GOVERNMENT
NORTHERN HEALTH AND SOCIAL CARE TRUST
HANKOVER MEDICAL SCHOOL
MEDICAL UNIVERSITY OF LOZÉ
UNIVERSITY OF COMBRIA
CLINIC FOUNDATION FOR BIOMEDICAL RESEARCH (HOSPITAL CLINIC OF BARCELONA)
FEDERICO II UNIVERSITY HOSPITAL
UNIVERSITY OF PELOPONNESE

www.simpathy.eu

Συμμετέχοντες

Μη Κατάλληλη Πολυφαρμακία Ένα Σημαντικό Ζήτημα Υγείας

50% των στήνων που λαμβάνουν 4 ή περισσότερα φάρμακα, δεν τα λαμβάνουν σύμφωνα με τις οδηγίες συνταγογράφησης.

Η αλλαγή στην προσέγγιση της πολυπλής συνταγογράφησης απαιτεί μία "αύξηση" και κοινή προσπάθεια με τη συμμετοχή διαφόρων εμπλεκόμενων.

Πρόθεση
Ανταλλαγή γνώσεων μεταξύ των ελληνικών κέντρων και των σχεδιαστών πολιτικών υγείας στην Ευρωπαϊκή Ένωση με την εφαρμογή μελετών περίπτωσης και συγκριτικής αξιολόγησης.

Εκτέλεση
Αυτοδύναμη κοινή εργασία στην ΕΕ.

Ιδέες
Από κοινού παραγωγή εργαλείων για την εφαρμογή της πολυφαρμακίας μέσω διαπιστημονικών ομάδων.

Αυτό το φυλλάδιο εντάσσεται στο πρόγραμμα SIMPATHY (663062), το οποίο έχει λάβει χρηματοδότηση από το Πρόγραμμα για την Υγεία της Ευρωπαϊκής Ένωσης (2014-2020).

Το τελικό αποτέλεσμα του προγράμματος θα είναι μια στρατηγική προσέγγιση καθοδήγησης παρεμβάσεων σχετικά με τη διαχείριση της πολυφαρμακίας και της συμμόρφωσης στη θεραπεία.



Η προσέγγιση του SIMPATHY πρόκειται να:

Έχει θετική επίδραση στην υγεία και την ποιότητα ζωής ασθενών με συννοσηρότητες στην ΕΕ, μέσω της μείωσης της μη κατάλληλης πολυφαρμακίας.

Αυξήσει τη συμμόρφωση των ασθενών και να τους ενδυναμώσει.

Ενσωματώνει την εμπειρία του φαρμακοποιού, ως βασικό συστατικό στη διαδικασία της φροντίδας, μέσω της συμμετοχής του σε διαπιστημονικές ομάδες.

Διευκολύνει την ανταλλαγή και την υιοθέτηση καλών πρακτικών μεταξύ χωρών-μελών της ΕΕ.

Διασφαλίζει τη δέσμευση όλων των σχετικών εταίρων σε μία ομάδα δράσης, ώστε να υπάρξει αλλαγή στη διαχείριση της πολυφαρμακίας σε επίπεδο ΕΕ.

Το Όραμά μας



Σχέδιο Δράσης του SIMPATHY

Μελέτες Περίπτωσης
Μελέτες σε βάθος, ώστε να γίνουν κατανοητές τρέχουσες πρακτικές που αναδεικνύουν διαφορετικές προσεγγίσεις στη διαχείριση της πολυφαρμακίας στην ΕΕ.

Συγκριτική Αξιολόγηση Ευρωπαϊκών Στρατηγικών
Ευρωπαϊκές περιφερειακές και τοπικές μελέτες συγκριτικής αξιολόγησης για τον προσδιορισμό στρατηγικών διαχείρισης της πολυφαρμακίας και της μη συμμόρφωσης στην θεραπεία.

Διαχείριση Πολιτικών και Αλλαγής
Ανάπτυξη στρατηγικών και εργαλείων υποστήριξης της καινοτομίας στη διαχείριση της πολυφαρμακίας και της συμμόρφωσης στην θεραπεία.

Stimulating Innovation Management of Polypharmacy and Adherence in The Elderly (Ενθαρρύνοντας την Καινοτομία στη Διαχείριση της Πολυφαρμακίας και της Συμμόρφωσης στη Θεραπευτική Αγωγή των Ηλικιωμένων)

Η μη κατάλληλη πολυφαρμακία αναγνωρίζεται ως αναδυόμενο θέμα στην φροντίδα των ηλικιωμένων. **Μη κατάλληλη πολυφαρμακία** είναι η λήψη πολλαπλών φαρμάκων (συνήθως περισσότερα από πέντε) και η εμφάνιση κινδύνων και βλαβών που είναι περισσότεροι/ες από τα οφέλη. Κάποιες φορές η πολυφαρμακία είναι κατάλληλη/απαραίτητη και ενδείκνυται, όπως όταν ένας ασθενής έχει πολλαπλά χρόνια νοσήματα, αλλά αρκετές φορές δεν είναι κατάλληλη και μπορεί να καταστεί βλαβερή για τον ασθενή. Ένα πρόγραμμα διαχείρισης της πολυφαρμακίας είναι μία συστηματική διαχείριση της φαρμακοθεραπείας, ώστε να είναι εστιασμένη στην βελτιστοποίηση της φαρμακευτικής αγωγής ασθενών που λαμβάνουν πολλαπλές φαρμακευτικές ουσίες.

Στόχοι του προγράμματος.

Ο πρωταρχικός στόχος του SIMPATHY (www.simpathy.eu) είναι να ενθαρρύνει και να υποστηρίξει την καινοτομία στην Ευρωπαϊκή Ένωση, σχετικά με την πολυφαρμακία και την συμμόρφωση στην θεραπευτική αγωγή των ηλικιωμένων, εστιάζοντας ιδιαίτερα στην αντιμετώπιση της μη κατάλληλης πολυφαρμακίας, προσφέροντας τις απαραίτητες προσεγγίσεις διαχείρισης της αλλαγής και τα εργαλεία που θα βοηθήσουν στην διαχείριση της πολλαπλής φαρμακοθεραπείας και της συμμόρφωσης στην αγωγή με συνταγογραφούμενα φάρμακα. Το πρόγραμμα SIMPATHY μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη αποτελεσματικών και βιώσιμων συστημάτων υγείας στην Ευρωπαϊκή Ένωση (Ε.Ε.) διευκολύνοντας την αλληλεπίδραση βασικών εταίρων στην υγεία, όπως υγειονομικοί, πολιτικοί, σύμβουλοι πολιτικών υγείας και ηλικιωμένοι ασθενείς.

Βασικοί στόχοι είναι:

- Η χαρτογράφηση της διαχείρισης της πολυφαρμακίας στην Ευρωπαϊκή Ένωση
- Η αναγνώριση βέλτιστων πρακτικών στην Ευρωπαϊκή Ένωση

- Η προσφορά και προαγωγή εργαλείων και αναφορών για διαφορετικά τοπικά και περιφερειακά πλαίσια

- Η αλλαγή στην διαχείριση της πολυφαρμακίας, ώστε να βελτιωθεί η συμμόρφωση στους ηλικιωμένους ασθενείς.

Προσέγγιση της Μελέτης σε ευρωπαϊκό επίπεδο.

Ερευνητές από διάφορα ακαδημαϊκά και υγειονομικά ερευνητικά ινστιτούτα της Ευρώπης διεξάγουν μελέτες περίπτωσης, χαρτογραφώντας την δομή, την διαδικασία και τα αποτελέσματα πολιτικών και πρακτικών σε εθνικό, περιφερειακό και τοπικό θεσμικό επίπεδο. Εκτός από το **ποια** προγράμματα υπάρχουν, οι ερευνητές εξετάζουν το **πώς** αυτά τα προγράμματα αναπτύχθηκαν, υλοποιήθηκαν και κατέστησαν βιώσιμα και το **γιατί** οι αρχικοί υπεύθυνοι ανάπτυξης τους θεωρούν αυτά τα προγράμματα σημαντικά. Συλλέγονται, έτσι, πληροφορίες μέσω της ανάλυσης βασικών εγγράφων και τεκμηρίων, προσωπικών συνεντεύξεων και εστιασμένων συζητήσεων σε επίπεδο ομάδας βασικών εταίρων. Η κάθε ερευνητική ομάδα συντάσσει μια έκθεση για την διαχείριση της πολυφαρμακίας στην χώρα της, μετά από συζήτηση με εκπροσώπους βασικών εταίρων. Όλες οι αναφορές θα δημοσιευτούν διαδικτυακά και θα είναι διαθέσιμες από τον επίσημο ιστότοπο του προγράμματος SIMPATHY (www.simpathy.eu), συμπεριλαμβανομένης της τελικής αναφοράς που θα συνθέτει τα ευρήματα από τις 9 ευρωπαϊκές περιοχές που συμμετέχουν στο πρόγραμμα (Σκωτία, Καταλονία, Βόρεια Ιρλανδία, Σουηδία, Γερμανία, Πολωνία, Πορτογαλία, Ιταλία, Ελλάδα), τον Ιούνιο του 2016.

Ταυτόχρονα, προετοιμάζεται και θα διενεργηθεί συγκριτική αξιολόγηση ευρωπαϊκών στρατηγικών, τόσο τοπικά όσο και περιφερειακά και εθνικά, για την διαχείριση της πολυφαρμακίας και της μη συμμόρφωσης στην θεραπεία.

Τέλος, θα αναπτυχθούν στρατηγικές και εργαλεία υποστήριξης της καινοτομίας στην διαχείριση της πολυφαρμακίας και της συμμόρφωσης στην θεραπεία για τους ηλικιωμένους.

Τα παραπάνω εργαλεία, που θα καλύψουν ανάγκες φορέων και εταίρων στην υγεία, στην Ευρωπαϊκή Ένωση, θα είναι :

- Οι μελέτες περίπτωσης
- Η συγκριτική αξιολόγηση
- Η ανταλλαγή και η μετάδοση γνώσεων, δεξιοτήτων και συμπεριφορών

Αναμενόμενα αποτελέσματα.

Νέες δομές και διεργασίες απαιτούνται, για να υλοποιηθούν καλύτερα μοντέλα φροντίδας των ηλικιωμένων. Αυτές είναι απαραίτητο να τις «μοιράζονται» όλοι οι ενδιαφερόμενοι εταίροι στην υγεία, ώστε να καταστεί δυνατή η καινοτομία στην παροχή φροντίδας υγείας στη Ευρωπαϊκή Ένωση. Το πρόγραμμα SIMPATHY εντοπίζει και ασχολείται με τις ανησυχίες και τα ζητήματα διαφορετικών φορέων/εταίρων αναφορικά με κοινούς στόχους (για διαφορετικούς ενδιαφερομένους), κοινές αξίες (συμπεριφορές) και κοινά αποτελέσματα (για να υπάρξει η απαραίτητη πίεση στο σύστημα να διευκολύνει την αλλαγή). Η στοχευμένη επικοινωνία με βασικούς εταίρους βρίσκεται στην «καρδιά» του προγράμματος SIMPATHY, ώστε να συμπεριλάβει όλο το φάσμα των διαύλων και μηχανισμών που υποστηρίζουν την απαραίτητη αλλαγή στο όραμα τους και την δυνατότητα να απαντά σε όλους τους εταίρους, στο θέμα της διαχείρισης της πολυφαρμακίας. Τόσο Ευρωπαίοι διαμορφωτές πολιτικών όσο και υγειονομικοί χρειάζεται να εμπλακούν, ώστε να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά η πολυφαρμακία και η συμμόρφωση στην θεραπευ-

τική αγωγή των χρόνιων ασθενών. Η πολυφαρμακία είναι μεγάλη πρόκληση για ασθενείς με χρόνιες νόσους και πολύπλοκες ανάγκες. Η επέκταση της «ομάδας φροντίδας» θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει πολλαπλούς συντελεστές: ασθενείς, φροντιστές, κοινοτικές υπηρεσίες, Μη Κυβερνητικές Οργανώσεις (ΜΚΟ), υγειονομικούς, διαμορφωτές πολιτικών υγείας κι άλλους σχετικούς εταίρους. Η βελτιστοποίηση της θεραπείας, με την μείωση της μη κατάλληλης πολυφαρμακίας, μέσα από την συνεργασία όλων, είναι δυνατόν να οδηγήσει σε καλύτερη διαχείριση της χρόνιας νόσου, μείωση των εισαγωγών σε νοσηλευτικά ιδρύματα, βελτίωση της ποιότητας ζωής και περισσότερο ασφαλή και βιώσιμα συστήματα υγείας στην Ε.Ε.

Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με το SIMPATHY, είναι διαθέσιμες στον επίσημο ιστόχωρο του προγράμματος (www.simpathy.eu). Το πρόγραμμα SIMPATHY λαμβάνει χρηματοδότηση από το Πρόγραμμα για την Υγεία (2014-2020) της Ευρωπαϊκής Ένωσης, για την περίοδο Ιούνιος 2015-Μάιος 2017.

Για την Ελλάδα, υπεύθυνοι του έργου είναι ο **Δρ. Θεόδωρος Βοντετσιάνος, MD, PhD**, Διευθυντής Πνευμονολόγος Ε.Σ.Υ. Υπεύθυνος της Μονάδας Ηλεκτρονικής Υγείας και Καινοτομίας, 1η Υ.ΠΕ.Αττικής, και η **Δρ. Μαίρη Κοντούλη - Γείτονα**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οικονομικών της Υγείας στο Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου. □

Distinctions of Greek young scientists

The treasurer of the Hellenic Society of Medicinal Chemistry (HSMC), Assistant Professor **Grigoris Zoidis** was selected by the MedChemComm team at Royal Society of Chemistry and contributed with a research article in MedChemComm special issue "New Talents: Europe". His article entitled "Novel indole-flutimide heterocycles with activity against influenza PA endonuclease and hepatitis C virus" co-authored by Grigoris Zoidis, Erofil Giannakopoulou, Annelies Stevaert, Efseveia Frakolaki, Vassilios Myrianthopoulos, George Fytas, Penelope Mavromara, Emmanuel Mikros, Ralf Bartenschlager, Niki Vassilaki and Lieve Naesens, has been highlighted by the reviewers as being particularly interesting and significant research and was selected as MedChemComm 2016 HOT article. In addition, the same article has been selected as the outside front cover of the special issue "New Talents: Europe" (see below).

The article can be accessed via the link <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2016/MD/C5MD00439J>





Ζωή Παπαδοπούλου Νταϊφώτη Το τέλος των ευπατρίδων?

Η Ζέτα Νταϊφώτη ανεδείχθη σ'όλες τις βαθμίδες της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών με συνέπεια και επιμέλεια στην αναζήτηση της γνώσης και μόνο.

Καθ' όλη την επιστημονική της πορεία επέδειξε στοχευόμενο επαγγελματισμό βοηθώντας τους συναδέλφους της, τους εν γενέσει αλλά και τους νέους επιστήμονες.

Φρόντισε με τις υπάρχουσες δυνατότητες να αξιοποιήσει το δυναμικό του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας χωρίς να επηρεάζεται από προσωπικές προτιμήσεις.

Σε δύσκολες εποχές με δυναμικότητα, θάρρος και ευγένεια κατόρθωσε να προσεγγίσει το «αδύνατον» να συμμετάσχει ενεργά στην ίδρυση της Εταιρείας Φαρμακολογίας και να επιτύχει σοβαρές μεταρρυθμίσεις στην εξέλιξη μελών ΔΕΠ της πανεπιστημιακής κοινότητας, δημιουργώντας προϋποθέσεις για την νέα γενιά.

Ανανέωσε τον εξοπλισμό του Εργαστηρίου, τα πληροφοριακά συστήματα και προσπάθησε να θεσπίσει «ηθική» στον χειρισμό των πειραματοζώων.

Συμμετείχε σε σειρά δραστηριοτήτων στην αξιοποίηση βραβείων αριστείας σύμφωνα με ανοικτές διαδικασίες και χωρίς επιδράσεις μειοψηφίας.

Εκτός από Ιδρυτικό μέλος στην Ελληνική Εταιρία Φαρμακολογίας, η Καθ. Ζέτα Παπαδοπούλου-Νταϊφώτη ήταν ιδρυτικό μέλος στην Ελληνική Εταιρία για τις Νευροεπιστήμες, στο Κολλέγιο Εκπαίδευσης, Έρευνας, Πρόληψης και Θεραπείας Ψυχιατρικών Διαταραχών, Επίτιμο μέλος στο Ινστιτούτο Βιολογίας

και Ιατρικής του Στρες και Ιδρυτικό μέλος και μέλος του ΔΣ της Ελληνικής Εταιρίας Γυναικών Πανεπιστημιακών. Μέσα από τις δραστηριότητες της ΕΛΕ-ΓΥΠ, του δικτύου Περικτιόνη και του θεσμού L'Oreal - Unesco, στον οποίο συμμετείχε ενεργά, άνοιξε τους ορίζοντες στις γυναίκες συναδέλφους του ΕΚΠΑ. Άλλωστε, το ερευνητικό της έργο αφορούσε στις διαφορές του φύλου, στο στρες στην κατάθλιψη και στη φαρμακοθεραπεία. Μέσω αυτού ανέδειξε τις ιδιαιτερότητες των δύο φύλων στην απάντηση στα θεραπευτικά σχήματα. Η ποιότητα του ερευνητικού της έργου φαίνεται από τις 100 δημοσιεύσεις τις οποίες είχε σε έγκριτα, διεθνή επιστημονικά περιοδικά και πάνω από 2300 αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία.

Παρόλη τις μειωμένες δυνατότητες πρόσληψης νέων επιστημόνων κατόρθωσε να ανανεώσει ικανοποιητικά το δυναμικό του Εργαστηρίου. Σαν δάσκαλος παραδειγματικά αντιμετώπισε τόσο τη φοιτητική κοινότητα όσο και τους νέους επιστήμονες.

Προσπάθησε να προβλέψει την εύρυθμη λειτουργία του εργαστηρίου και μετά την αποχώρησή της λόγω συνταξιοδότησης, ευοδώνοντας εκ τω έσω τις εξελίξεις των μελών ΔΕΠ. Μετά την αποχώρησή της δεν αναμείχθηκε στις δραστηριότητες της νέας διεύθυνσης.

Απετέλεσε το πρότυπο δασκάλου με ακαδημαϊκών ήθος, σταθμού πηγής γνώσης, συνεχούς αναζήτησης, εξέλιξης, προώθησης και αξιοποίησης της νέας γενιάς επιστημόνων.

Η απώλεια της παρουσίας της είναι ένα πλήγμα για όλους μας. □

Χριστίνα Τεσσερομμάτη

Καθηγήτρια Φαρμακολογίας
Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Στη μνήμη της Ζέτας

Η συντακτική επιτροπή της 'Φαρμακευτικής' εκφράζει τη βαθιά της θλίψη για την πρόωρη απώλεια της εκλεκτής συναδέλφου και φίλης Ζωής (Ζέτας) Παπαδοπούλου -Νταϊφώτη. Οι υπογράφωντες γνωρίσαμε τη Ζέτα ήδη από την εποχή που για στα πλαίσια της διδακτορικής της διατριβής εργαζόταν στο Εργαστήριο Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής. Ελεύθερο και δημιουργικό πνεύμα από τότε, μας χάρισε τη φιλία της- αν και σε διαφορετικούς χώρους αργότερα, δεθήκαμε και πορευτήκαμε μαζί όλα αυτά τα χρόνια, ήταν η γενιά μας, μια γενιά που τόλμησε, η Ζέτα που τόλμησε, που ανάδειξε ότι ανεξάρτητα από τους όποιους νόμους, το Πανεπιστήμιο προχωρά και εξελίσσεται χάρη στους ανθρώπους του. Και η Ζετα ανήκε σε αυτούς.

Το πλούσιο έργο και η προσφορά της Ζέτας στον επιστημονικό και κοινωνικό τομέα επισημαίνονται από τη συνάδελφο Καθηγήτρια Φαρμακολογίας Χριστίνα Τεσσερομμάτη. Στο σημείωμα αυτό είναι χρέος μας να προσθέσουμε την ανεκτίμητη προσφορά της Ζέτας στο φαρμακευτικό χώρο ει-

δικότερα, όπου ήταν παρούσα από την αρχή της σταδιοδρομίας της.

Επί χρόνια δίδασκε το μάθημα της Φαρμακολογίας, ειδικά μαθήματα επιλογής και μεταπτυχιακά μαθήματα στο Τμήμα Φαρμακευτικής, είχε ενεργή συμμετοχή στα Πανελλήνια Φαρμακευτικά Συνέδρια ήδη από τις πρώτες διοργανώσεις (Πρόεδρος, Αντιπρόεδρος, μέλος Επιστημονικής Επιτροπής), υπήρξε ιδρυτικό μέλος και τ. Αντιπρόεδρος της Ελληνικής Εταιρείας Φαρμακοχημείας, τ. Αντιπρόεδρος του Τμήματος Φαρμακοχημείας της Ένωσης Ελλήνων Χημικών, μέλος της Ελληνικής Φαρμακευτικής Εταιρείας. Τέλος, εξ ίσου σημαντική ήταν η προσφορά τη Ζέτας ως μέλος της Συντακτικής Επιτροπής του περιοδικού που κρατάτε στα χέρια σας, της 'Φαρμακευτικής' την οποία στήριξε ιδιαίτερα στα πρώτα της βήματα.

Ζέτα, η σκέψη μας θα είναι κοντά σου. Θα μας λείψεις, μας λείπεις ήδη...

Καλό σου ταξίδι

**Αννα Τσαντίλη,
Παναγιώτης Μαχαίρας**

ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ | MEETINGS

24-27 APRIL 2016

OESTGEEST (NEAR LEIDEN), THE NETHERLANDS

12th EFMC Short Course on Medicinal Chemistry: Modulation of Enzymes; Epigenetics and Beyond

http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238916175&cle_data=1360153452

11-13 MAY 2016

BERLIN, GERMANY

European Pharma Summit 2016

<https://www.gtcbio.com/conferences/european-pharma-summit-overview>

12-14 MAY 2016

PARIS, FRANCE

22th EAFP Annual Conference Post Graduate studies in Pharmacy Education

<http://eafponline.eu/conferences/conference2016/>

13-14 ΜΑΪΟΥ 2016

ΠΟΛΕΜΙΚΟ ΜΟΥΣΕΙΟ, ΑΘΗΝΑ

6ο Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας, Μετρολογία 2016

[metrologia2016congress\[at\]gmail\[dot\]com](mailto:metrologia2016congress[at]gmail[dot]com)

15-19 MAY 2016

CAMERINO, ITALY

33rd Camerino-Cyprus Symposium : "Receptor Chemistry: Reality and Vision"

<http://www.unicam.it/farmacia/symposium/welcome.htm>

13-15 JUNE 2016

THE MARMARA HOTEL, ISTANBUL, TURKEY

EUFEPS Annual Meeting: Clinical Outcome and Regulation of Advanced Drug Delivery Products

<http://eufepsannualmeeting.org/>

22-24 JUNE 2016

AIGLI ZAPPIOU ATHENS, GREECE

2nd International Congress of the Greek Local Chapter - Controlled Release Society (CRS)

Congress Website: www.afea.gr/crscongress

26 JUNE 26 - 1 JULY 2016

URBINO, ITALY

European School of Medicinal Chemistry (ESMEC) EFMC Accredited School

<http://www.esmec.eu/>

ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ | MEETINGS

3-7 JULY 2016

AARHUS · DENMARK

EUROMAR 2016 -

<http://www.euromar2016.org/>

6-8 JULY 2016

CAEN, FRANCE

RICT 2016 - Interfacing Chemical Biology and Drug Discovery

52nd International Conference on Medicinal Chemistry

<http://www.rict2016.org>

28 AUGUST 28 - 1 SEPTEMBER 2016

**BRNO, CZECH REPUBLIC
(CTB 2016 BRNO)**

8th Central European Conference "Chemistry towards Biology",

<https://sites.google.com/site/ctb2016brno/>

28 AUGUST - 1 SEPTEMBER 2016

MANCHESTER, UK

XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMC 2016)

http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238915829

4-8 SEPTEMBER 2016

VERONA, ITALY

21st European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationship

Where Molecular Simulations Meet Drug Discovery

<http://www.euroqsar2016.org>

21-23 SEPTEMBER 2016

RIMINI, ITALY

SSPA (Summer School on Pharmaceutical Analysis) Advanced Analytical Methodologies
for Biotechnological and Biological Medicinal Products

<http://users2.unimi.it/SSPA/>

9-12 OCTOBER 2016

VIENNA, AUSTRIA

SPICA 2016

16th International Symposium on Preparative and Industrial Chromatography and Allied Techniques

www.spica2016.org



From vision to reality...

- Sponsorship
- Website & Digital Marketing
- Graphic Design
- Congress Organization
- Scientific Journals
- Financial Organization
- Media Office
- Travel Services

We've made it a science!

www.zita-management.com

CONTACT





11-12
ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΥ 2017
ΖΑΠΕΙΟΝ ΜΕΓΑΡΟ

ΔΙΑΤΡΟΦΗ | ΥΓΕΙΑ | ΟΜΟΡΦΙΑ
Ω FORUM 2017

Το μεγαλύτερο **Διαδραστικό, Επιστημονικό και Εκθεσιακό Forum** της χρονιάς για την **διατροφή, υγεία και ομορφιά**

ΔΙΟΡΓΑΝΩΣΗ

17 Επιστημονικές Εταιρείες



Γεράσιμος Κουλουμπής, Εμπορικός Διευθυντής ZITA GROUP

Τηλ.: +30 211 1001 780, Φαξ: +30 210 6642116, E-mail: g.kouloumpis@zita-management.com

ΜΕ ΕΝΔΕΙΞΗ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΔΟΝΤΙΚΟ ΠΟΝΟ¹

Το ARCOXIA[®] τώρα ενδείκνυται και για τη μικρής διάρκειας θεραπεία του μετεγχειρητικού μέτριου οδοντικού πόνου¹



**Για τη μικρής διάρκειας
θεραπεία του¹**

**Μετεγχειρητικού
Μέτριου Οδοντικού Πόνου**

**90mg μια φορά την ημέρα
μέγιστη διάρκεια 3 ημέρες.**

Η απόφαση για να συνταγογραφηθεί ένας εκλεκτικός COX-2 αναστολέας θα πρέπει να βασίζεται στην εκτίμηση των συνολικών ατομικών κινδύνων του ασθενούς.¹

Δόσεις υψηλότερες από αυτές που συνιστώνται για κάθε ένδειξη είτε δεν έχουν εμφανίσει επιπρόσθετη αποτελεσματικότητα ή δεν έχουν ακόμα μελετηθεί. Λόγω των καρδιαγγειακών κινδύνων, πρέπει να χορηγείται η χαμηλότερη αποτελεσματική ημερήσια δόση του ARCOXIA για τη μικρότερη δυνατή διάρκεια θεραπείας.¹

Πριν τη συνταγογράφηση του ARCOXIA[®], συμβουλευθείτε την περίληψη χαρακτηριστικών του προϊόντος για αντενδείξεις, προειδοποιήσεις, προφυλάξεις και ανεπιθύμητες ενέργειες.

Βιβλιογραφία: 1. Arcoxia GRSPC



BIANEE Α.Ε. ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΦΑΡΜΑΚΩΝ
ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΤΟΥ ΟΜΙΛΟΥ ΓΙΑΝΝΑΚΟΠΟΥΛΟΥ

LICENSEE/DISTRIBUTOR OF **MERCK SHARP & DOHME**, Division of MERCK & Co., Inc., Whitehouse Station, N.J., USA.

Γραφεία Επιστημονικής Ενημέρωσης

ΑΘΗΝΑ: Οδός Τατοΐου 146 71 Ν. Ερυθραία, Τηλ.: 210 8009111 • **E-Mail:** mailbox@vianex.gr • **INTERNET:** <http://www.vianex.gr> • **ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ:** Ακάδημου 113, Κόμβος Μακρυγιάννη, Εύοσμος Θεσσαλονίκης, ΤΚ 56224, Τηλ: 2310 861683 • **ΠΑΤΡΑ:** Μαιζώνος 131, Τηλ: 2610 221397

† Registered Trademark of Merck & Co., Inc., of Whitehouse Station New Jersey, U.S.A. & used under licence from MERCK & Co., INC.