

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ  
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΠΑΡΘΕΝΑΚΗΣ ΦΡΑΓΚΙΣΚΟΣ**



**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**  
**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΣΥΓΧΡΟΝΗΣ ΚΟΙΛΙΑΚΗΣ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ**  
**ΜΟΝΙΜΗ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΟΡΥΦΗ ΤΗΣ**  
**ΔΕΞΙΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ**  
**ΑΡΙΣΤΕΡΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ: ΠΡΟΒΛΕΠΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ**  
**ΚΟΙΛΙΑΚΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ**

**ΑΡΚΟΛΑΚΗ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ**  
**ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2018**

Στους αγαπημένους μου γονείς Αργυρώ και Γιώργο  
που με την τρυφερή τους ενθάρρυνση  
βρίσκονται πίσω από κάθε επιτυχία μου.

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΗΜΑΝΤΗΡΑΚΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ**

**ΣΥΝΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΕΣ ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ: ΠΑΡΘΕΝΑΚΗΣ ΦΡΑΓΚΙΣΚΟΣ  
ΚΟΧΙΑΔΑΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ**

**ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: ΑΝΤΩΝΙΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ  
ΓΚΙΚΑΣ ΑΧΙΛΛΕΑΣ  
ΣΚΑΛΙΔΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ  
ΧΛΟΥΒΕΡΑΚΗΣ ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή σχεδιάστηκε, εκπονήθηκε και ολοκληρώθηκε στην Καρδιολογική κλινική του Πανεπιστημιακού νοσοκομείου Ηρακλείου με επιβλέποντα καθηγητή τον καθηγητή Σημαντηράκη Εμμανουήλ.

Σκοπός της διατριβής ήταν η μελέτη των δυσμενών επιπτώσεων της βηματοδότησης από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας και η αναζήτηση προβλεπτικών δεικτών επιδείνωσης της καρδιακής λειτουργίας μετά από μόνιμη τεχνητή βηματοδότηση, καθώς εάν έχουμε τη δυνατότητα να προβλέψουμε σε ποιούς ασθενείς θα επηρεαστεί δυσμενώς η λειτουργία της αριστεράς κοιλίας, θα είμαστε σε θέση να επιλέξουμε εναλλακτικές θέσεις βηματοδότησης.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον καθηγητή μου Σημαντηράκη Εμμανουήλ που από τα πρώτα βήματα μου στην ειδικότητα της Καρδιολογίας προσπάθησε να μου μεταλαμπαδεύσει όλη την αγάπη και το πάθος του για την έρευνα και τη γνώση. Τα χρόνια που πέρασα δίπλα του ήταν πολύτιμη πηγή επιστημονικών εμπειριών και το θεωρώ τιμή μου ότι μπορώ σήμερα να τον θεωρώ πνευματικό μου πατέρα.

Πολλές ευχαριστίες οφείλω επίσης και στους υπόλοιπους καθηγητές της κλινικής μας τους καθηγητές Παρθενάκη Φραγκίσκο, Κοχιαδάκη Γεώργιο και Σκαλίδη Εμμανουήλ, καθώς και τον καθηγητή Χλουβεράκη Γρηγόριο για την πολύτιμη συμβολή του.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον συνοδοιπόρο μου στη ζωή Παπαδαντωνάκη Παύλο για την στήριξη του ηθική και ουσιαστική στην ολοκλήρωση αυτής της διατριβής.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ.....	σελ.3
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	σελ.4
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	σελ.5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ.....	σελ.9
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ (SUMMARY).....	σελ.12
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	σελ.14
Εισαγωγή.....	σελ.14
Αιμοδυναμικές επιπτώσεις της βηματοδότησης από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας.....	σελ.14
Βηματοδότηση και ασύμμετρη υπερτροφία αριστερής κοιλίας.....	σελ.16
Μυοκαρδιακή αιμάτωση σε βηματοδοτημένους ασθενείς.....	σελ.16
Μεταβολές στην αδρενεργική νεύρωση του μυοκαρδίου μετά από μόνιμη τεχνητή βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας.....	σελ.18
Διάφορες άλλες διαταραχές.....	σελ.20
ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΠΑΘΕΙΑ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΗ. (PICM).....	σελ.20
Συχνότητα εμφάνισης.....	σελ.20
Παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση PICM.....	σελ.21
Ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης και κίνδυνος εμφάνισης PICM.....	σελ.22
Ρόλος του εύρους του βηματοδοτικού QRS στην ανάπτυξη PICM.....	σελ.23
ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ.....	σελ.24
Εμβρυικό γονιδιακό πρόγραμμα.....	σελ.24
Αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων μετά από μόνιμη τεχνητή βηματοδότηση.....	σελ.24

Βιβλιογραφία γενικού μέρους.....	σελ.28
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	σελ.37
ΚΕΦ. 1- Μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με την συστολική λειτουργία και υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας σε ασθενείς με μόνιμη βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας.....	σελ.37
Σκοπός της μελέτης.....	σελ.37
Μεθοδολογία.....	σελ.38
Σχεδιασμός της μελέτης.....	σελ.38
Πληθυσμός της μελέτης.....	σελ.38
Υπερηχοκαρδιογραφία.....	σελ.39
Έκφραση γονιδίων-Απομόνωση RNA και ποσοτική RT-PCR.....	σελ.40
Στατιστική ανάλυση.....	σελ.41
Αποτελέσματα.....	σελ.41
Χαρακτηριστικά ασθενών.....	σελ.42
Μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων.....	σελ.42
Μεταβολές στις υπερηχογραφικές παραμέτρους/λειτουργικότητα και γεωμετρία της αριστεράς κοιλίας.....	σελ.43
Συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών στην έκφραση των γονιδίων και της αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας.....	σελ.43
Συζήτηση.....	σελ.44
Έκφραση μυοκαρδιακών γονιδίων και καρδιακή ανεπάρκεια.....	σελ.45
Περιορισμοί μελέτης.....	σελ.47
Συμπεράσματα.....	σελ.48
Πίνακες.....	σελ.50

Διαγράμματα.....	σελ.54
Βιβλιογραφία.....	σελ.58
ΚΕΦ. 2- Η επίδραση του εύρους του βηματοδοτικού QRS στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη συστολική λειτουργικότητα της αριστεράς κοιλίας σε ασθενείς μόνιμα βηματοδοτημένους από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας.....	σελ.61
Σκοπός της μελέτης.....	σελ.61
Μεθοδολογία.....	σελ.62
Σχεδιασμός της μελέτης.....	σελ.62
Πληθυσμός της μελέτης.....	σελ.62
Υπερηχοκαρδιογραφία.....	σελ.63
Έκφραση γονιδίων-Απομόνωση RNA και ποσοτική RT-PCR.....	σελ.64
Στατιστική ανάλυση.....	σελ.65
Αποτελέσματα.....	σελ.66
Χαρακτηριστικά ασθενών.....	σελ.66
Μεταβολές στην έκφραση του γονιδίου SERCA.....	σελ.66
Συσχέτιση μεταξύ του εύρους του QRS μετά την εμφύτευση και της έκφρασης του γονιδίου SERCA.....	σελ.67
Συσχέτιση μεταξύ του εύρους του QRS μετά την εμφύτευση και της λειτουργικότητας/διαστάσεων της αριστεράς κοιλίας.....	σελ.67
Συζήτηση.....	σελ.68
Περιορισμοί μελέτης.....	σελ.72
Συμπεράσματα.....	σελ.72
Πίνακες.....	σελ.73
Διαγράμματα.....	σελ.76

Βιβλιογραφία.....	σελ.79
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ (ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ).....	σελ.82
Δημοσιεύσεις σε ξενόγλωσσα περιοδικά του Medline/Pubmed.....	σελ.82
Ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια.....	σελ.83
Ανακοινώσεις σε ελληνικά συνέδρια.....	σελ.84
ΑΝΑΤΥΠΑ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΩΝ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΩΝ.....	σελ.85



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η καρδιακή βηματοδότηση αποτελεί αναμφισβήτητα τη μόνη αποτελεσματική θεραπεία για την αντιμετώπιση της συμπτωματικής βραδυκαρδίας. Εισάγει ωστόσο ηλεκτρικό και μηχανικό δυσυγχρονισμό που σε σημαντικό ποσοστό ασθενών μπορεί να οδηγήσει σε ασύγχρονη κοιλιακή σύσπαση, μειωμένη συσταλτική λειτουργικότητα, διαστολική δυσλειτουργία, διάταση της αριστεράς κοιλίας με ασύμμετρη υπερτροφία, περιοχικές διαταραχές στην αιμάτωση και την κατανάλωση οξυγόνου, αυξημένο συμπαθητικό τόνο και διαταραχές στην έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται με την ομοιόσταση του ασβεστίου και την κοιλιακή συστολή. Η συχνότητα εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση (PICM) ποικίλει σε διάφορες μελέτες από 3% ετησίως έως και 26% μετά από μακροχρόνια παρακολούθηση. Έχουν ενοχοποιηθεί αρκετοί παράγοντες για την εμφάνιση PICM που είτε σχετίζονται με τον ασθενή όπως η ύπαρξη κολπικής μαρμαρυγής κατά την εμφύτευση, διαταραχών στην κολποκοιλιακή ή ενδοκοιλιακή αγωγή, το χαμηλό κλάσμα εξώθησης και η παρουσία στεφανιαίας νόσου ή καρδιακής ανεπάρκειας είτε σχετίζονται με τη βηματοδότηση όπως είναι το είδος της βηματοδότησης και η θέση του βηματοδοτικού καλωδίου, το εύρος του βηματοδοτικού QRS, το ποσοστό της κοιλιακής βηματοδότησης καθώς και η διάρκεια της βηματοδότησης.

Κατά την εμβρυική ζωή ο μεταβολισμός του μυοκαρδίου βασίζεται στην καύση υδρογονανθράκων για την παραγωγή ενέργειας. Φυσιολογικά μετά τον τοκετό πραγματοποιείται στροφή στην οξείδωση των λιπαρών οξέων και η αλλαγή αυτή συνοδεύεται από έκφραση “ενήλικων” ισομορφών μεταβολικών ενζύμων και άλλων μυοκαρδιακών πρωτεϊνών. Ωστόσο, καταστάσεις αιμοδυναμικού ή μεταβολικού στρες όπως η καρδιακή ανεπάρκεια επαναενεργοποιούν το λεγόμενο “εμβρυικό γονιδιακό πρόγραμμα”. Το εμβρυικό γονιδιακό πρόγραμμα εκτός από τη στροφή στην καύση των υδρογονανθράκων περιλαμβάνει την έκφραση άλλων ισομορφών πολλών πρωτεϊνών είτε μεταβολικών ενζύμων είτε πρωτεϊνών του σαρκομερίου όπως οι βαριές αλυσίδες της μυοσίνης και  $\alpha$ -ακτίνης.

Υποθέσαμε ότι η βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολές στην έκφραση μυοκαρδιακών γονιδίων που προηγούνται της επιδείνωσης της λειτουργικότητας και της γεωμετρίας της αριστεράς κοιλίας οι οποίες γίνονται εμφανείς υπερηχογραφικά ή κλινικά σε πολύ μεταγενέστερο στάδιο. Επομένως, ο στόχος της μελέτης μας ήταν να ανιχνεύσει πρώιμες μεταβολές στο περιφερικό αίμα στην έκφραση επιλεγμένων γονιδίων που σχετίζονται με την συσταλτικότητα της αριστεράς κοιλίας ασθενών με διατηρημένη λειτουργικότητα που υποβλήθηκαν σε μακροχρόνια βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας.

Στη μελέτη συμμετείχαν 52 ασθενείς με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης που υποβλήθηκαν σε εμφύτευση μόνιμου τεχνητού βηματοδότη λόγω βραδυκαρδικών ενδείξεων. Η ομάδα A συμπεριέλαβε 24 ασθενείς που βηματοδοτήθηκαν λόγω διαταραχών κολποκοιλιακής αγωγιμότητας, ενώ η ομάδα B 28 ασθενείς με σύνδρομο νοσούντος φλεβοκόμβου. Στην ομάδα A, τα επίπεδα m-RNA στο περιφερικό αίμα του γονιδίου Ca-ATP-άση του σαρκοπλασματικού δικτύου (SERCA) μειώθηκαν στους 3, 6 και 12 μήνες παρακολούθησης, ενώ τα επίπεδα m-RNA στο περιφερικό αίμα του γονιδίου για την βαρεία αλυσίδα της α-μυοσίνης (α-MHC) μειώθηκαν και του γονιδίου για την βαρεία αλυσίδα της β-μυοσίνης (β-MHC) αυξήθηκαν μέχρι τον 6ο μήνα παρακολούθησης. Σε αυτήν την ομάδα, το 25% των ασθενών παρουσίασαν σημαντική αρνητική αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας. Μετά από 4 χρόνια παρακολούθησης η τελοσυστολική διάμετρος της αριστεράς κοιλίας αυξήθηκε από  $29.67 \pm 3.39$  mm κατά τη στιγμή της εμφύτευσης σε  $35.38 \pm 4.22$  mm, η τελοδιαστολική διάμετρος αυξήθηκε από  $50 \pm 4.95$ mm σε  $56.71 \pm 5.52$ mm και το κλάσμα εξώθησης μειώθηκε από  $63.04 \pm 10.22\%$  σε  $52.83 \pm 10.81\%$ . Πρώιμες μεταβολές που παρατηρήθηκαν στην έκφραση των γονιδίων στο περιφερικό αίμα, σχετίστηκαν με επιδείνωση στην λειτουργικότητα και γεωμετρία της αριστεράς κοιλίας που έγινε εμφανής μήνες αργότερα. Στην ομάδα B, δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές τόσο στους υπερηχογραφικούς δείκτες όσο και στην έκφραση των γονιδίων.

Με βάση τα ευρήματα της μελέτης η μόνιμη βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς

κοιλίας σε ασθενείς με διατηρημένη λειτουργικότητα σχετίζεται με μεταβολές στο περιφερικό αίμα στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την συσταλτικότητα και την υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας. Αυτές οι μεταβολές είναι ανιχνεύσιμες σε πρώιμο στάδιο, πριν γίνουν εμφανείς οι μεταβολές στους υπερηχογραφικούς δείκτες και σχετίζονται με αρνητική αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας που γίνεται εμφανής σε μεταγενέστερο στάδιο.

## SUMMARY

Cardiac pacing is indisputably the only effective treatment for symptomatic bradycardia. However, right ventricular apical pacing has proven to induce electrical and mechanical dyssynchrony leading to asynchronous ventricular contraction, diastolic dysfunction, alterations in regional mechanical function and loading, myocardial perfusion and autonomic innervation and alterations in the expression of genes regulating myocardial contraction and hypertrophy. In a substantial percentage of paced patients the aforementioned adverse effects result in developing pacemaker induced cardiomyopathy (PICM), the incidence of which ranges from 3% annually to 26% after long-term follow up. Its prevalence depends on the interactions between numerous factors either patient-specific or pacing-related. Patient-specific factors comprise the presence of intrinsic AV and ventricular conduction disturbances, baseline atrial rhythm, left ventricular ejection fraction (EF), presence of heart failure (HF) and/or coronary artery disease (CAD) at the time of implantation. Pacing-related factors include the mode of pacing, site of ventricular lead, duration of paced QRS, percentage of ventricular pacing and duration of pacing.

Before birth, cardiac metabolism is based on carbohydrates for energy provision. However, post-natal energy substrate metabolism switches to fatty acid oxidation and to the expression of “adult” isoforms of metabolic enzymes and myocardial proteins. In conditions of hemodynamic or metabolic stress the post-natal heart returns to the so-called “fetal gene program” which includes the preference of carbohydrates over fatty acids as substrates for energy provision and an isoform switch of many proteins including metabolic enzymes and sarcomeric proteins.

We hypothesized that right ventricular apical pacing may induce alterations in the expression of myocardial genes that precede deterioration of myocardial function and geometry of the left ventricle. Therefore, the aim of our study was to assess early changes in the expression of certain genes related to contractile apparatus and excitation-contraction coupling proteins, in peripheral

blood cells of patients with preserved left ventricular function, who underwent long-term right ventricular apical pacing.

We enrolled 52 consecutive patients with preserved ejection fraction who underwent pacemaker implantation for bradycardic indications. Group A consisted of 24 individuals with atrioventricular conduction disturbances and group B of 28 patients with sinus node disease. In group A, peripheral blood mRNA levels of the gene sarcoplasmic reticulum calciumATPase decreased at 3, 6, and 12 months' follow-up, while  $\alpha$ -myosin heavy chain (MHC) decreased and  $\beta$ -MHC increased until 6 months follow-up. In this group, 25% of patients demonstrated significant LV remodelling. At 4 years, LV end-systolic diameter increased from  $29.67 \pm 3.39$  mm at baseline to  $35.38 \pm 4.22$  mm, LV end-diastolic diameter increased from  $50 \pm 4.95$  to  $56.71 \pm 5.52$  mm and ejection fraction declined from  $63.04 \pm 10.22$  to  $52.83 \pm 10.81\%$ . Early alterations in gene expression were associated with a deterioration in LV function and geometry that became apparent months later. In group B, echocardiographic indexes and mRNA levels of the evaluated genes demonstrated no statistically significant changes.

According to the findings of our study, permanent RVA pacing in patients with preserved ejection fraction is associated with alterations in the expression of genes regulating LV contractile function and hypertrophy, measured in the peripheral blood. These alterations are traceable at an early stage, before echocardiographic changes are apparent and are associated with LV remodelling that becomes evident in the long term.

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η καρδιακή βηματοδότηση αποτελεί αναμφισβήτητα τη μόνη αποτελεσματική θεραπεία για την αντιμετώπιση της συμπτωματικής βραδυκαρδίας. Εξάλλου, η κορυφή της δεξιάς κοιλίας αποτελεί την πιο συχνή επιλογή για την εμφύτευση του κοιλιακού ηλεκτροκαθετήρα καθώς είναι μια θέση εύκολα προσβάσιμη, σταθερή και με χαμηλούς ουδούς βηματοδότησης.

Είναι ωστόσο επίσης γνωστό ότι η βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας εισάγει ηλεκτρικό και μηχανικό δυσγχορονισμό καθώς παράγεται ένα ηλεκτρικό ερέθισμα σε έκτοπη θέση- εκτός του ερεθισματογωγού συστήματος- με χαμηλές ταχύτητες μετάδοσής του από μυοκαρδιακή ίνα σε μυοκαρδιακή ίνα.

Πολλές μελέτες έχουν εστιάσει στις αρνητικές επιπτώσεις της βηματοδότησης από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας που οδηγεί σε ασύγχρονη κοιλιακή σύσπαση με αποτέλεσμα μειωμένη συσταλτική λειτουργικότητα, διαστολική δυσλειτουργία, διάταση της αριστεράς κοιλίας με ασύμμετρη υπερτροφία, περιοχικές διαταραχές στην αιμάτωση και την κατανάλωση οξυγόνου, αυξημένο συμπαθητικό τόνο, διαταραχές στην ιστοπαθολογία με αποδιοργάνωση μιτοχονδρίων και μυοϊνιδίων και διαταραχή στην έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται με την ομοιόσταση του ασβεστίου και την κοιλιακή συστολή.<sup>1-11</sup>

### ΑΙΜΟΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΟΡΥΦΗ ΤΗΣ ΔΕΞΙΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ

Ήδη από το 1925 ο Wiggers αναγνώρισε τη σημασία της φυσιολογικής ηλεκτρικής διέγερσης για την απόδοση της καρδιακής λειτουργίας χορηγώντας έκτοπα ηλεκτρικά ερεθίσματα.<sup>12</sup>

Μεταγενέστερα, το 1968 οι Kosowsky et al.<sup>13</sup> περιέγραψαν τη μείωση της καρδιακής απόδοσης μετά από βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας, κάτι που δε συνέβαινε σε βηματοδότηση από το δεμάτιο του His (που διατηρεί την φυσιολογική οδό μετάδοσης του ερεθίσματος). Μελέτες σε πειραματόζωα επιβεβαίωσαν τα επόμενα χρόνια τις παραπάνω παρατηρήσεις αποδεικνύοντας ότι το σημείο τοποθέτησης του κοιλιακού ηλεκτροκαθετήρα παίζει σημαντικό ρόλο στην αιμοδυναμική απόδοση της αριστεράς κοιλίας.<sup>14-18</sup>

Συγκεκριμένα, η πρόωμη διέγερση στις περιοχές κοντά στο βηματοδοτικό ηλεκτρόδιο οδηγεί σε βράχυνση των μυοκαρδιακών ιών στην πρόωμη συστολή και μειωμένη σύσπαση στην όψιμη συστολή με αποτέλεσμα μείωση στο συνολικό φορτίο έργου για τις πρώιμα διεγερμένες περιοχές. Αντίστροφα, οι περιοχές που είναι πιο απομακρυσμένες από το βηματοδοτικό ηλεκτρόδιο υφίστανται διάταση των μυοκαρδιακών ιών στην πρόωμη συστολή (λόγω της πρόωμης σύσπασης των πρώιμα διεγερμένων περιοχών) με αποτέλεσμα εντονότερη σύσπαση στην όψιμη συστολή άρα και αύξηση του συνολικού φορτίου έργου.<sup>19</sup> Επιπλέον, το γεγονός ότι όταν κάποιες περιοχές συσπώνται, κάποιες άλλες έχουν αυξημένη τάση έχει σαν αποτέλεσμα απώλεια μηχανικής ενέργειας που θα μπορούσε να συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη εξώθηση. Σαν αποτέλεσμα μειώνεται ο όγκος του παλμού, καθώς ενώ η συνολική διάρκεια της συστολής δεν μεταβάλλεται, αυξάνει η διάρκεια των ισοογκωτικών φάσεων με αποτέλεσμα μειωμένης διάρκειας εξώθηση.<sup>19</sup> Επομένως, κατά τη βηματοδότηση απαιτείται μεγαλύτερος τελοδιαστολικός όγκος αριστεράς κοιλίας για να επιτύχει τις ίδιες μεταβολές πιέσεων.<sup>20-22</sup> Έτσι, ενώ η μηχανική απόδοση του μυοκαρδίου μειώνεται, οι μυοκαρδιακές απαιτήσεις σε οξυγόνο αυξάνουν.<sup>23</sup> Επιπρόσθετα με αυτήν την "αρνητική ινότροπη δράση" η καρδιακή βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας μπορεί να επάγει ανεπάρκεια της μιτροειδούς βαλβίδας<sup>24-25</sup> καθώς και διαστολική δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας.<sup>16,26,27</sup>

## **ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΚΑΙ ΑΣΥΜΜΕΤΡΗ ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΑ ΑΡΙΣΤΕΡΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ**

Είναι γνωστό ότι το μυοκάρδιο προσαρμόζεται στις αλλαγές του καρδιακού φορτίου μεταβάλλοντας το μέγεθος των μυοκαρδιακών κυττάρων και τη σύσταση του εξωκυττάριου ιστού μέσω νευροορμονικών μηχανισμών.<sup>28-32</sup> Εξάλλου μελέτες σε πειραματόζωα απέδειξαν ότι η ασύγχρονη ηλεκτρική διέγερση που επάγεται από τη βηματοδότηση οδηγεί σε ασύμμετρη υπερτροφία του κοιλιακού τοιχώματος και διάταση της αριστεράς κοιλίας.<sup>22</sup>

Συγκεκριμένα σε μελέτη 8 σκύλων που βηματοδοτήθηκαν με ευρύ QRS  $133.8 \pm 25.2$  ms για 6 μήνες διαπιστώθηκε λέπτυνση του τοιχώματος με πρώιμη διέγερση ( $17 \pm 17\%$ ) σε σχέση με σκυλιά που δεν υπέστησαν βηματοδότηση, ενώ αντίθετα το τοίχωμα με την καθυστερημένη διέγερση παρουσίασε πάχυνση ( $39 \pm 13\%$ ). Επιπλέον η διάμετρος των μυοκαρδιακών κυττάρων ήταν μεγαλύτερη στις περιοχές με καθυστερημένη διέγερση ( $18 \pm 7\%$ ) σε σχέση με τις περιοχές με πρώιμη διέγερση. Όπως προαναφέρθηκε κατά τη βηματοδότηση παρατηρείται μείωση στο συνολικό φορτίο έργου για τις πρώιμα διεγερμένες περιοχές και αύξηση του συνολικού φορτίου έργου στις απομακρυσμένες. Σαν προσαρμογή σε αυτήν την αλλαγή μέσω νευροορμονικών και άλλων μηχανισμών παρατηρείται εκλεκτικά υπερτροφία του τοιχώματος στις όψιμα διεγυρόμενες περιοχές<sup>30,33</sup> που οφείλεται στην αύξηση της διαμέτρου των μυοκαρδιακών κυττάρων και την εναπόθεση μεσοκυττάριας ουσίας. Επιπλέον, η λέπτυνση των πρώιμα διεγερμένων περιοχών πιθανόν να οφείλεται και στην διάταση της αριστεράς κοιλίας.

## **ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΙΜΑΤΩΣΗ ΣΕ ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΗΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ**

Είναι γνωστό, ότι όπως ακριβώς συμβαίνει σε ασθενείς με αποκλεισμό αριστερού σκέλους, έτσι και οι ασθενείς με βηματοδοτικό ρυθμό μπορεί να παρουσιάζουν ελλείμματα πλήρωσης στην σπινθηρογραφική μελέτη αιμάτωσης του μυοκαρδίου απουσία στενώσεων από τα στεφανιαία



αγγεία.<sup>9,34-36</sup> Η ενδοφλέβια χορήγηση διπυριδαμόλης για φαρμακευτική αγγειοδιαστολή των στεφανιαίων φαίνεται να προσφέρει υψηλότερη ειδικότητα από την δοκιμασία κόπωσης.<sup>37-39</sup>

Σε μελέτη 105 ασθενών με χρόνια βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας χωρίς γνωστή στεφανιαία νόσο, οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε σπινθηρογράφημα μυοκαρδίου με δοκιμασία κόπωσης σε τάπητα και στεφανιογραφικό έλεγχο και με βάση τα αποτελέσματα χωρίστηκαν σε 4 ομάδες: φυσιολογικό σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου και φυσιολογική στεφανιογραφία, παθολογικό σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου και φυσιολογική στεφανιογραφία, φυσιολογικό σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου και παθολογική στεφανιογραφία, παθολογικό σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου και παθολογική στεφανιογραφία.<sup>36</sup>

Από τους 24 ασθενείς που παρουσίαζαν φυσιολογικό σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου και φυσιολογική στεφανιογραφία μόλις το 8% βηματοδοτούνταν πριν, κατά τη διάρκεια και μετά τη δοκιμασία κοπώσεως. Σε αντίθεση, από τους 14 ασθενείς που παρουσίαζαν παθολογικό σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου και φυσιολογική στεφανιογραφία η πλειοψηφία (78%) βηματοδοτούνταν πριν, κατά τη διάρκεια και μετά τη δοκιμασία κοπώσεως. Αυτοί οι ασθενείς παρουσίαζαν κυρίως αναστρέψιμα ελλείμματα πλήρωσης που εντοπιζόνταν στο κατώτερο/κατωτεροπλάγιο τοίχωμα (71%), στο κορυφαίο (50%) και στο πλάγιο/οπισθοπλάγιο τοίχωμα (28%) της αριστεράς κοιλίας. Με βάση τα ευρήματα της μελέτης η βηματοδότηση κατά τη διάρκεια της εξέτασης αυξάνει τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα στο σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου, μειώνοντας την ευαισθησία της εξέτασης.

Σε άλλη μελέτη 14 ασθενείς με φυσιολογικά στεφανιαία αγγεία υποβλήθηκαν σε σπινθηρογράφημα αιμάτωσης μυοκαρδίου με διπυριδαμόλη και καρδιακό καθετηριασμό και συγκρίθηκαν με 8 άτομα που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου.<sup>40</sup> Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 3 ομάδες: εκείνους με ελλείμματα πλήρωσης (ομάδα I), εκείνους χωρίς ελλείμματα πλήρωσης (ομάδα II) και η ομάδα ελέγχου (ομάδα III). Στους βηματοδοτημένους ασθενείς (ομάδες I και II) η ταχύτητα ροής τόσο στον πρόσθιο κατιόντα κλάδο της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας όσο και στην επικρατούσα αρτηρία ήταν σημαντικά μικρότερες τόσο στην έναρξη της εξέτασης ( $18,7 \pm$

5.5cm/s έναντι  $25.1 \pm 5.2$ cm/s) όσο και τη στιγμή της μέγιστης υπεραιμίας ( $51 \pm 12.9$ cm/s έναντι  $71.7 \pm 16.1$ cm/s) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Επίσης στην ομάδα I, η αρτηρία που σχετιζόταν με την περιοχή που παρουσίαζε ελλείμματα πλήρωσης, είχε χαμηλότερη στεφανιαία εφεδρεία ( $2.6 \pm 0.5$ ) σε σχέση με τις αρτηρίες που δε σχετιζόνταν με ελλείμματα πλήρωσης ( $3.9 \pm 1.0$ ,  $p < 0.05$ ) ή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ( $3.5 \pm 0.5$ ,  $p < 0.05$ ). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ταχύτητες ροής στα στεφανιαία αγγεία δεν αντιπροσωπεύουν ογκομετρική ροή ωστόσο είναι ένας έμμεσος δείκτης της αιματικής ροής των στεφανιαίων. Επομένως, με βάση τα ευρήματα της μελέτης οι μειωμένες ταχύτητες ροής οφείλονται πιθανόν σε τροποποίηση της αιματικής ροής των στεφανιαίων λόγω των αλλαγών του μηχανικού φορτίου που δέχονται διαφορετικές περιοχές ανάλογα με την εντόπιση τους κοντά ή μακρύτερα από το βηματοδοτικό ηλεκτροκαθετήρα. Αυτές οι διαταραχές στη μικροαγγειακή ροή είναι που οδηγούν στα ελλείμματα πλήρωσης που παρατηρούνται στη σπινθηρογραφική μελέτη απουσία στενώσεων από τα στεφανιαία αγγεία. Εκτός από τη μειωμένη στεφανιαία ροή στις περιοχές που διεγείρονται πρώιμα οι μελέτες έχουν δείξει μειωμένο μυοκαρδιακό έργο, πρόσληψη οξυγόνου και μεταβολισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων.<sup>41-42</sup>

## **ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΗΝ ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΗ ΝΕΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΟΝΙΜΗ ΤΕΧΝΗΤΗ ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΟΡΥΦΗ ΤΗΣ ΔΕΞΙΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ**

Η αδρενεργική νευρώση του μυοκαρδίου έχει μελετηθεί με τη βοήθεια της  $I^{123}$ -μεταϊώδο-βένζυλο-γουανιδίνης ( $I^{123}$ -MIBG) ενός ανάλογου γουανεθιδίνης ραδιοτοπικά σημασμένου με  $I^{123}$  που παρουσιάζει την ίδια πρόσληψη, αποθήκευση και απελευθέρωση όπως η νορεπινεφρίνη.<sup>43,44</sup> Διαταραχή στην πρόσληψη της  $I^{123}$ -MIBG από το μυοκάρδιο έχει περιγραφεί σε πολλές παθολογικές καταστάσεις όπως στη συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, σε έμφραγμα μυοκαρδίου, καρδιομυοπάθειες, καρδιοτοξικότητα μετά από χορήγηση δοξορουβικίνης, μεταμόσχευση καρδιάς, συστηματικά νοσήματα που σχετίζονται με διαταραχές του αυτόνομου νευρικού συστήματος κ.ά.<sup>45-</sup>

Σε μελέτη 39 ασθενών με μόνιμο τεχνητό βηματοδότη λόγω πλήρους κολποκοιλιακού αποκλεισμού που υποβλήθηκαν σε χορήγηση  $I^{123}$ -MIBG καθώς και φαρμακευτικού σπινθηρογραφήματος αιμάτωσης μυοκαρδίου και συγκρίθηκαν με ομάδα ελέγχου 23 υγιών ατόμων διαπιστώθηκε μειωμένος λόγος μυοκαρδίου προς μεσοθωρακίου όσον αφορά την πρόσληψη  $I^{123}$ -MIBG στην ομάδα των βηματοδοτημένων ασθενών καθώς και περιοχικές διαταραχές στην πρόσληψη του  $I^{123}$ -MIBG στο 89,7% των βηματοδοτημένων ασθενών, κυρίως στο κατώτερο (92,3%) και το κορυφαίο τοίχωμα (38,5%), ενώ μόλις το 8,7% της ομάδας ελέγχου παρουσίαζε ηπιότερες διαταραχές πρόσληψης στο κατώτερο τοίχωμα.<sup>55</sup>

Αξιοσημείωτο είναι ότι στην ομάδα των βηματοδοτημένων ασθενών, όσοι ασθενείς παρουσίαζαν διαταραχές αιμάτωσης, είχαν και διαταραχές στην πρόσληψη  $I^{123}$ -MIBG στην ίδια περιοχή. Σε αντίθεση, αρκετοί ασθενείς με περιοχικές διαταραχές στην πρόσληψη  $I^{123}$ -MIBG είχαν φυσιολογική αιμάτωση στην σπινθηρογραφική μελέτη.

Επομένως με βάση τα ευρήματα της μελέτης, εκτός από τις διαταραχές στην αιμάτωση του μυοκαρδίου, η χρόνια βηματοδότηση οδηγεί και σε περιοχικές διαταραχές της αδρενεργικής νεύρωσης στις περιοχές της πρώιμης διέγερσης όπως είναι το κατώτερο και κορυφαίο τοίχωμα της αριστεράς κοιλίας. Αυτές οι διαταραχές αποδίδονται το πιθανότερο σε αυξημένη συμπαθητική δραστηριότητα στις περιοχές με πρώιμη διέγερση που οδηγεί σε αύξηση της νοραδρεναλίνης και άρα μεγαλύτερο ανταγωνισμό μεταξύ νοραδρεναλίνης και  $I^{123}$ -MIBG για πρόσληψη καθώς και σε αγγειοσύσπαση της μικροκυκλοφορίας που συνεπάγεται μείωση της αιματικής ροής και διαταραχές αιμάτωσης στην σπινθηρογραφική μελέτη. Η αύξηση της συμπαθητικής δραστηριότητας και συγκεκριμένα της νοραδρεναλίνης στις περιοχές πρώιμης διέγερσης έχει διαπιστωθεί εξάλλου και σε μελέτη με σκυλιά όπου επιβεβαιώθηκε ιστολογικά πλέον η αυξημένη συγκεντρωση νοραδρεναλίνης.<sup>56</sup>

## **ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΛΛΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ**

Σημαντικές εξάλλου διαταραχές παρατηρούνται και σε επίπεδο ιστοπαθολογικό μετά την εμφύτευση μόνιμου βηματόδοτη. Οι πρώτες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε σκύλους αναφέρουν μετά από κοιλιακή βηματοδότηση διαταραχή της αρχιτεκτονικής των κυττάρων, υπενδοκαρδιακή ίνωση, εναπόθεση λίπους και ασβεστίου και διαταραχές των μιτοχονδρίων.<sup>57,58</sup>

Αντίστοιχη μελέτη συνέκρινε 16 ενδομυοκαρδιακές βιοψίες από ασθενείς με συγγενή πλήρη κολποκοιλιακό αποκλεισμό αλλά φυσιολογική καρδιακή ανατομία, 8 εκ των οποίων πάρθηκαν πριν την τοποθέτηση μόνιμου τεχνητού βηματοδότη (μέση ηλικία ασθενών 15.5 έτη) και 8 μετά από 3-12 έτη (μέσος όρος 5.5 έτη) από την τοποθέτηση αυτού (μέση ηλικία ασθενών 16 έτη).<sup>59</sup> Σε όλες τις βιοψίες που πάρθηκαν προ της τοποθέτησης του βηματοδότη παρατηρήθηκε υπερτροφία των μυοϊνιδίων και σε μερικούς αύξηση του αριθμού των μιτοχονδρίων (που αιτιολογικά αποδίδονται στην χρόνια βραδυκαρδία). Στις βιοψίες μετά τη μόνιμη βηματοδότηση εκτός από την υπερτροφία των μυοϊνιδίων, παρατηρήθηκαν και άλλες ιστοπαθολογικές διαφοροποιήσεις με σημαντικότερες την εκφυλιστική ίνωση και εναπόθεση λίπους, κενοτοπιώδη εκφύλιση και μεσοκυττάρια ίνωση.

## **ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΠΑΘΕΙΑ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΗ**

Με βάση επομένως τα σύγχρονα βιβλιογραφικά δεδομένα, η κοιλιακή βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας ενέχει τον κίνδυνο εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας (pacemaker induced cardiomyopathy-PICM).

### **Συχνότητα εμφάνισης**

Στην πραγματικότητα, τα ποσοστά εμφάνισης DICM ποικίλουν στις διάφορες μελέτες ανάλογα τον πληθυσμό που μελετήθηκε αλλά και το αν η DICM διαπιστώθηκε με βάση

υπερηχογραφικούς δείκτες ή κλινική συμπτωματολογία καρδιακής ανεπάρκειας. Σε μελέτη 177 ασθενών με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης που έλαβαν αμφικοιλιακό βηματοδότη για βραδυκαρδικές ενδείξεις και τυχαιοποιήθηκαν σε βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας ή καρδιακό επανασυγχρονισμό, παρατηρήθηκε ήδη στους 12 μήνες μείωση του κλάσματος εξώθησης στην ομάδα της βηματοδότησης από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας ( $54.8 \pm 9.1\%$  vs.  $62.2 \pm 7.0\%$ ,  $P < 0.001$ ) και αύξηση στις διαστάσεις της αριστεράς κοιλίας με τελοσυστολικό όγκο ( $35.7 \pm 16.3$  ml vs.  $27.6 \pm 10.4$  ml,  $P < 0.001$ ) ή αλλιώς σχετική μεταβολή ανάμεσα στα 2 γκρουπ σε σχέση με την στιγμή της εμφύτευσης της τάξης του 25%.<sup>60</sup>

Σε αντίστοιχη μελέτη 304 ασθενών με διατηρημένο ΚΕ που βηματοδοτήθηκαν από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας λόγω κολποκοιλιακού αποκλεισμού το ποσοστό πρωτοεμφανιζόμενης ΚΑ ήταν πολύ υψηλότερο και άγγιζε το 26% μετά από 7,8 έτη παρακολούθησης.<sup>61</sup>

Η εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας με μεγαλύτερη συχνότητα στη μελέτη αυτή μπορεί να αποδοθεί αφενός στη μεγαλύτερη διάρκεια της παρακολούθησης και αφετέρου στο γεγονός ότι οι ασθενείς παρουσίαζαν όλοι υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης που ξεπερνούσε το 90%.<sup>61,62</sup> Σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης αυτής η μεγάλη ηλικία κατά τη στιγμή της εμφύτευσης, το ευρύ βηματοδοτικό QRS και η παρουσία στεφανιαίας νόσου ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες για την εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας. Επιπλέον η εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας συσχετίστηκε με σημαντική αύξηση της καρδιαγγειακής θνητότητας, 36.7% vs. 2.7%,  $P < 0.001$  σε σχέση με τους ασθενείς που δεν ανέπτυξαν καρδιακή ανεπάρκεια.<sup>61,62</sup>

### **Παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση PICM**

Έχουν ενοχοποιηθεί αρκετοί παράγοντες που άλλοι σχετίζονται με τον ασθενή και άλλοι σχετίζονται με τη βηματοδότηση. Παράγοντες που σχετίζονται με τον ασθενή και μπορεί να επηρεάσουν την εμφάνιση PICM είναι η ύπαρξη ή όχι φλεβοκόμβου κατά την εμφύτευση (καθώς η κολπική μαρμαρυγή έχει σχετιστεί με μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης PICM), η ύπαρξη διαταραχών στην κολποκοιλιακή ή ενδοκοιλιακή αγωγή, το χαμηλό κλάσμα εξώθησης και η

παρουσία στεφανιαίας νόσου ή καρδιακής ανεπάρκειας ήδη κατά τη στιγμή της εμφύτευσης. Από την άλλη, παράγοντες που σχετίζονται με τη βηματοδότηση είναι το είδος της βηματοδότησης και η θέση του βηματοδοτικού καλώδιου, το εύρος του βηματοδοτικού QRS, το ποσοστό της κοιλιακής βηματοδότησης καθώς και η διάρκεια της βηματοδότησης.<sup>63</sup>

### **Ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης και κίνδυνος εμφάνισης PICM**

Υπάρχει η γενική αντίληψη ότι ο κίνδυνος για εμφάνιση PICM συναντάται όταν το ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης υπερβαίνει το 40%. Υπάρχουν ωστόσο μελέτες που αναφέρουν εμφάνιση μυοκαρδιοπάθειας μετά από βηματοδότηση σε πολύ μικρότερο ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης. Σε μελέτη 257 ασθενών που υποβλήθηκαν σε εμφύτευση μονοεστιακού κοιλιακού ή διπλοεστιακού βηματοδότη με διατηρημένη λειτουργικότητα EF>50% και κοιλιακή βηματοδότηση που ξεπερνούσε το 20%, το 19,5% των ασθενών εμφάνισε μυοκαρδιοπάθεια σχετιζόμενη με τη βηματοδότηση (που ορίστηκε ως μείωση του κλάσματος εξώθησης >10% με EF<50%) σε διάστημα παρακολούθησης 3,3 έτη.<sup>64</sup> Διαπιστώθηκε εξάλλου ότι οι ασθενείς που ανέπτυξαν PICM ήταν πιο πιθανό να είναι άντρες, με χαμηλότερο EF και μεγαλύτερο εύρος QRS κατά την εμφύτευση. Επιπλέον το άρρεν φύλο και το ευρύ QRS κατά την εμφύτευση (>115msec) αποτελούσαν ανεξάρτητους προγνωστικούς δείκτες για την εμφάνιση PICM.

Εξάλλου, ο χρόνος εμφάνισης PICM ποικίλει στις διάφορες μελέτες από πολύ πρόωμη ήδη από τον πρώτο μήνα μετά την εμφύτευση έως και αρκετά όψιμη 9 έτη μετά.<sup>65</sup> Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι ο κίνδυνος για PICM σε έναν ασθενή με υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης παραμένει ακόμα και πολλά χρόνια μετά την εμφύτευση.<sup>65</sup>

Στη μελέτη MOST<sup>66</sup> ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης >40% σχετίστηκε με 3 φορές αύξηση του κινδύνου για νοσηλεία για ΚΑ και ΚΜ σε σχέση με κοιλιακή βηματοδότηση <40%. Ίσως, με βάση αυτό το εύρημα της πολυκεντρικής μελέτης MOST τέθηκε αυθαίρετα το όριο του 40% όσον αφορά τον κίνδυνο εμφάνισης PICM. Και στην ίδια τη MOST βεβαίως περιγράφεται ο κίνδυνος για εμφάνιση PICM ήδη από ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης 20%.

Άλλωστε η συσχέτιση της εμφάνισης καρδιομυοπάθειας και της κοιλιακής διέγερσης έχει μελετηθεί σε πλειάδα εργασιών που συσχετίζουν το φορτίο εκτάκτων κοιλιακών συστολών >20% με αυξημένο κίνδυνο μυοκαρδιοπάθειας.<sup>67</sup>

Εξάλλου σε υποανάλυση ασθενών μελέτης ανάλογα με τη συσχέτιση εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας σε διαφορετικά ποσοστά κοιλιακής βηματοδότησης ακόμα και μικρό ποσοστό VP 20-39% σχετίστηκε με 13% εμφάνιση PICM, ποσοστό που αυξανόταν αναλογικά με την αύξηση της VP.<sup>64</sup>

### **Ρόλος του εύρους του βηματοδοτικού QRS στην ανάπτυξη PICM**

Σημαντικό ρόλο ακόμη στην εμφάνιση PICM φαίνεται να παίζει και το εύρος του βηματοδοτικού QRS. Σε μελέτη 184 ασθενών με διατηρημένη λειτουργικότητα που βηματοδοτήθηκαν από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας και παρουσίαζαν κοιλιακή βηματοδότηση  $\geq 20\%$ , μετά από 3,4 χρόνια παρακολούθησης, το 22,8% των ασθενών εμφάνισε PICM με μείωση του EF από  $62,1 \pm 8,6\%$  στην εμφύτευση σε  $35,3 \pm 9,7\%$  στη διάγνωση.<sup>68</sup> Σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν εμφάνισαν PICM, εκείνοι που εμφάνισαν ήταν πιο πιθανό να ήταν άντρες ( $p=0,03$ ), με χαμηλότερο EF στην εμφύτευση ( $p=0,04$ ), με ευρύτερο QRS προ της εμφύτευσης ( $p=0,006$ , εξαιρέθηκαν οι ασθενείς με LBBB ή RBBB), υψηλότερη καρδιακή συχνότητα στην παρακολούθηση ( $p<0,001$ ) και ευρύτερο βηματοδοτικό QRS ( $p=0,001$ ) ενώ το εύρος του βηματοδοτικού QRS παρέμενε ανεξάρτητος προβλεπτικός παράγοντας για την εμφάνιση PICM. Συγκεκριμένα, εύρος βηματοδοτικού QRS  $>150\text{ms}$  παρουσίαζε 95% ευαισθησία για την εμφάνιση PICM. Κατ' αντιστοιχία, το όφελος του καρδιακού επανασυγχρονισμού αναμένεται σε ασθενείς με LBBB και QRS  $\geq 150\text{ms}$ .<sup>69</sup> Επιπλέον έκτακτες κοιλιακές συστολές με εύρος QRS  $\geq 150\text{ms}$  έχει αποδειχθεί ότι σχετίζονται με την εμφάνιση μυοκαρδιοπάθειας λόγω αποσυγχρονισμού από τις συχνές έκτακτες συστολές.<sup>70</sup>

## ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

### Εμβρυικό γονιδιακό πρόγραμμα

Κατά την εμβρυική ζωή ο μεταβολισμός του μυοκαρδίου βασίζεται στην καύση υδρογονανθράκων για την παραγωγή ενέργειας. Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανότατα στην αποτελεσματικότερη απόδοση ενέργειας ανά mole οξυγόνου που καταναλώνεται και στην γρήγορη κινητοποίηση ενεργειακών αποθεμάτων υδρογονανθράκων.<sup>71</sup> Είναι αξιοσημείωτο, ότι οι αποθήκες γλυκογόνου στην εμβρυική καρδιά καταλαμβάνουν περισσότερο από το 30% του κυτταρικού όγκου, σε αντίθεση με μόλις το 2% στο μυοκάρδιο του ενήλικα.<sup>72</sup> Μετά τον τοκετό η μετάβαση από ένα σχετικά υποξικό περιβάλλον σε ένα πλούσιο σε οξυγόνο περιβάλλον πυροδοτεί τη μετάβαση στην οξείδωση των λιπαρών οξέων ως ενεργειακή πηγή για το μυοκάρδιο. Αυτή η αλλαγή συνοδεύεται από έκφραση “ενήλικων” ισομορφών μεταβολικών ενζύμων και άλλων μυοκαρδιακών πρωτεϊνών.

Ωστόσο, καταστάσεις αιμοδυναμικού ή μεταβολικού στρες όπως υποξία, ισχαιμία, υπερτροφία, σακχαρώδης διαβήτης, υποθυρεοειδισμός επαναενεργοποιούν το λεγόμενο “εμβρυικό γονιδιακό πρόγραμμα” (fetal gene program).<sup>73</sup> Το εμβρυικό γονιδιακό πρόγραμμα εκτός από τη στροφή στην καύση των υδρογονανθράκων περιλαμβάνει την έκφραση κολπικού νατριουρητικού πεπτιδίου (ANF), αυξητικών παραγόντων (TGF-β), μεταβολών στην έκφραση γονιδίων όπως c-myc και c-fos και έκφραση άλλων ισομορφών πολλών πρωτεϊνών είτε μεταβολικών ενζύμων είτε πρωτεϊνών του σαρκομερίου όπως οι βαριές αλυσίδες της μυοσίνης και α-ακτίνης).<sup>74</sup>

### Αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων μετά από μόνιμη τεχνητή βηματοδότηση

Η σχέση της καρδιακής ανεπάρκειας και της έκφρασης γονιδίων από τα μυοκαρδιακά



κύτταρα έχει ήδη μελετηθεί διεξοδικά. Είναι γνωστό ότι η εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας πυροδοτεί το λεγόμενο “εμβρυικό γονιδιακό πρόγραμμα” (fetal gene program) που περιλαμβάνει έκφραση άλλης εμβρυικής ισομόρφης γονιδίων που ρυθμίζουν συσταλτές πρωτείνες καθώς και μειωμένη έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν τη σύζευξη διέγερσης-συστολής.<sup>75-76</sup> Παρά το γεγονός ότι αυτές οι αλλαγές θεωρούνται προσαρμοστικός μηχανισμός λόγω του αυξημένου μηχανικού φορτίου που έχει να αντιμετωπίσει η καρδιά, οι αλλαγές στις συσταλτές πρωτείνες θεωρούνται υπεύθυνες για μειωμένη συστολική απόδοση του μυοκαρδίου και περαιτέρω αρνητική αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας. Μελέτες τόσο σε μεμονωμένα μυοκαρδιακά κύτταρα όσο και σε πειραματόζωα έχουν συσχετίσει την αυξημένη έκφραση της β-αλύσου της μυοσίνης με αρνητική ινότροπη δράση.<sup>77,78</sup>

Ένα εύλογο ερώτημα όμως που προκύπτει είναι εάν οι αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων στους βηματοδοτημένους ασθενείς οφείλονται αποκλειστικά στην εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας ή εάν ο αποσυγχρονισμός που επάγει η βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας παίζει κάποιο ρόλο στις αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση.

Σε μελέτη με πειραματόζωα, 11 σκυλιά υπέστησαν ταχεία βηματοδότηση είτε από τον δεξιό κόλπο, είτε από το ελεύθερο τοίχωμα της δεξιάς κοιλίας με αποτέλεσμα ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας.<sup>11</sup> Στη συνέχεια μελετήθηκε με tagged-MRI η ύπαρξη ή όχι κοιλιακού αποσυγχρονισμού στην αριστερά κοιλία και διαπιστώθηκε εξεσημασμένος αποσυγχρονισμός στην ομάδα που βηματοδοτήθηκε από τη δεξιά κοιλία και απουσία αποσυγχρονισμού στην ομάδα που βηματοδοτήθηκε από το δεξιό κόλπο. Βιοψίες από την αριστερά κοιλία έδειξαν μεταβολές στην έκφραση των μυοκαρδιακών πρωτεϊνών με 30% ελάττωση της Ca-ATPάσης του σαρκοπλασματικού δικτύου, 80% μείωση της φωσφολαμπάνης και 60% μείωση της κοννεξίνης 43 στις περιοχές με την καθυστερημένη διέγερση σε σχέση με βιοψίες που πάρθηκαν τόσο από τα πειραματόζωα που ανέπτυξαν καρδιακή ανεπάρκεια αλλά όχι καρδιακό αποσυγχρονισμό, όσο και σε σχέση με 4 ζώα (ομάδα ελέγχου) που δεν είχαν βηματοδοτηθεί. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι αυτές οι μεταβολές δεν παρατηρήθηκαν στην ομάδα που είχε μεν εμφανίσει καρδιακή ανεπάρκεια,

αλλά δεν παρουσίαζε καρδιακό αποσυγχρονισμό. Πράγμα που σημαίνει ότι ο αποσυγχρονισμός της αριστεράς κοιλίας φαίνεται να παίζει ρόλο στην ρύθμιση της έκφρασης μυοκαρδιακών πρωτεϊνών. Δημιουργείται έτσι η υποψία ότι ο καρδιακός επανασυγχρονισμός όχι μόνο βελτιώνει την καρδιακή λειτουργία αλλά ενδεχομένως μπορεί να βοηθήσει στην επαναρύθμιση της περιοχικής έκφρασης μυοκαρδιακών πρωτεϊνών.

Σε μελέτη 24 ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια σταδίου III-IV κατά NYHA που υποβλήθηκαν σε μυοκαρδιακή βιοψία κατά την εμφύτευση αμφικολιακού βηματοδότη και 4 μήνες μετά από αυτήν, τα ευρήματα συσχετίστηκαν με αντίστοιχα 6 ασθενών χωρίς καρδιακή ανεπάρκεια που υποβλήθηκαν σε μυοκαρδιακή βιοψία κατά τη διενέργεια χειρουργείου αορτοστεφανιαίας παράκαμψης για σταθερή στεφανιαία νόσο (ομάδα ελέγχου).<sup>79</sup> Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης, οι ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια εμφάνιζαν χαμηλότερα επίπεδα mRNA για τα γονίδια  $\alpha$ -MHC,  $\beta$ -MHC, SERCA και φωσφολαμπάνης και υψηλότερα επίπεδα mRNA για το γονίδιο που κωδικοποιεί το BNP σε σχέση με τους ασθενείς της ομάδας ελέγχου. Επιπλέον, στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στον καρδιακό επανασυγχρονισμό παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων mRNA για τα γονίδια  $\alpha$ -MHC ( $p=0,035$ ) και SERCA ( $p=0,032$ ), μείωση των επιπέδων mRNA για το γονίδιο BNP ( $p=0,002$ ) και αύξηση των λόγων  $\alpha$ -/ $\beta$ -MHC ( $p=0,018$ ) και SERCA/φωσφολαμπάνη ( $p=0,012$ ). Αντιθέτως, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στο γονιδιακό προφίλ των ασθενών που δεν ανταποκρίθηκαν στον καρδιακό επανασυγχρονισμό. Τα παραπάνω ευρήματα δείχνουν ότι το παθολογικό προφίλ της γονιδιακής έκφρασης σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια είναι εν δυνάμει αναστρέψιμο.

Αντίστοιχα, η αύξηση των επιπέδων SERCA σε πειραματικά μοντέλα συνδέθηκε με βελτίωση της λειτουργικότητας της αριστεράς κοιλίας.<sup>80</sup> Αλλά και σε μελέτες σε ασθενείς, όταν μια θεραπευτική κίνηση στοχεύει στη διάσπαση αυτού του φαύλου κύκλου, παρατηρείται βελτίωση στην λειτουργικότητα της αριστεράς κοιλίας και αναστροφή του παθολογικού γονιδιακού προφίλ. Πιο συγκεκριμένα, σε ασθενείς με ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, η θεραπεία με  $\beta$ -αποκλειστές όχι μόνο βελτίωσε την λειτουργία της αριστεράς κοιλίας αλλά επιπλέον οδήγησε σε

απενεργοποίηση του εμβρυικού γονιδιακού προγράμματος με αύξηση στην γονιδιακή έκφραση του SERCA και με μείωση του β-MHC.<sup>81</sup> Ομοίως, σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια τελικού σταδίου η εμφύτευση συσκευής υποβοήθησης της αριστεράς κοιλίας είχε τα ίδια αποτελέσματα στην έκφραση των γονιδίων.<sup>82</sup>

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Sutton R. Ventricular pacing—what does it do? *Eur JCPE* 1993;3:194–6.
2. Rosenqvist M, Isaaz K, Botvinick E. Relative importance of activation sequence compared to AV synchrony in left ventricular function. *Am J Cardiol* 1991;67:148–56.
3. Karpawich PP, Justice CD, Cavitt DL, et al. Developmental sequelae of fixed-rate ventricular pacing in the immature canine heart: an electrophysiologic, hemodynamic, and histopathologic evaluation. *Am Heart J* 1990;119:1077–83.
4. Adomian GE, Beazell J. Myofibrillar disarray produced in normal hearts by chronic electrical pacing. *Am Heart J* 1986;112:79–83.
5. Prinzen FW, Cheriex EC, Delhaas T, et al. Asymmetric thickness of the left ventricular wall resulting from asynchronous electric activation: a study in dogs with ventricular pacing and in patients with left bundle branch block. *Am Heart J* 1995;130:1045–53.
6. Lee MA, Dea MW, Langberg JJ, et al. Effects of long-term right ventricular apical pacing on left ventricular perfusion, innervation, function and histology. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:225–32.
7. Prinzen FW, Augustijn CH, Arts T, Allessie MA, Reneman RS. Redistribution of myocardial fiber strain and blood flow by asynchronous activation. *Am J Physiol* 1990;259:H300–8.
8. Delhaas T, Arts T, Prinzen FW, Reneman RS. Regional fibre stress-fibre strain area as estimate of regional oxygen demand in the canine heart. *J Physiol (Lond)* 1994;477:481–96.
9. Tse HF, Lau CP. Long-term effect of right ventricular pacing on myocardial perfusion and

function. *J Am Coll Cardiol*. 1997;15;29(4):744-9.

10. Sweeney MO, Prinzen FW. A new paradigm for physiologic ventricular pacing. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 17;47(2):282-8.

Epub 2003 Aug 18.

11. Spragg DD, Leclercq C, Loghmani M, Faris OP, Tunin RS, DiSilvestre D, McVeigh ER, Tomaselli GF, Kass DA. Regional alterations in protein expression in the dyssynchronous failing heart. *Circulation*. 2003;26;108(8):929-32.

12. Wiggers CJ. The muscular reactions of the mammalian ventricles to artificial surface stimuli. *Am J Physiol* 1925;73:346–378.

13. Kosowsky BD, Scherlag BJ, Damato AN. Re-evaluation of the atrial contribution to ventricular function. *Am J Cardiol*.1968;21:518–524.

14. Park RC, Little WC, O'Rourke RA. Effect of alteration of left ventricular activation sequence on the left ventricular endsystolic pressure-volume relation in closed-chest dogs. *Circ Res*. 1985;57:706–717.

15. Prinzen FW, Augustijn CH, Arts T, et al. Redistribution of myocardial fiber strain and blood flow by asynchronous activation. *Am J Physiol* 1990;259:H300–H308.

16. Prinzen FW, van Oosterhout MF, Vanagt WY, et al. Optimization of ventricular function by improving the activation sequence during ventricular pacing. *PACE* 1998;21:2256–2260.

17. Rosenqvist M, Bergfeldt L, Haga Y, et al. The effect of ventricular activation sequence on cardiac performance during pacing. *PACE* 1996;19:1279–1287.

18. Peschar M, de Swart H, Michels KJ, et al. Left ventricular septal and apex pacing for optimal pump function in canine hearts. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1218–1226.

19. Vernooij K, Verbeek XA, Peschar M, Prinzen FW. Relation between abnormal ventricular impulse conduction and heart failure. *J Interv Cardiol*. 2003 Dec;16(6):557-62.

20. Park RC, Little WC, O'Rourke RA. Effect of alteration of left ventricular activation sequence on the left ventricular endsystolic pressure-volume relation in closed-chest dogs.

- Circ Res 1985;57:706–717.
21. Owen CH, Esposito DJ, Davis JW, et al. The effects of ventricular pacing on left ventricular geometry, function, myocardial oxygen consumption and efficiency of contraction in conscious dogs. PACE 1998;21:1417–1429.
  22. Van Oosterhout MF, Prinzen FW, Arts T, et al. Asynchronous electrical activation induces inhomogeneous hypertrophy of the left ventricular wall. Circulation 1998;98:588–595.
  23. Baller D, Wolpers HG, Zipfel J, et al. Comparison of the effects of right atrial, right ventricular apex and atrioventricular sequential pacing on myocardial oxygen consumption and cardiac efficiency: A laboratory investigation. PACE 1988;11:394–403.
  24. Maurer G, Torres MA, Corday E, et al. Two-dimensional echocardiographic contrast assessment of pacing-induced mitral regurgitation: Relation to altered regional left ventricular function. J Am Coll Cardiol 1984;3:986-991.
  25. Mark JB, Chetham PM. Ventricular pacing can induce hemodynamically significant mitral valve regurgitation. Anesthesiology 1991;74:375–377.
  26. Zile MR, Blaustein AS, Shimizu G, et al. Right ventricular pacing reduces the rate of left ventricular relaxation and filling. J Am Coll Cardiol 1987;10:702–709.
  27. Blaustein AS, Gaasch WH. Myocardial relaxation. VI. Effects of beta-adrenergic tone and asynchrony on LV relaxation rate. Am J Physiol 1983;244:H417–H422.
  28. Dzau VJ. Tissue renin-angiotensin system in myocardial hypertrophy and failure. Arch Intern Med. 1993;153:937–942.
  29. Long CS, Kariya K, Karns L, Simpson PC. Trophic factors for cardiac myocytes. *J Hypertens.* 1990;8(suppl 7):S219 –S224.
  30. Cooper G IV, Kent RL, Uboh CE, Thompson EW, Marino TA. Hemodynamic versus adrenergic control of cat right ventricular hypertrophy. J Clin Invest. 1985;75:1403–1414.
  31. Sadoshima JI, Takahashi T, Jahn L, Izumo S. Roles of mechano-sensitive ion channels, cytoskeleton, and contractile activity in stretch-induced immediate-gene expression and

- hypertrophy of cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89:9905–9909.
32. Kent RL, McDermott PJ. Passive load and angiotensin II evoke differential responses of gene expression and protein synthesis in cardiac myocytes. *Circ Res*. 1996;78:829–838.
33. Arts T, Prinzen FW, Snoeckx LHEH, Rijcken JM, Reneman RS. Adaptation of cardiac structure by mechanical feedback in the environment of the cell: a model study. *Biophys J*. 1994;66:953–961.
34. De Puey EG, Guertler-Krawczynska E, Rolbins WL. Thallium-201 SPECT in coronary artery disease patients with left bundle branch block. *J Nucl Med* 1988;29:1479 – 85.
35. Braat SH, Brugada P, Bar FW, Gorgels AP, Wellens HJ. Thallium-201 exercise scintigraphy and left bundle branch block. *Am J Cardiol* 1985;55:224 – 6.
36. Lakkis NM, He ZX, Verani MS. Diagnosis of coronary artery disease by exercise thallium-201 tomography in patients with a right ventricular pacemaker. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:1221–5.
37. Jukema JW, Van der Wall EE, Van der Vis-Melsen MJ, Kruyswijk HH, Brusckhe AV. Dipyridamole thallium-201 scintigraphy for improved detection of stenosis in patients with left bundle branch block. *Eur Heart J* 1993;14:53– 6.
38. Burns RJ, Galligan L, Wright LM, Lawand S, Burke RJ, Gladstone PJ. Improved specificity of myocardial thallium-201 single-photon emission computed tomography in patients with left bundle branch block by dipyridamole. *Am J Cardiol* 1991;68:504 – 8.
39. Lebtahi NE, Stauffer JC, Delaloye A. Left bundle branch block and coronary artery disease: accuracy of dipyridamole thallium-201 single-photon emission computed tomography in patients with exercise anteroseptal perfusion defects. *J Nucl Cardiol* 1997;4:266 –73.
40. Skolidis EI, Kochiadakis GE, Koukouraki SI, Chrysostomakis SI, Igoumenidis NE, Karkavitsas NS, Vardas PE. Myocardial perfusion in patients with permanent ventricular pacing and normal coronary arteries. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(1):124-9.
41. Prinzen FW, Hunter WC, Wyman BT, McVeigh ER. Mapping of regional myocardial strain

- and work during ventricular pacing: experimental study using magnetic resonance imaging tagging. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:1735–42.
42. Yoshida H, Shirotami M, Mochizuki M, Sakata K. Assessment of myocardial fatty acid metabolism in atrioventricular synchronous pacing: analysis of iodine-123–labeled beta-methyl iodophenyl pentadecanoic acid SPECT. *J Nucl Cardiol* 1999;6:33–40.
43. Dae MW, Botvinick EH. Imaging of the heart using metaiodobenzylguanidine. *J Thorac Imaging*. 1990 Jul;5(3):31-6.
44. Dae MW, O'Connell JW, Botvinick EH, Ahearn T, Yee E, Huberty JP, Mori H, Chin MC, Hattner RS, Herre JM, et al. Scintigraphic assessment of regional cardiac adrenergic innervation. *Circulation*. 1989 Mar;79(3):634-44.
45. Merlet P, Valette H, Dubois-Rande JL et al. Prognostic value of cardiac metaiodobenzylguanidine imaging in patients with heart failure *J Nucl Med* 1992; 33: 471-7.
46. Henderson EB, Kahn JK, Corbett JR et al. Abnormal I-123 metaiodobenzyl-guanidine myocardial washout and distribution may reflect myocardial adrenergic derangement in patients with congestive cardiomyopathy *Circulation* 1988; 78:1192–9.
47. Stanton MS, Tuli MM, Radtke NL et al. Regional sympathetic denervation after myocardial infarction in humans detected noninvasively using I-123 metaiodobenzylguanidine. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14: 1519–26.
48. Glowniak JV, Turner FE, Gray LL, Palac RT, Lagunas-Solar MC, Woodward WR. Iodine-123 metaiodobenzylguanidine imaging of the heart in idiopathic congestive cardiomyopathy and cardiac transplants *J Nucl Med* 1989; 30: 1182–91.
49. Lekakis J, Prassopoulos V, Athanassiadis P, Kostamis P, Mouloupoulos S. Doxorubicin-induced cardiac neurotoxicity: study with iodine 123-labeled metaiodobenzylguanidine scintigraphy *J Nucl Cardiol* 1996; 3: 37–41.
50. Langer A, Freeman MR, Josse RG, Armstrong PW. Metaiodobenzylguanidine imaging in



- diabetes mellitus: assessment of cardiac sympathetic denervation and its relation to autonomic dysfunction and silent myocardial ischemia *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 610–18.
51. Simmons WW, Freeman MR, Grima EA, Hsia TW, Armstrong PW. Abnormalities of cardiac sympathetic function in pacing-induced heart failure as assessed by I <sup>123</sup> metaiodobenzylguanidine scintigraphy. *Circulation* 1994; 89:2843–51.
52. Lanza GA, Giordano A, Pristipino C et al. Abnormal cardiac adrenergic nerve function in patients with syndrome X detected by I <sup>123</sup> metaiodobenzylguanidine myocardial scintigraphy. *Circulation* 1997; 96: 821–6.
53. Kramer CM, Nicol PD, Rogers WJ et al. Reduced sympathetic innervation underlies adjacent noninfarcted region dysfunction during left ventricular remodeling *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1079–85.
54. Taki J , Yasuhara S, Takamatsu T et al. Value of iodine-123 metaiodobenzyl-guanidine scintigraphy in patients with vasospastic angina. *Eur J Nucl Med* 1998; 25: 229–34.
55. Simantirakis EN, Prassopoulos VK, Chrysostomakis SI, Kochiadakis GE, Koukouraki SI, Lekakis JP, Karkavitsas NS, Vardas PE. Effects of asynchronous ventricular activation on myocardial adrenergic innervation in patients with permanent dual-chamber pacemakers; an I(123)-metaiodobenzylguanidine cardiac scintigraphic study. *Eur Heart J.* 2001 Feb;22(4):323-32
56. Lee MA, Dae MW, Langberg JJ et al. Effects of long-term right ventricular perfusion, innervation, function and histology *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 225–32.
57. Aclomian CE, Boazoll J. Myofibrillar disarray produced in normal hearts by chronic electrical pacing. *Am Heart J* 1986; 112:79-83.
58. Karpawich PP, Justice CD, Cavit DL. et al. Developmental sequelae of fixed-rate, ventricular pacing in the immature canine heart: An electrophysiologic, hemodynamic and histopathologic evaluation. *Am Heart J* 1990; 119:1077-1083.
59. Karpawich PP, Rabah R, Haas JE. Altered cardiac histology following apical right

- ventricular pacing in patients with congenital atrioventricular block. *Pacing Clin Electrophysiol.* 1999;22(9):1372-7.
60. Yu, C.M., Chan, J.Y., Zhang, Q., Omar, R., Yip, G.W., Hussin, A., Fang, F., Lam, K.H., Chan, H.C., Fung, J.W. Biventricular pacing in patients with bradycardia and normal ejection fraction. *N Engl J Med.* 2009;361:2123–2134.
61. Zhang XH, Chen H, Siu CW, Yiu KH, Chan WS, Lee KL, Chan HW, Lee SW, Fu GS, Lau CP, Tse HF. New-onset heart failure after permanent right ventricular apical pacing in patients with acquired high-grade atrioventricular block and normal left ventricular function. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2008 Feb;19(2):136-41.
62. Toff WD, Camm AJ, Skehan JD. Single-chamber versus dual-chamber pacing for high-grade atrioventricular block. *N Engl J Med.* 2005 Jul 14;353(2):145-55.
63. Siu CW, Wang M, Zhang XH, Lau CP, Tse HF. Analysis of ventricular performance as a function of pacing site and mode. *Prog Cardiovasc Dis.* 2008 Sep-Oct;51(2):171-82.
64. Khurshid S, Epstein AE, Verdino RJ, Lin D, Goldberg LR, Marchlinski FE, Frankel DS. Incidence and predictors of right ventricular pacing-induced cardiomyopathy. *Heart Rhythm.* 2014 Sep;11(9):1619-25.
65. Dreger, H., Maethner, K., Bondke, H., Baumann, G., Melzer, C. Pacing-induced cardiomyopathy in patients with right ventricular stimulation for >15 years. *Europace.* 2012;14:238–242.
66. Sweeney, M.O., Hellkamp, A.S., Ellenbogen, K.A., Greenspon, A.J., Freedman, R.A., Lee, K.L., Lamas, G.A. Adverse effect of ventricular pacing on heart failure and atrial fibrillation among patients with normal baseline QRS duration in a clinical trial of pacemaker therapy for sinus node dysfunction. *Circulation.* 2003;107:2932–2937.
67. Baman, T.S., Lange, D.C., Ilg, K.J. et al, Relationship between burden of premature ventricular complexes and left ventricular function. *Heart Rhythm.* 2010;7:865–869.
68. Khurshid S, Liang JJ, Owens A, Lin D, Schaller R, Epstein AE, Marchlinski FE, Frankel

- DS. Longer Paced QRS Duration is Associated With Increased Prevalence of Right Ventricular Pacing-Induced Cardiomyopathy. *J Cardiovasc Electrophysiol.*2016;27(10):1174-1179.
69. Moss AJ, Hall WJ, Cannom DS, Klein H, Brown MW, Daubert JP, Estes NA 3rd, Foster E, Greenberg H, Higgins SL, Pfeffer MA, Solomon SD, Wilber D, Zareba W; MADIT-CRT Trial Investigators: Cardiac-resynchronization therapy for the prevention of heart-failure events. *N Engl J Med* 2009;361:1329-1338.
70. Deyell MW, Park K-M, Han Y, Frankel DS, Dixit S, Cooper JM, Hutchinson MD, Lin D, Garcia F, Bala R, Riley MP, Gerstenfeld E, Callans DJ, Marchlinski FE: Predictors of recovery of left ventricular dysfunction after ablation of frequent ventricular premature depolarizations. *Heart Rhythm* 2012;9:1465-1472.
71. Goodwin GW, Taylor CS, Taegtmeyer H. Regulation of energy metabolism of the heart during acute increase in heart work. *J Biol Chem.* 1998; 273:29530–29539.
72. Navaratnam, V. *Heart Muscle: Ultrastructural Studies.* Cambridge University Press; New York:1987.
73. Rajabi M, et al. Return to the fetal gene program protects the stressed heart: a strong hypothesis. *Heart Fail Rev.* 2007; 12:331–343.
74. Taegtmeyer H, Sen S, Vela D. Return to the fetal gene program: a suggested metabolic link to gene expression in the heart. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1188:191-8.
75. Bristow MR. Why does the myocardium fail? Insights from basic science. *Lancet* 1998;352 Suppl 1:SI8–14.
76. Holubarsch C, Hasenfuss G, Thierfelder L, Pieske B, Just H. The heart in heart failure. Ventricular and myocardial alterations. *Eur Heart J* 1991;12 Suppl C:8–13.
77. Fitzsimons DP, Patel JR, Moss RL. Role of myosin heavy chain composition in kinetics of force development and relaxation in rat myocardium. *J Physiol* 1998;513:171–83.
78. Herron TJ, Korte FS, McDonald KS. Loaded shortening and power output in cardiac

- myocytes are dependent on myosin heavy chain isoform expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H1217-22.
79. Vanderheyden M, Mullens W, Delrue L, Goethals M, de Bruyne B, Wijns W, et al. Myocardial gene expression in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy responders versus nonresponders. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:129-36.
80. Muller OJ, Lange M, Rattunde H, Lorenzen HP, Muller M, Frey N, et al. Transgenic rat hearts overexpressing SERCA2a show improved contractility under baseline conditions and pressure overload. *Cardiovasc Res*. 2003;59:380-9.
81. Lowes BD, Gilbert EM, Abraham WT, Minobe WA, Larrabee P, Ferguson D, et al. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *N Engl J Med*. 2002;346:1357-6.
82. Heerdt PM, Holmes JW, Cai B, Barbone A, Madigan JD, Reiken S, et al. Chronic unloading by left ventricular assist device reverses contractile dysfunction and alters gene expression in end-stage heart failure. *Circulation*. 2000;102:2713-9.

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1**

**Μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με την συστολική λειτουργία και υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας σε ασθενείς με μόνιμη βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας.**

### **ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Η κορυφή της δεξιάς κοιλίας αποτελεί την πιο δημοφιλή θέση εμφύτευσης του κοιλιακού ηλεκτροκαθετήρα καθώς οι εναλλακτικές θέσεις βηματοδότησης από τη δεξιά κοιλία δεν έχουν αποδείξει ανωτερότητα τουλάχιστον όσον αφορά σκληρά καταληκτικά σημεία όπως η νοσηρότητα και η θνητότητα.<sup>1</sup> Ωστόσο, ήδη από πολύ νωρίς έγινε εμφανές ότι η βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας διαταράσσει την φυσιολογική αγωγή του ερεθίσματος οδηγώντας σε ασύγχρονη διέγερση και σύσπαση των κοιλιών. Αυτό το “μη φυσιολογικό” μοντέλο μετάδοσης του ερεθίσματος οδηγεί σε περιοχικές μεταβολές όσον αφορά το καρδιακό φορτίο και έργο, την μυοκαρδιακή αιμάτωση και νεύρωση οδηγώντας σε αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας και καρδιακή ανεπάρκεια σε σημαντικό ποσοστό βηματοδοτημένων ασθενών.<sup>2</sup> Πολλές μελέτες έχουν περιγράψει την εμφάνιση ΚΑ μετά την βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας σε ασθενείς με διατηρημένη λειτουργικότητα και χωρίς προηγούμενο ιστορικό ΚΑ ή στεφανιαίας νόσου.<sup>3,4</sup> Η ανάπτυξη της ΚΑ φαίνεται να σχετίζεται τόσο με τη διάρκεια της βηματοδότησης όσο και με το ποσοστό της κοιλιακής βηματοδότησης.<sup>3,5</sup>

Από την άλλη, είναι γνωστό, ότι ορισμένα γονίδια ρυθμίζουν τη σύζευξη διέγερσης- συστολής καθώς και τις συσταλτές πρωτεΐνες και επομένως σχετίζονται με την ανάπτυξη ΚΑ. <sup>6,7</sup> Υποθέσαμε ότι η βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων που προηγούνται της επιδείνωσης της λειτουργικότητας και της γεωμετρίας της αριστεράς κοιλίας που γίνονται εμφανείς υπερηχογραφικά ή κλινικά σε πολύ μεταγενέστερο στάδιο. Επομένως, ο στόχος της μελέτης μας ήταν να ανιχνεύσει πρώιμες μεταβολές στο περιφερικό αίμα στην έκφραση επιλεγμένων γονιδίων που σχετίζονται με την συσταλτικότητα της αριστεράς κοιλίας ασθενών με διατηρημένη λειτουργικότητα που υποβλήθηκαν σε μακροχρόνια βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας.

## **ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

### **ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Πρόκειται για μια προοπτική μελέτη που διενεργήθηκε μεταξύ Ιανουαρίου 2008 και Δεκεμβρίου 2013. Τα στοιχεία που αφορούν την έκφραση των γονιδίων στο περιφερικό αίμα ελήφθησαν κατά τη στιγμή της ένταξης στη μελέτη (ακριβώς πριν την εμφύτευση του βηματοδότη) και στους 3,6 και 12 μήνες. Υπερηχοκαρδιογραφικοί δείκτες εκτιμήθηκαν κατά την ένταξη στη μελέτη, στους 3 μήνες, 1,2 και 4 χρόνια. Η μελέτη είναι σύμφωνη με τη διακήρυξη του Ελσίνκι, όλοι οι ασθενείς αφού ενημερώθηκαν έδωσαν γραπτή συναίνεση πριν την ένταξη στη μελέτη και το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την αρμόδια επιτροπή του νοσοκομείου.

### **ΠΑΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Στη μελέτη συμμετείχαν 52 ασθενείς (34 άνδρες ηλικίας  $79,17 \pm 7,7$  έτη) με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης ( $EF \geq 45\%$ ) που υποβλήθηκαν σε εμφύτευση μόνιμου τεχνητού βηματοδότη λόγω βραδυκαρδικών ενδείξεων. Ο κοιλιακός ηλεκτροκαθετήρας τοποθετήθηκε στην κορυφή της δεξιάς

κοιλίας σε όλους τους ασθενείς. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 ομάδες με βάση το ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης μετά την εμφύτευση. Η ομάδα Α αποτελείται από 24 ασθενείς που βηματοδοτήθηκαν για διαταραχές κολποκοιλιακής αγωγιμότητας με ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης μετά την εμφύτευση που υπερέβαινε το 90%, ενώ η ομάδα Β (ομάδα ελέγχου) αποτελούνταν από 28 ασθενείς που έλαβαν μόνιμο βηματοδότη λόγω συνδρόμου νοσούντος φλεβοκόμβου με διατηρημένη κολποκοιλιακή αγωγιμότητα και ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης μετά την εμφύτευση να είναι μικρότερο από 5%. Οι βηματοδοτικές συσκευές προγραμματίστηκαν κατάλληλα ώστε να ελαχιστοποιηθεί η κοιλιακή βηματοδότηση. Ασθενείς με διαταραχές ενδοκοιλιακής αγωγιμότητας ( $QRS \geq 120\text{msec}$ ) αποκλείστηκαν από αυτήν την ομάδα. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε έλεγχο του βηματοδότη για να διευκρινιστεί το ακριβές ποσοστό της κοιλιακής βηματοδότησης. Επιπλέον, υποβλήθηκαν σε 24-ώρη καταγραφή ηλεκτροκαρδιογραφήματος προκειμένου να διευκρινιστεί αν το ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης που αναγραφόταν στα στατιστικά της συσκευής ήταν αληθές ή περιελάμβανε και 'συστολές εκ συγχωνεύσεως ή ψευδοσυγχωνεύσεως.

## **ΥΠΕΡΗΧΟΚΑΡΔΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Τη στιγμή της εμφύτευσης και σε συγκεκριμένες στιγμές κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη για την εκτίμηση της λειτουργικότητας και της δομής της αριστεράς κοιλίας. Οι υπερηχοκαρδιογραφικές εικόνες ελήφθησαν με τους ασθενείς κατακεκλιμένους στην αριστερή πλάγια θέση από 2 έμπειρους υπερηχογραφιστές που δεν είχαν γνώση ή προσβαση στα στοιχεία της μελέτης, χρησιμοποιώντας ένα σύστημα υπερήχων Vivid 7 (General Electric, Horten, Norway) με μορφοτροπέα 1,5-3,6MHz (m4s). Οι επιμέρους μετρήσεις έγιναν σε δεύτερο χρόνο από τις αποθηκευμένες εικόνες. Οι τελοδιαστολικοί (LVEDD), τελοσυστολικοί (LVESD) διάμετροι της αριστεράς κοιλίας μετρήθηκαν με τη χρήση M-mode από λήψεις από τον παραστερνικό μακρύ άξονα, ενώ οι τελοσυστολικοί,

τελοδιαστολικοί όγκοι και το κλάσμα εξώθησης (EF) από κορυφαίες τομές 2 και 4 κοιλοτήτων με βάση τον διεπίπεδο κανόνα Simpson.

## **ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ**

### **Απομόνωση του RNA και ποσοτική RT-PCR**

Τα δείγματα του αίματος συλλέχθηκαν σε σωληνίσκους αιθυλενοδιαμιδο-τετρα-οξικού οξέως (EDTA). Τα μονοπύρηνια κύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMCs) απομονώθηκαν με φυγοκέντρηση με ficoll-raque plus (Stem Cell Technologies Inc., Vancouver, BC, Canada), ενώ το ολικό RNA απομονώθηκε με χρήση του TRI-αντιδραστηρίου (Ambion, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). Τα δείγματα RNA από τις μετρήσεις για κάθε ένα ασθενή αποθηκεύθηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυση τους. Πραγματοποιήθηκε ανάστροφη μεταγραφή 1μg ολικού RNA με ολιγο-(dT) χρησιμοποιώντας το σύστημα ανάστροφης μεταγραφής (Promega, Madison, USA) σε αντιδράσεις όγκου 20μl. Οι μετρήσεις των επιπέδων του mRNA πραγματοποιήθηκαν με ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου ανάστροφης μεταγραφής (RT-PCR) με τη χρήση του συστήματος ανίχνευσης STRATAGENE Mx3000P. Οι μετρήσεις PCR πραγματοποιήθηκαν σε 2μl προτύπων cDNA με τη χρήση του SYBR Green PCR Master Mix (Bio-Rad, CA, USA) σε αντιδράσεις 20μl. Οι ακολουθίες των primer για την Ca-ATPάση του σαρκοπλασματικού δικτύου (SERCA), την βαριά αλυσίδα της α-μυοσίνης (α-MHC), την βαριά αλυσίδα της β-μυοσίνης (β-MHC) και την γλυκεραλδεύδο-3-φωσφατιδουδρογονάση (GAPDH), όπως επίσης και ο στρατηγικός σχεδιασμός των πειραμάτων για να επιτύχουν ειδικότητα ήταν όπως έχουν ήδη περιγραφεί.<sup>8</sup> Η θερμική προεργασία για την πραγματικού χρόνου PCR έγινε με αρχική μετουσίωση στους 95° C για 5 λεπτά, ακολουθούμενο από 40 κύκλους από: 95° C για 15sec, θερμοκρασία ανόπτησης για 60sec, 72° C για 30sec, και δημιουργία καμπύλης τήξης από 55° C έως 95° C. Η θερμοκρασία ανόπτησης ήταν η βέλτιστη για κάθε primer που χρησιμοποιήθηκε και



κυμαινόταν από 55° C έως 60° C. Όλα τα δείγματα υποβλήθηκαν σε διπλά πειράματα. Η μέθοδος σταθερής καμπύλης χρησιμοποιήθηκε για την απόλυτη ποσοτικοποίηση των προϊόντων ενίσχυσης και η ειδικότητα προσδιορίστηκε πραγματοποιώντας ανάλυση καμπύλης τήξης. Η ομοιόμορφη ενίσχυση των προϊόντων επανελέγχθηκε αναλύοντας τις καμπύλες τήξης των ενισχυμένων προϊόντων (γραφήματα διάστασης). Σταθερές καμπύλες για την έκφραση κάθε γονιδίου προέκυψαν από διαδοχική διάλυση γνωστών ποσοτήτων από πρότυπα cDNA. Το γονίδιο GAPDH χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς και πραγματοποιήθηκε σχετική ποσοτικοποίηση με συσχέτιση του σήματος των διάφορων γονιδίων που μετρήθηκαν με το σήμα του GAPDH. Η έκφραση κάθε γονιδίου μετά από απόλυτη ποσοτικοποίηση και συσχέτιση με τα επίπεδα του γονιδίου αναφοράς GAPDH παρουσιάζονται σε αυθαίρετες μονάδες (arbitrary units).

## **ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Τα περιγραφικά στατιστικά της περίληψης εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση ή ως συχνότητες και ποσοστά ανάλογα. Συνεχείς μεταβλητές συγκρίθηκαν ανάμεσα στις 2 ομάδες με τη χρήση t-tests για ανεξάρτητα δείγματα. Οι κατηγορικές μεταβλητές συγκρίθηκαν με τη χρήση του Fisher's exact test. Ανάλυση διακύμανσης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμήσουν την επίδραση του χρόνου, της ομάδας και της μεταξύ τους αλληλεπίδρασης με τις υπερηχοκαρδιογραφικές παραμέτρους και την έκφραση των γονιδίων. Συντελεστές της συσχέτισης Pearson υπολογίστηκαν επίσης για να εκτιμήσουν τη συσχέτιση ανάμεσα στις μεταβολές στους υπερηχογραφικούς δείκτες και στις μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων. Όλες οι στατιστικές δοκιμασίες ελέγχθηκαν σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας δίπλευρο 5%. Για όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο IBM-SPSS 21.

## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### **ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ**

Τόσο τα δημογραφικά όσο και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών μαζί με τις υπερηχογραφικές παραμέτρους κατά τη στιγμή της εμφύτευσης συνοψίζονται στον πίνακα 1. Η πλειοψηφία των ασθενών ελάμβανε αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης ( $\alpha$ -ΜΕΑ), αναστολείς της αγγειοτενσίνης και διουρητικά. Οι ασθενείς της ομάδας Α παρουσίαζαν υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης  $94\pm 2\%$  με μέση διάρκεια βηματοδοτικού QRS  $142\pm 12$  msec, ενώ στην ομάδα ελέγχου το ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης ήταν  $3\pm 1\%$  με μέση διάρκεια QRS  $85\pm 5$  msec. Οι υπερηχοκαρδιογραφικοί παράμετροι και τα επίπεδα mRNA των γονιδίων που μετρήθηκαν δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις 2 ομάδες κατά την εμφύτευση. Περαιτέρω ανάλυση των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών (αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, υπερλιπιδαιμία, στεφανιαία νόσος) δεν αποκάλυψαν κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την κλινική έκβαση. Αυτό θα μπορούσε πιθανόν να αποδοθεί στο μικρό αριθμό ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη.

## **ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ**

Ανάλυση διακύμανσης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων ANOVA έδειξαν σημαντική επίδραση χρόνου-ομάδας στην έκφραση των γονιδίων SERCA ( $p=0.048$ ) και  $\alpha$ -MHC ( $p=0.032$ ). Στην ομάδα Α, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση του χρόνου με το γονίδιο SERCA ( $p<0.001$ ) και οριακή συσχέτιση με το γονίδιο  $\alpha$ -MHC ( $p=0.06$ ). Το γονίδιο SERCA ελλατώθηκε σημαντικά από τη στιγμή της εμφύτευσης και μέχρι τον 3ο μήνα της παρακολούθησης ( $p<0.001$ ), χωρίς επιπλέον μεταβολές μετά, ενώ το γονίδιο  $\alpha$ -MHC μεταβλήθηκε μεταξύ στους 3 και 6 μήνες παρακολούθησης ( $p=0.015$ ). Για το γονίδιο  $\beta$ -MHC δεν υπήρξε κάποια σημαντική μεταβολή σε σχέση με την ομάδα ( $p=0.38$ ) ή αλληλεπίδραση ( $p=0.58$ ), αλλά παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή σε σχέση με το χρόνο ( $p=0.58$ ). Post hoc τεστ έδειξαν ότι τα επίπεδα της έκφρασης του γονιδίου στους 12 μήνες παρακολούθησης ήταν σημαντικά μικρότερα από ότι τη στιγμή της

εμφύτευσης. Στην ομάδα B δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές. Οι ακριβείς μετρήσεις και η διαγραμματική απεικόνιση της έκφρασης των 3 αυτών γονιδίων κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης στις 2 ομάδες παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 2 και το διάγραμμα 1 αντίστοιχα.

## **ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΙΣ ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ/ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΓΕΩΜΕΤΡΙΑ ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ**

Δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του ίδιου και διαφορετικών παρατηρητών μεταξύ των μετρήσεων από τους ασθενείς. Σημαντικές αλληλεπιδράσεις χρόνου-ομάδας παρατηρήθηκαν για την τελοσυστολική, τελοδιαστολική διάμετρο της αριστεράς κοιλίας και το κλάσμα εξώθησης ( $p < 0.001$  for all). Πιο συγκεκριμένα, στην ομάδα A ήταν εμφανής μια πολύ σημαντική συσχέτιση της τελοσυστολικής διαμέτρου με το χρόνο ( $p < 0.001$ ), ενώ στην ομάδα B δεν παρατηρήθηκε καμία τέτοια συσχέτιση ( $p = 0.109$ ). Στην ομάδα A post hoc κατά Bonferroni σταθμισμένα τεστ έδειξαν μια σημαντική αύξηση σε κάθε χρονικό σημείο που εξετάστηκε ( $p < 0.001$ ). Ομοίως ήταν εμφανής μια σημαντική αύξηση της τελοδιαστολικής διαμέτρου σε κάθε χρονική στιγμή που εξετάστηκε στην ομάδα A, ενώ στην ομάδα B υπήρξε μία σημαντική αλλά μάλλον μικρή διαφορά στον 1ο και 2ο χρόνο παρακολούθησης ( $p = 0.005$ ) σε σχέση με τη στιγμή της εμφύτευσης. Επιπλέον, το κλάσμα εξώθησης παρουσίασε μια σημαντική σταθερή μείωση σε κάθε χρονική στιγμή στην ομάδα A ( $p < 0.001$ ), ενώ στην ομάδα B δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή σε σχέση με το χρόνο.

## **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ**

Στη μελέτη αυτή επιδιώξαμε να αξιολογήσουμε εάν οι μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων σε πρώιμο στάδιο (από τη στιγμή της εμφύτευσης μέχρι και τον πρώτο χρόνο) θα

μπορούσαν να συσχετιστούν με επιδείνωση στην λειτουργικότητα και γεωμετρία της αριστεράς κοιλίας που καθίσταται εμφανής σε μεταγενέτερο στάδιο κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης.

Πράγματι, μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων σε πρώιμο στάδιο φαίνεται να σχετίζονται με δυσμενή αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας που ανιχνεύθηκε μήνες αργότερα. Πιο συγκεκριμένα, αύξηση στην έκφραση του γονιδίου b-MHC τους πρώτους 6 μήνες, φαίνεται να σχετίζεται με αύξηση στις διαστάσεις της αριστεράς κοιλίας και μείωση του κλάσματος εξώθησης που έγιναν εμφανείς σχεδόν 2 χρόνια αργότερα (διάγραμμα 3). Επιπλέον, μείωση της έκφρασης του γονιδίου SERCA κατά τη διάρκεια του πρώτου χρόνου συσχετίστηκε με αύξηση στις διαστάσεις της αριστεράς κοιλίας και μείωση του κλάσματος εξώθησης στα 2 και 4 έτη παρακολούθησης (διάγραμμα 4).

Για να αξιολογήσουμε τη βαρύτητα της δυσμενούς αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας στους ασθενείς της ομάδας A στα 4 έτη παρακολούθησης, ορίσαμε ως σημαντική αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας την αύξηση στην τελοδιαστολική διάμετρο  $\geq 15\%$  και την ελάττωση του κλάσματος εξώθησεως  $\geq 15\%$ . Με βάση τα παραπάνω κριτήρια, το 25% των ασθενών της ομάδας A παρουσίασε σημαντική δυσμενή αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας. Επιπλέον, οι ασθενείς αυτοί παρουσίαζαν σημαντικότερες αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου b-MHC στους 6 μήνες και του SERCA στο 1 έτος παρακολούθησης, σε σχέση με αυτούς που δεν εμφάνισαν σημαντική δυσμενή αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας: και οι διαφορές ανάμεσα στις 2 αυτές υποομάδες ήταν στατιστικά σημαντικές (πίνακας 4).

## **ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Σε αυτήν τη μελέτη δείξαμε για πρώτη φορά ότι η μόνιμη βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας οδηγεί σε μεταβολές στην έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν τη σύσπαση και υπερτροφία του μυοκαρδίου που είναι ανιχνεύσιμες στο περιφερικό αίμα. Αυτές οι αλλαγές είναι

ανιχνεύσιμες πρώιμα μετά την εμφύτευση του βηματοδότη (ήδη στους πρώτους 3 μήνες) και προηγούνται της δυσμενούς αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας. Επιπλέον, αυτές οι πρώιμα ανιχνεύσιμες μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων φαίνεται να σχετίζονται με την αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας που πραγματοποιείται μακροπρόθεσμα.

Ειδικότερα, στην ομάδα A, τα επίπεδα mRNA του γονιδίου SERCA ελατώθηκαν στους 6 και 12 μήνες παρακολούθησης, ενώ του γονιδίου α-MHC ελατώθηκαν και του β-MHC αυξήθηκαν στους πρώτους έξι μήνες παρακολούθησης, όπως είναι ήδη γνωστό ότι συμβαίνει σε ασθενείς με επιδείνωση της λειτουργικότητας της αριστεράς κοιλίας.<sup>9,10</sup> Πρέπει να σημειωθεί ότι στους 12 μήνες παρακολούθησης τα επίπεδα mRNA του γονιδίου

α-MHC αυξήθηκαν ξανά και τα επίπεδα mRNA του γονιδίου β-MHC ελατώθηκαν. Ωστόσο η αιτία για αυτές τις αλλαγές στους 12 μήνες δεν είναι ξεκάθαρη. Στην ομάδα A, το 25% των ασθενών παρουσίασαν σημαντική αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας και οι μεταβολές στο γονίδιο β-MHC στους 6 μήνες και στο γονίδιο SERCA στους 12 μήνες φαίνεται να σχετίζεται με αυτήν την αναδιαμόρφωση.

Σε αντίθεση, οι ασθενείς της ομάδας B που παρουσίαζαν χαμηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης, δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές ούτε στην έκφραση αυτών των γονιδίων στο περιφερικό αίμα, ούτε στις υπερηχοκαρδιογραφικές παραμέτρους.

## **ΕΚΦΡΑΣΗ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ**

Είναι γνωστό ότι στην παθοφυσιολογία της καρδιακής ανεπάρκειας εμπλέκονται αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων. Η αρνητική καρδιακή αναδιαμόρφωση χαρακτηρίζεται από ενεργοποίηση του "εμβρυικού προγράμματος καρδιακών γονιδίων" που περιλαμβάνει μεταβολές στην ισομορφία της MHC.<sup>11,12</sup> Άλλες μοριακές μεταβολές περιλαμβάνουν μεταβολές στην έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στη σύζευξη διέγερσης-συστολής, όπως το SERCA, οδηγώντας σε μειωμένη διακίνηση ασβεστίου και επομένως μειωμένη συσταλτικότητα και παθολογική

αναδιαμόρφωση στην καρδιακή ανεπάρκεια.<sup>7</sup> Από αυτήν την άποψη, η έκφραση του SERCA και αυτές οι λειτουργικές μεταβολές φαίνεται να συμβάλλουν σε σημαντικά καρδιακά νοσήματα που συχνά οδηγούν σε καρδιακή ανεπάρκεια. Σαν αποτέλεσμα η έκφραση του SERCA, θεωρείται δείκτης αλλά και θεραπευτικός στόχος στην καρδιακή νόσο.<sup>13</sup>

Αν και οι μεταβολές στο γονιδιακό προφίλ θεωρούνται ότι είναι προσαρμοστικός μηχανισμός με τον οποίο η καρδιά απαντά στο αυξημένο μηχανικό φορτίο, ωστόσο επιδεινώνει περαιτέρω τη λειτουργία της αριστεράς κοιλίας και την αναδιαμόρφωση επιτείνοντας την εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας.<sup>14</sup> Αντιστρόφως, η αύξηση των επιπέδων SERCA σε πειραματικά μοντέλα συνδέθηκε με βελτίωση της λειτουργικότητας της αριστεράς κοιλίας.<sup>15</sup> Αλλά και σε μελέτες σε ασθενείς, όταν μια θεραπευτική κίνηση στοχεύει στη διάσπαση αυτού του φαύλου κύκλου, παρατηρείται βελτίωση στην λειτουργικότητα της αριστεράς κοιλίας και αναστροφή του παθολογικού γονιδιακού προφίλ. Πιο συγκεκριμένα, σε ασθενείς με ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, η θεραπεία με β-αποκλειστές όχι μόνο βελτίωσε την λειτουργία της αριστεράς κοιλίας αλλά επιπλέον οδήγησε σε απενεργοποίηση του εμβρυϊκού γονιδιακού προγράμματος με αύξηση στην γονιδιακή έκφραση του SERCA και με μείωση του β-MHC.<sup>9</sup> Ομοίως, σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια τελικού σταδίου η εμφύτευση συσκευής υποβοήθησης της αριστεράς κοιλίας είχε τα ίδια αποτελέσματα στην έκφραση των γονιδίων.<sup>10</sup> Τέλος, σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια η κλινική ανταπόκριση στη θεραπεία του καρδιακού επανασυγχρονισμού σχετίστηκε με ευνοϊκές μεταβολές στην έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν τη συσταλτικότητα και την υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας.<sup>16</sup>

Στην μελέτη μας οι μεταβολές που παρατηρήθηκαν στην έκφραση των γονιδίων αντιπροσωπεύουν μία πρόιμη ένδειξη δυσλειτουργίας της αριστεράς κοιλίας που βαθμιαία θα οδηγούσε σε αρνητική αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας και επιδείνωση της λειτουργίας της αριστεράς κοιλίας.

Με βάση τις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες, οι ασθενείς με κλασσική ένδειξη για εμφύτευση βηματοδότη και διατηρημένη λειτουργικότητα δεν έχουν ένδειξη για αμφικοιλιακό

βηματοδότη. Στην περίπτωση ανάπτυξης καρδιακής ανεπάρκειας, συνίσταται η αναβάθμιση της βηματοδοτικής συσκευής σε αμφικολιακή με στόχο την υποχώρηση των συμπτωμάτων της καρδιακής ανεπάρκειας και της αποκατάστασης της λειτουργικότητας της αριστεράς κοιλίας.<sup>17</sup> Ωστόσο, αναβαθμίζοντας σε αμφικολιακή βηματοδότηση ασθενείς με δυσμενές γονιδιακό προφίλ σε πρώιμο στάδιο, θα μπορούσαμε να αποφύγουμε της εκδήλωση της καρδιακής ανεπάρκειας. Επίσης αποφεύγονται πιθανές επιπλοκές από μία όψιμη αναβάθμιση όπως θρόμβωση φλέβας ή μόλυνση του βηματοδοτικού συστήματος από επανεπεμβάσεις. Φυσικά αυτό θα μπορούσε να εφαρμοστεί σε περιορισμένο αριθμό ασθενών με βάση τη βαρύτητα της διαταραχής του γονιδιακού προφίλ.

## **ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Η πιο αξιόπιστη μέθοδος για την εκτίμηση της έκφρασης των γονιδίων είναι αναμφισβήτη η μυοκαρδιακή βιοψία. Στη μελέτη μας, ωστόσο επιλέξαμε να χρησιμοποιήσουμε περιφερικό αίμα για την εκτίμηση της έκφρασης των γονιδίων. Ο λόγος είναι ότι η μυοκαρδιακή βιοψία είναι μία εξέταση που απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό και τεχνολογία και ακόμα και αν αποδειχθεί ότι μπορεί να προβλέψει την αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας, δε μπορεί ωστόσο να εφαρμοστεί στην καθημέρα κλινική πράξη. Για το λόγο αυτό, υπάρχει ανάγκη για παραμέτρους που είναι εύκολα προσβάσιμοι στην κλινική πράξη, όπως οι μετρήσεις του περιφερικού αίματος. Επιπλέον, το περιφερικό αίμα, έχει προταθεί για τη μέτρηση βιοδεικτών και την παρακολούθηση καρδιαγγειακών νοσημάτων και μπορεί να μας βοηθήσει στην ανίχνευση της βαρύτητας μιας πάθησης.<sup>18</sup>

Η σημαντική αλληλοεπικάλυψη στη μοριακή δομή των κυττάρων του περιφερικού αίματος (PBCs) και των μυοκαρδιακών κυττάρων που παρατηρείται σε μοντέλα ζώων, υπονοεί ότι τα μεταγραφικά μόρια των μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος PBMCs μπορεί να χρησιμεύσουν σαν πρώιμοι μη-επεμβατικοί δείκτες που θα μπορούσαν να προβλέψουν μελλοντική

παθολογική αναδιαμόρφωση.<sup>19</sup>

Επιπλέον, στα PBMCs έχουν αναγνωριστεί signature έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με την έκβαση σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια.<sup>20</sup> Ακόμη, αναφέρεται ότι μεταβολές στην έκφραση των a-MHC, b-MHC και SERCA στα PBMCs σχετίζεται με διαστολική δυσλειτουργία σε ασθενείς με ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια και καρδιακή ανεπάρκεια.<sup>8</sup> Επομένως, η μέτρηση του mRNA στο περιφερικό αίμα, αν και δεν είναι η καλύτερη είναι ωστόσο αξιόπιστη επιλογή. Μία ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στις μεταβολές της έκφρασης των γονιδίων στο περιφερικό αίμα και σε επιδείνωση στην συσταλτικότητα της αριστεράς κοιλίας, θα μπορούσε να είναι εξαιρετικής κλινικής σημασίας.

Ένας δεύτερος περιορισμός σε αυτήν τη μελέτη θα μπορούσε να είναι το γεγονός ότι για τον προσδιορισμό της λειτουργικότητας και της γεωμετρίας της αριστεράς κοιλίας χρησιμοποιήσαμε απλούς δείκτες όπως η τελοσυστολική και τελοδιαστολική διάμετρος και όγκοι της αριστεράς κοιλίας και όχι πιο σύγχρονες τεχνικές όπως το 2-D strain ή η τρισδιάστατη υπερηχοκαρδιογραφία που ενδεχομένως είναι πιο ευαίσθητες στην πρώιμη ανίχνευση της αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας. Όμως, προτιμήσαμε αυτούς τους δείκτες καθώς χρησιμοποιούνται ευρέως στην κλινική πράξη και δεν απαιτούν ιδιαίτερη εκπαίδευση.

Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι η πλειοψηφία των ασθενών έπαιρνε αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου, αναστολείς της δράσης της αγγειοτενσίνης ή/και β-αναστολείς. Τα παραπάνω μόρια είναι γνωστό ότι επιβραδύνουν ή αναστρέφουν την αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας, οπότε δεν μπορούμε να προβλέψουμε τι αντίκτυπο θα είχε η απουσία αυτής της φαρμακευτικής αγωγής στα αποτελέσματα της μελέτης.

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Σε ασθενείς με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης μετά από μόνιμη βηματοδότηση από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας, μεταβολές στην έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν τη συσταλτική



λειτουργία και υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας είναι ανιχνεύσιμες στο περιφερικό αίμα σε πρώιμο στάδιο, πριν να είναι εμφανείς αλλαγές σε υπερηχογραφικούς παραμέτρους. Αυτές οι μεταβολές φαίνεται να σχετίζονται με επιδείνωση της αριστεράς κοιλίας, αν και απαιτούνται μεγαλύτερες μελέτες για να επιβεβαιώσουν αυτό το εύρημα. Αν αποκτήσουμε ισχυρά δεδομένα για ύπαρξη πρώιμων δεικτών που προβλέπουν την αρνητική αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας, τότε ασθενείς που ενδεχομένως θα επωφεληθούν από άλλα είδη βηματοδότησης όπως η αμφικοιλιακή, θα μπορούσαν να ανιχνευθούν σε πιο πρώιμα στάδια.

## ΠΙΝΑΚΕΣ

Παράμετροι	Ομάδα Α (n=24)	Ομάδα Β (n=28)	Τιμή p
<b>Ηλικία (έτη)</b>	79.3±7.4	78.9±8	0.86
<b>Φύλο (άνδρες/γυναίκες)</b>	13/11	15/13	0.99
<b>Ατομικό αναμνηστικό</b>			
Αρτηριακή υπέρταση	19	22	0.65
Υπερλιπιδαιμία	15	18	0.92
Σακχαρώδης διαβήτης	9	12	0.85
Στεφανιαία νόσος	8	10	0.82
<b>ΝΥΗΑ τάξη (I/II)</b>	11/13	12/16	0.75
<b>Υπερηχογραφικές μετρήσεις</b>			
LVEDD (mm)	50±4.9	49.6±4.9	0.86
LVESD (mm)	29.6±3.3	28.64±2.7	0.72
EF (%)	63±10.2	65±9.6	0.69

**Πίνακας 1:** Δημογραφικά/ κλινικά χαρακτηριστικά και υπερηχογραφικές παράμετροι κατά την ένταξη των 2 ομάδων των ασθενών στη μελέτη

Χρονικά σημεία μετρήσεων	mRNA SERCA			mRNA a-MHC			mRNA b-MHC		
	Group A	Group B	P value	Group A	Group B	P value	Group A	Group B	P value
εμφύτευση	8.63±5.54	7.87±5.51	0.623	0.2±0.61	0.06±0.15	0.305	10.77±15.41	25.35±46.07	0.124
3 μήνες	3.48±3.46	6.72±3.9	0.003	0.13±0.2	0.07±0.16	0.240	147.02±340.79	78.23±259.82	0.413
6 μήνες	4.21±2.77	9.83±12.1	0.031	0.02±0.03	0.09±0.16	0.026	59.23±194.58	27.22±70.89	0.422
1 χρόνος	3.56±2.68	8.82±11.05	0.021	0.41±0.98	0.08±0.12	0.110	4.85±13.37	1.83±4.73	0.302

**Πίνακας 2:** Μετρήσεις της έκφρασης των μυοκαρδιακών γονιδίων SERCA, a-MHC, β-MHC στις 2 ομάδες των ασθενών κατά τη διάρκεια των 12 πρώτων μηνών της παρακολούθησης

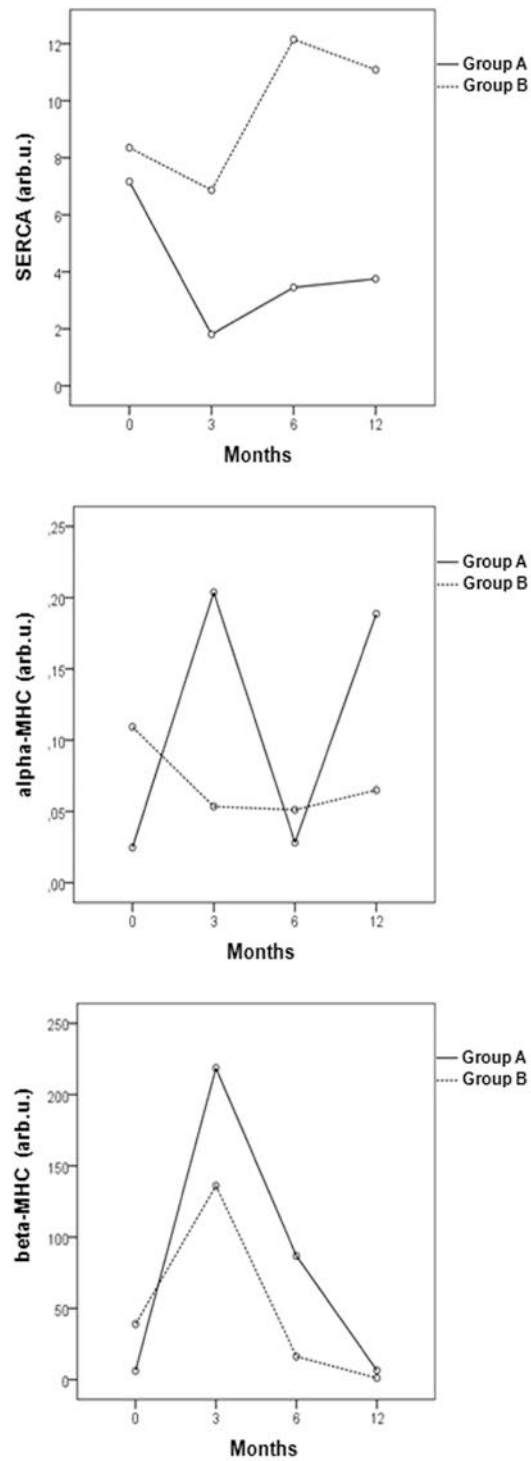
Χρονικές στιγμές υπερηχογραφικής εκτίμησης	LVEDD (mm)		LVESD (mm)		EF (%)	
	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Ομάδα Α	Ομάδα Β
εμφύτευση	50±4.95	49.64±4.93	29.67±3.39	28.64±2.73	63.04±10.22	65.07±9.66
3 μήνες	50.54±4.7	49.79±5.04	30±3.41	29.14±2.99	63.54±8.99	65.64±8.89
1 χρόνο	51.63±4.49	50.57±4.91	<b>31.21±3.75</b>	29.25±2.85	61.71±9.23	65.75±8.46
2 χρόνια	53.79±5.46	50.46±4.94	33.13±4.43	29±2.73	56.58±10.9	65.61±8.15
4 χρόνια	56.71±5.52	50.36±4.84	35.38±4.22	29.04±2.8	52.83±10.81	65.29±8.28

**Πίνακας 3:** Μετρήσεις των υπερηχογραφικών παραμέτρων LVEDD, LVESD, LVEF στις 2 ομάδες ασθενών κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης

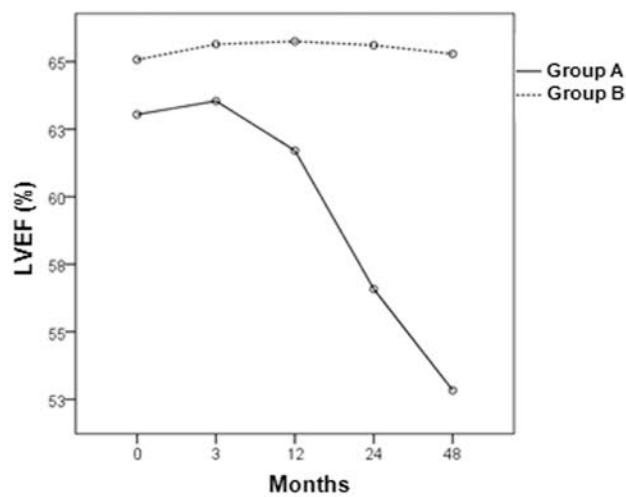
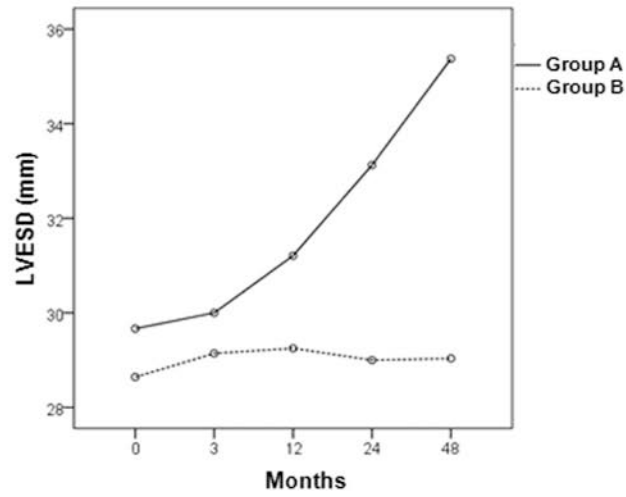
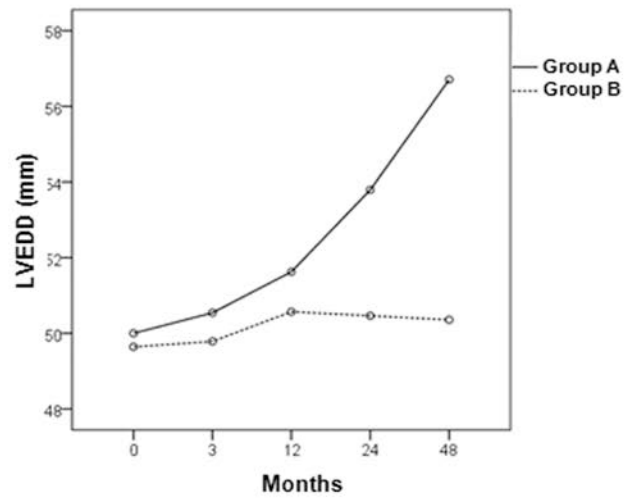
	Δβ-MHC6		ΔSERCA12	
	Αναδιαμόρφωση αριστεράς κοιλίας	Χωρίς αναδιαμόρφωση αριστεράς κοιλίας	Αναδιαμόρφωση αριστεράς κοιλίας	Χωρίς αναδιαμόρφωση αριστεράς κοιλίας
<b>N</b>	<b>6</b>	<b>18</b>	<b>6</b>	<b>18</b>
<b>Mean</b>	<b>209.56</b>	<b>-5.24</b>	<b>-11.3</b>	<b>-3.00</b>
<b>Std. Deviation</b>	<b>373.75</b>	<b>9.49</b>	<b>7.52</b>	<b>2.00</b>
<b>Std. Error mean</b>	<b>152.58</b>	<b>2.23</b>	<b>3.07</b>	<b>0.47</b>

**Πίνακας 4:** Στατιστική σύγκριση των μεταβολών στην έκφραση του γονιδίου β-MHC στους 6 μήνες και του γονιδίου SERCA στον 1 χρόνο, ανάμεσα στις 2 υποομάδες της ομάδας A (αυτούς που παρουσίασαν σημαντική αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας και αυτούς που δεν παρουσίασαν αναδιαμόρφωση ΑΚ). Σημειώνεται ότι οι διαφορές ανάμεσα στις 2 υποομάδες ήταν στατιστικά σημαντικές.

## ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

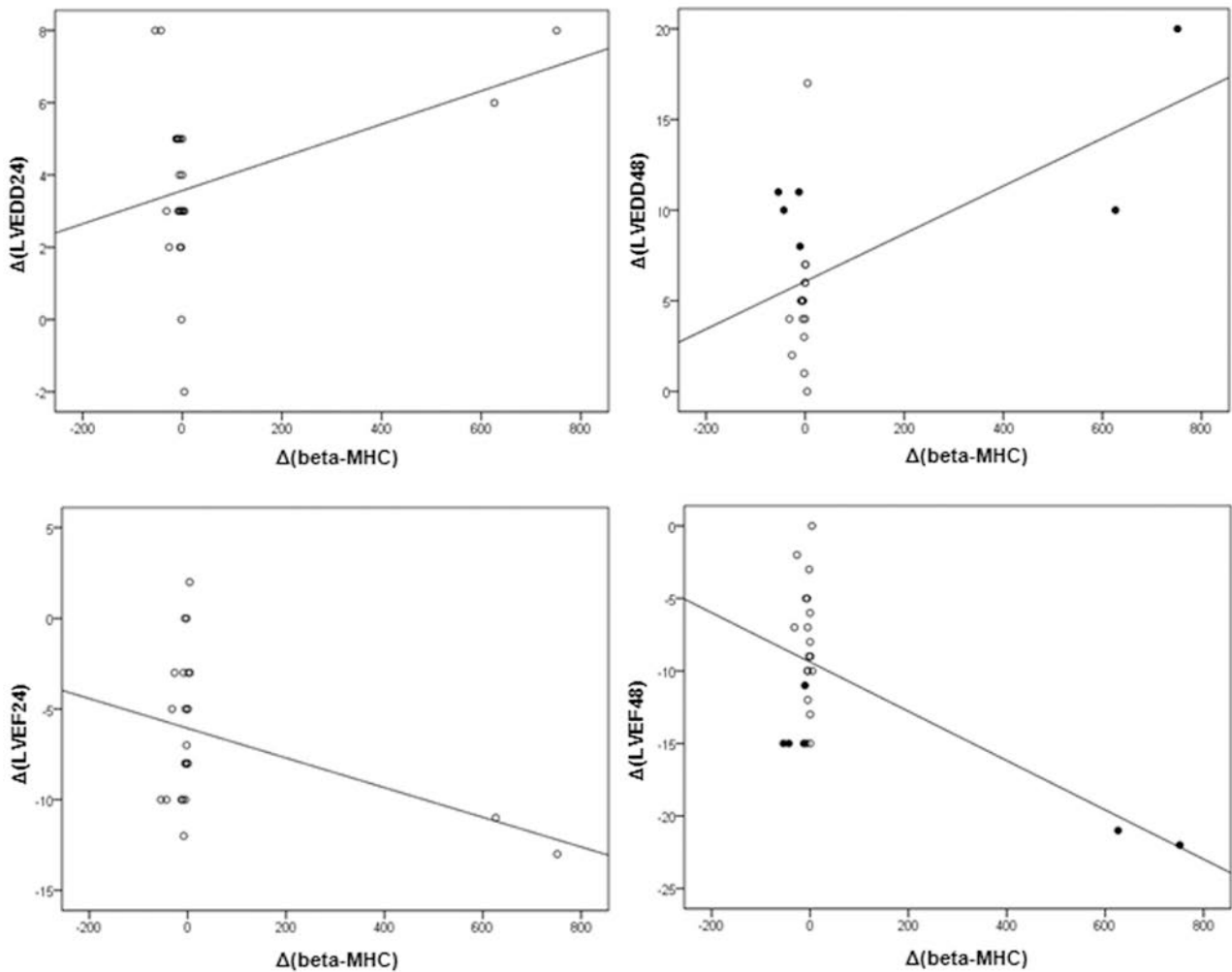


**Διάγραμμα 1:** Μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων στις 2 ομάδες κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης



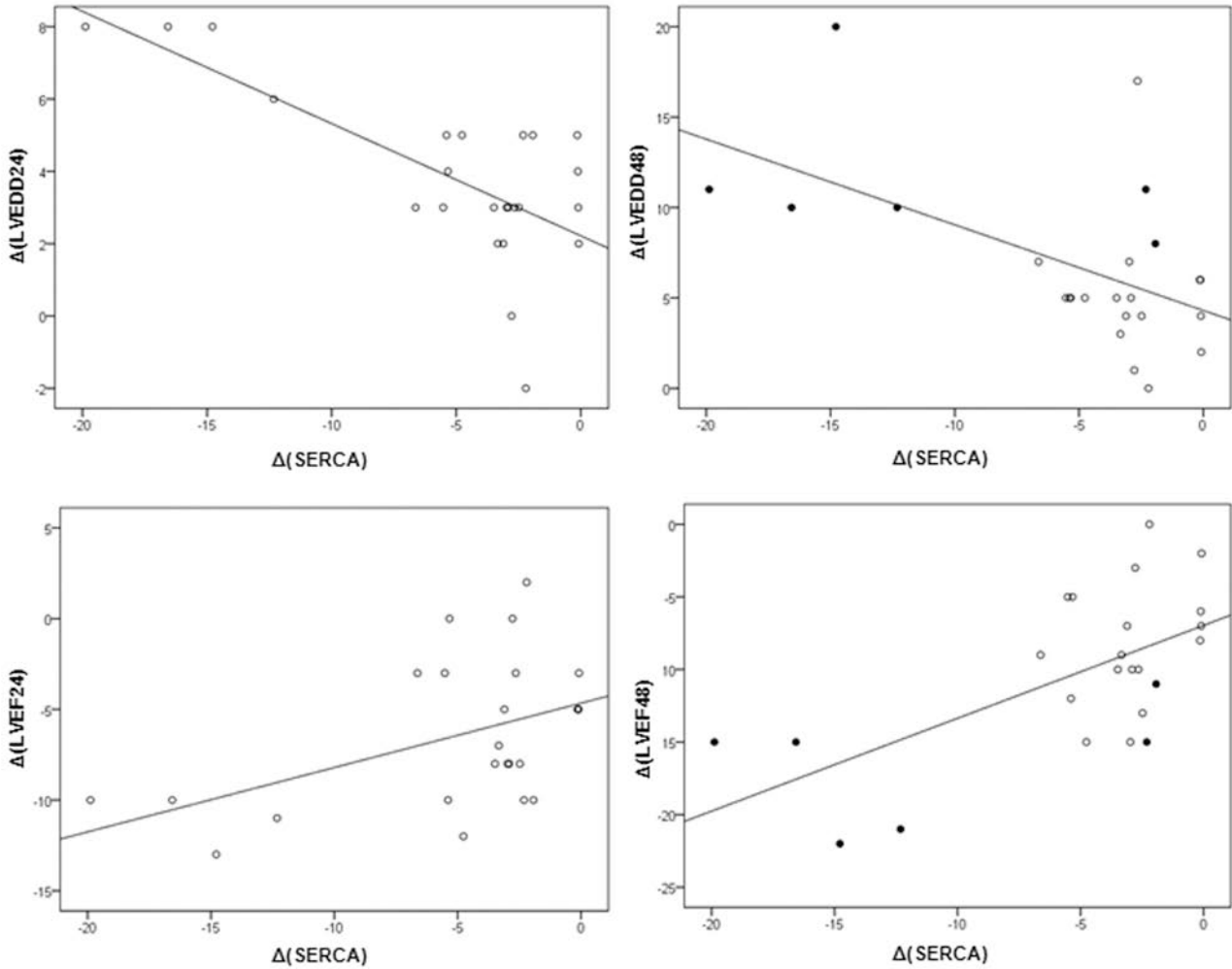
**Διάγραμμα 2:** Μεταβολές στις υπερηχογραφικές παραμέτρους στις 2 ομάδες κατά τη διάρκεια της

παρακολούθησης



**Διάγραμμα 3:** Συσχέτιση των μεταβολών στην έκφραση του γονιδίου β-MHC στους 6 μήνες και των μεταβολών στην τελοδιαστολική διάμετρο (LVEDD) και το κλάσμα εξώθησης (EF) στους 24 μήνες (αριστερά) και 48 μήνες (δεξιά). Με την γεμάτη κουκίδα σημειώνονται οι ασθενείς που παρουσίασαν σημαντική αναδιαμόρφωση αριστεράς κοιλίας.





**Διάγραμμα 4:** Συσχέτιση των μεταβολών στην έκφραση του γονιδίου SERCA στους 6 μήνες και των μεταβολών στην τελοδιαστολική διάμετρο (LVEDD) και το κλάσμα εξώθησης (EF) στους 24 μήνες (αριστερά) και 48 μήνες (δεξιά). Με την γεμάτη κουκίδα σημειώνονται οι ασθενείς που παρουσίασαν σημαντική αναδιαμόρφωση αριστεράς κοιλίας.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Shimony A, Eisenberg MJ, Filion KB, Amit G. Beneficial effects of right ventricular non-apical vs. apical pacing: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *Europace*. 2012;14:81-91
2. Sweeney MO, Hellkamp AS, Lee KL, Lamas GA. Association of prolonged QRS duration with death in a clinical trial of pacemaker therapy for sinus node dysfunction. *Circulation*. 2005;111:2418-23.
3. Sweeney MO, Hellkamp AS, Ellenbogen KA, Greenspon AJ, Freedman RA, Lee KL et al. Adverse effect of ventricular pacing on heart failure and atrial fibrillation among patients with normal baseline QRS duration in a clinical trial of pacemaker therapy for sinus node dysfunction. *Circulation*. 2003;107:2932-7.
4. Zhang XH, Chen H, Siu CW, Yiu KH, Chan WS, Lee KL, et al. New-onset heart failure after permanent right ventricular apical pacing in patients with acquired high-grade atrioventricular block and normal left ventricular function. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2008;19:136-41.
5. Siu CW, Wang M, Zhang XH, Lau CP, Tse HF. Analysis of ventricular performance as a function of pacing site and mode. *Prog Cardiovasc Dis*. 2008;51:171-82.
6. Gupta MP. Factors controlling cardiac myosin-isoform shift during hypertrophy and heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2007;43:388-403.
7. Periasamy M, Bhupathy P, Babu GJ. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. *Cardiovasc Res*. 2008;77:265-273.

8. Kontaraki JE, Parthenakis FI, Nyktari EG, Patrianakos AP, Vardas PE. Myocardial gene expression alterations in peripheral blood mononuclear cells of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2010;12:541-548.
9. Lowes BD, Gilbert EM, Abraham WT, Minobe WA, Larrabee P, Ferguson D, et al. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *N Engl J Med.* 2002;346:1357-6.
10. Heerdt PM, Holmes JW, Cai B, Barbone A, Madigan JD, Reiken S, et al. Chronic unloading by left ventricular assist device reverses contractile dysfunction and alters gene expression in end-stage heart failure. *Circulation.* 2000;102:2713-9.
11. Oka T, Xu J, Molkenin JD. Re-employment of developmental transcription factors in adult heart disease. *Seminars in Cell & Developmental Biology.* 2007;18:117-131.
12. Rajabi M, Kassiotis C, Razeghi P, Taegtmeier H. Return to the fetal gene program protects the stressed heart: a strong hypothesis. *Heart Failure Reviews.* 2007;12:331-343.
13. Shareef MA, Anwer LA, Poizat C. Cardiac SERCA2A/B: Therapeutic targets for heart failure. *Eur J Pharmacol.* 2013;724C:1-8.
14. Herron TJ, Korte FS, McDonald KS. Loaded shortening and power output in cardiac myocytes are dependent on myosin heavy chain isoform expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281:H1217-22.
15. Muller OJ, Lange M, Rattunde H, Lorenzen HP, Muller M, Frey N, et al. Transgenic rat hearts overexpressing SERCA2a show improved contractility under baseline conditions and pressure overload. *Cardiovasc Res.* 2003;59:380-9.
16. Vanderheyden M, Mullens W, Delrue L, Goethals M, de Bruyne B, Wijns W, et al. Myocardial gene expression in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy responders versus nonresponders. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51:129-36.
17. Brignole M, Auricchio A, Baron-Esquivias G, Bordachar P, Boriani G, Breithardt OA, et al. 2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the Task

Force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace* 2013;15(8):1070-118.

18. Aziz H, Zaas A, Ginsburg G. Peripheral blood gene expression profiling for cardiovascular disease assessment. *Genomic Medicine*. 2007;1:105-112.
19. Gerling IC, Ahokas RA, Kamalov G, Zhao W, Bhattacharya SK, Sun Y, et al. Gene Expression Profiles of Peripheral Blood Mononuclear Cells Reveal Transcriptional Signatures as Novel Biomarkers for Cardiac Remodeling in Rats with Aldosteronism and Hypertensive Heart Disease. *JACC Heart failure*. 2013;1.
20. Vanburen P, Ma J, Chao S, Mueller E, Schneider DJ, Liew CC. Blood gene expression signatures associate with heart failure outcomes. *Physiol Genomics* 2011;43(8):392-7.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

**Η επίδραση του εύρους του βηματοδοτικού QRS στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη συστολική λειτουργικότητα της αριστεράς κοιλίας σε ασθενείς μόνιμα βηματοδοτημένους από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας**

### Σκοπός της μελέτης

Η κορυφή της δεξιάς κοιλίας, αν και αποτελεί τη πιο δημοφιλή θέση τοποθέτησης του κοιλιακού ηλεκτροκαθετήρα, έχει αποδειχθεί ότι εισάγει μη φυσιολογική διέγερση της αριστεράς κοιλίας οδηγώντας στην εμφάνιση μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση σε ένα σημαντικό ποσοστό βηματοδοτημένων ασθενών.<sup>1,2</sup> Ο κίνδυνος εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση εξαρτάται από την αλληλεπίδραση πολλαπλών παραγόντων που είτε σχετίζονται με τον ασθενή, είτε με τη βηματοδότηση. Παράγοντες που σχετίζονται με τον ασθενή είναι η παρουσία ενδογενών κολποκοιλιακών ή κοιλιακών διαταραχών αγωγιμότητας, η παρουσία ή όχι κολπικής μαρμαρυγής, το κλάσμα εξώθησης της αριστεράς κοιλίας, η παρουσία καρδιακής ανεπάρκειας ή/και στεφανιαίας νόσου κατά την εμφύτευση. Παράγοντες που σχετίζονται με τη βηματοδότηση είναι ο τύπος της βηματοδότησης, το σημείο εμφύτευσης του κοιλιακού ηλεκτροκαθετήρα, το εύρος του βηματοδοτικού QRS, το ποσοστό της κοιλιακής βηματοδότησης και η διάρκεια της βηματοδότησης.<sup>2,3</sup>

Στην παρούσα μελέτη κάναμε την υπόθεση ότι το εύρος του βηματοδοτικού QRS θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως δείκτης του δυσσυγχρονισμού που εισάγει η βηματοδότηση από την

κορυφή της δεξιάς κοιλίας. Έτσι, ο σκοπός της μελέτης ήταν να διερευνήσουμε την επίδραση του εύρους του βηματοδοτικού QRS στην έκφραση στο περιφερικό αίμα γονιδίων που σχετίζονται με την συστολική λειτουργικότητα και υπερτροφία όπως επίσης και να διερευνήσει εάν το εύρος του βηματοδοτικού QRS σχετίζεται με το βαθμό της ανάστροφης αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας και σαν αποτέλεσμα την κλινική επιδείνωση των βηματοδοτημένων ασθενών.

## **ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

### **ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Πρόκειται για προοπτική ελεγχόμενη μελέτη, που πραγματοποιήθηκε σε ένα κέντρο, η περίοδος στρατολόγησης διέρκησε 1 χρόνο και η μέση παρακολούθηση των ασθενών 4 χρόνια. Τα στοιχεία που αφορούν την έκγραση των γονιδίων στο περιφερικό αίμα συλλέχθηκαν κατά την ένταξη των ασθενών στη μελέτη (ακριβώς πριν την εμφύτευση του βηματοδότη), στους 3,6 και 12 μήνες. Οι υπερηχοκαρδιογραφικοί παράμετροι εκτιμήθηκαν κατά την εμφύτευση καθώς και τον 1ο, 2ο και 4ο χρόνο μετά από αυτήν. Η μελέτη είναι σύμφωνη με τη διακήρυξη του Ελσίνκι, όλοι οι ασθενείς αφού ενημερώθηκαν έδωσαν γραπτή συναίνεση πριν την ένταξη στη μελέτη και το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την αρμόδια επιτροπή του νοσοκομείου.

### **ΠΑΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Στη μελέτη συμμετείχαν 52 ασθενείς (34 άνδρες ηλικίας  $79,17 \pm 7,7$  έτη) με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης ( $EF \geq 45\%$ ) που υποβλήθηκαν σε εμφύτευση μόνιμου τεχνητού βηματοδότη λόγω βραδυκαρδικών ενδείξεων. Ο κοιλιακός ηλεκτροκαθετήρας τοποθετήθηκε στην κορυφή της δεξιάς κοιλίας σε όλους τους ασθενείς. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε έλεγχο του βηματοδότη για να διευκρινιστεί το ακριβές ποσοστό της κοιλιακής βηματοδότησης και σε

ηλεκτροκαρδιογραφήματα για να καθοριστεί το εύρος του βηματοδοτικού QRS μετά από βέλτιστο προγραμματισμό της βηματοδοτικής συσκευής για ελαχιστοποίηση της μη απαιραίτητης κοιλιακής βηματοδότησης. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 ομάδες με βάση το εύρος του βηματοδοτικού QRS μετά την εμφύτευση. Η ομάδα Α αποτελείται από 24 ασθενείς που βηματοδοτήθηκαν για διαταραχές κολποκοιλιακής αγωγιμότητας με εύρος βηματοδοτικού QRS μετά την εμφύτευση  $\geq 120$  msec και ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης που υπερέβαινε το 90%, ενώ η ομάδα Β (ομάδα ελέγχου) αποτελούνταν από 28 ασθενείς με διατηρημένη ενδογενή κολποκοιλιακή αγωγιμότητα που έλαβαν μόνιμο βηματοδότη λόγω συνδρόμου νοσούντος φλεβοκόμβου με αποτέλεσμα το εύρος του QRS μετά την εμφύτευση να είναι  $< 120$  msec και το ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης μικρότερο από 5%.

## **ΥΠΕΡΗΧΟΚΑΡΔΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Κατά τη στιγμή της εμφύτευσης καθώς και τον 1ο, 2ο και 4ο χρόνο μετά από αυτήν οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη για την εκτίμηση της λειτουργικότητας και της δομής της αριστεράς κοιλίας. Οι υπερηχοκαρδιογραφικές εικόνες ελήφθηκαν με τους ασθενείς κατακεκλιμένους στην αριστερή πλάγια θέση από 2 έμπειρους υπερηχογραφιστές που δεν είχαν γνώση ή προσβαση στα στοιχεία της μελέτης, χρησιμοποιώντας ένα σύστημα υπερήχων Vivid 7 (General Electric, Horten, Norway) με μορφοτροπέα 1,5-3,6MHz (m4s). Οι επιμέρους μετρήσεις έγιναν σε δεύτερο χρόνο από τις αποθηκευμένες εικόνες. Οι τελοδιαστολικοί (LVEDD), τελοσυστολικοί (LVESD) διάμετροι της αριστεράς κοιλίας μετρήθηκαν με τη χρήση M-mode από λήψεις από τον παραστερνικό μακρύ άξονα, ενώ οι τελοσυστολικοί, τελοδιαστολικοί όγκοι και το κλάσμα εξώθησης (EF) από κορυφαίες τομές 2 και 4 κοιλοτήτων με βάση τον διεπίπεδο κανόνα Simpson.

## ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

### Απομόνωση του RNA και ποσοτική RT-PCR

Τα δείγματα του αίματος συλλέχθηκαν σε σωληνίσκους αιθυλενοδιαμιδο-τετρα-οξικού οξέως (EDTA). Τα μονοπύρηνια κύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMCs) απομονώθηκαν με φυγοκέντρηση με ficoll-paque plus (Stem Cell Technologies Inc., Vancouver, BC, Canada), ενώ το ολικό RNA απομονώθηκε με χρήση του TRI-αντιδραστηρίου (Ambion, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). Τα δείγματα RNA από τις μετρήσεις για κάθε ένα ασθενή αποθηκεύθηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυση τους. Πραγματοποιήθηκε ανάστροφη μεταγραφή 1μg ολικού RNA με ολιγο-(dT) χρησιμοποιώντας το σύστημα ανάστροφης μεταγραφής (Promega, Madison, USA) σε αντιδράσεις όγκου 20μl. Οι μετρήσεις των επιπέδων του mRNA πραγματοποιήθηκαν με ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου ανάστροφης μεταγραφής (RT-PCR) με τη χρήση του συστήματος ανίχνευσης STRATAGENE Mx3000P. Οι μετρήσεις PCR πραγματοποιήθηκαν σε 2μl προτύπων cDNA με τη χρήση του SYBR Green PCR Master Mix (Bio-Rad, CA, USA) σε αντιδράσεις 20μl. Οι ακολουθίες των primer για την Ca-ATPάση του σαρκοπλασματικού δικτύου (SERCA), την βαριά αλυσίδα της α-μυοσίνης (α-MHC), την βαριά αλυσίδα της β-μυοσίνης (β-MHC) και την γλυκεραλδεύδο-3-φωσφατιδουδρογονάση (GAPDH), όπως επίσης και ο στρατηγικός σχεδιασμός των πειραμάτων για να επιτύχουν ειδικότητα ήταν όπως έχουν ήδη περιγραφεί.<sup>8</sup> Η θερμική προεργασία για την πραγματικού χρόνου PCR έγινε με αρχική μετουσίωση στους 95° C για 5 λεπτά, ακολουθούμενο από 40 κύκλους από: 95° C για 15sec, θερμοκρασία ανόπτησης για 60sec, 72° C για 30sec, και δημιουργία καμπύλης τήξης από 55° C εως 95° C. Η θερμοκρασία ανόπτησης ήταν η βέλτιστη για κάθε primer που χρησιμοποιήθηκε και κυμαινόταν από 55° C εως 60° C. Όλα τα δείγματα υποβλήθηκαν σε διπλά πειράματα. Η μέθοδος



σταθερής καμπύλης χρησιμοποιήθηκε για την απόλυτη ποσοτικοποίηση των προϊόντων ενίσχυσης και η ειδικότητα προσδιορίστηκε πραγματοποιώντας ανάλυση καμπύλης τήξης. Η ομοιόμορφη ενίσχυση των προϊόντων επανελέχθηκε αναλύοντας τις καμπύλες τήξης των ενισχυμένων προϊόντων (γραφήματα διάστασης). Σταθερές καμπύλες για την έκφραση κάθε γονιδίου προέκυψαν από διαδοχική διάλυση γνωστών ποσοτήτων από πρότυπα cDNA. Το γονίδιο GAPDH χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς και πραγματοποιήθηκε σχετική ποσοτικοποίηση με συσχέτιση του σήματος των διάφορων γονιδίων που μετρήθηκαν με το σήμα του GAPDH. Η έκφραση κάθε γονιδίου μετά από απόλυτη ποσοτικοποίηση και συσχέτιση με τα επίπεδα του γονιδίου αναφοράς GAPDH παρουσιάζονται σε αυθαίρετες μονάδες (arbitrary units).

## **ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Τα περιγραφικά στατιστικά της περίληψης εκφράζονται ως μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση ή ως συχνότητες και ποσοστά ανάλογα. Συνεχείς μεταβλητές συγκρίθηκαν ανάμεσα στις 2 ομάδες με τη χρήση t-tests για ανεξάρτητα δείγματα. Οι κατηγορικές μεταβλητές συγκρίθηκαν με τη χρήση του Fisher's exact test. Ανάλυση διακύμανσης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμήσουν την επίδραση του χρόνου, της ομάδας και της μεταξύ τους αλληλεπίδρασης με τις υπερηχοκαρδιογραφικές παραμέτρους και την έκφραση των γονιδίων. Συντελεστές της συσχέτισης Pearson υπολογίστηκαν επίσης για να εκτιμήσουν τη συσχέτιση ανάμεσα στις μεταβολές στους υπερηχογραφικούς δείκτες και στις μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων. Όλες οι στατιστικές δοκιμασίες ελέγχθηκαν σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας δίπλευρο 5%. Για όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο IBM-SPSS 21.

## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### **ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ**

Τόσο τα δημογραφικά όσο και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών μαζί με τις υπερηχογραφικές παραμέτρους κατά τη στιγμή της εμφύτευσης συνοψίζονται στον πίνακα 1. Η πλειοψηφία των ασθενών ελάμβανε αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (α-MEA), αναστολείς της αγγειοτενσίνης και διουρητικά. Οι ασθενείς της ομάδας A παρουσίαζαν μέση διάρκεια βηματοδοτικού QRS  $142\pm 12$  msec και υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης  $94\pm 2\%$ . Στην ομάδα ελέγχου η μέση διάρκεια QRS ήταν  $85\pm 5$  msec και το ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης  $3\pm 1\%$ . Οι υπερηχοκαρδιογραφικοί παράμετροι και τα επίπεδα mRNA του γονιδίου SERCA δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις 2 ομάδες κατά την εμφύτευση. Περαιτέρω ανάλυση των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών (αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, υπερλιπιδαιμία, στεφανιαία νόσος) δεν αποκάλυψαν κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την κλινική έκβαση. Αυτό θα μπορούσε πιθανόν να αποδοθεί στο μικρό αριθμό ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη.

### **ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ SERCA**

Στην ομάδα A, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση του χρόνου με το γονίδιο SERCA, τα επίπεδα του οποίου ελατώθηκαν σημαντικά από τη στιγμή της εμφύτευσης και μέχρι τον 3ο μήνα της παρακολούθησης ( $p < 0.001$ ), χωρίς επιπλέον μεταβολές μετά. Στην ομάδα B δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στην έκφραση του γονιδίου. Οι ακριβείς μετρήσεις και η διαγραμματική απεικόνιση της έκφρασης του γονιδίου SERCA κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης στις 2 ομάδες παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 2 και το διάγραμμα 1

αντίστοιχα.

## **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΕΥΡΟΥΣ ΤΟΥ QRS ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ SERCA**

Στην ομάδα A, το εύρος του βηματοδοτικού QRS παρουσίαζε σημαντική συσχέτιση με τις μεταβολές της έκφρασης του γονιδίου SERCA. Όσο μεγαλύτερο το εύρος του βηματοδοτικού QRS, τόσο πιο σημαντική ήταν η μείωση των επιπέδων του γονιδίου SERCA ( $R=-0.607$ ,  $p=0.002$ ) (διάγραμμα 2). Στην ομάδα ελέγχου δεν παρατηρήθηκε καμία απολύτως συσχέτιση του εύρους του QRS μετά την εμφύτευση με την έκφραση του SERCA.

## **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΕΥΡΟΥΣ ΤΟΥ QRS ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ/ ΔΙΑΣΤΑΣΕΩΝ ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΑΣ ΚΟΙΛΙΑΣ**

Δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του ίδιου και διαφορετικών παρατηρητών μεταξύ των υπερηχογραφικών μετρήσεων για τους ασθενείς. Στην ομάδα A παρατηρήθηκε συσχέτιση ανάμεσα στο εύρος του βηματοδοτικού QRS και τη βαρύτητα της ανάστροφης αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας. Όσο μεγαλύτερο το εύρος του βηματοδοτικού QRS, τόσο πιο μεγάλη η μείωση του κλάσματος εξωθήσεως ( $R=-0.595$ ,  $p=0.002$ ) και τόσο μεγαλύτερη η αύξηση των διαστάσεων της αριστεράς κοιλίας (για την τελοσυστολική διάμετρο  $R=-0.354$ ,  $p=0.009$  και για την τελοδιαστολική διάμετρο  $R=-0.535$ ,  $p=0.007$ ) (διάγραμμα 3). Μετά από μέσο χρόνο παρακολούθησης 4 χρόνια, το 25% των ασθενών της ομάδας A ανέπτυξαν μυοκαρδιοπάθεια επαγόμενη από τη βηματοδότηση (που ορίστηκε ως αύξηση στην τελοδιαστολική διάμετρο της αριστεράς κοιλίας  $\geq 15\%$  και μείωση του κλάσματος εξώθησης  $\geq 15\%$ ). Όλοι τους είχαν εύρος βηματοδοτικού QRS  $>150$  msec. Στην ομάδα B δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές των διαστάσεων της αριστεράς κοιλίας ή του κλάσματος

εξώθησης και δεν υπήρχε καμία συσχέτιση των παραπάνω παραμέτρων με το εύρος του QRS μετά την εμφύτευση.

Στην ομάδα A υπήρχε συσχέτιση της μεταβολής της έκφρασης του γονιδίου SERCA που διαπιστώνεται σε πρώιμο στάδιο (ήδη τους πρώτους 3 μήνες μετά την εμφύτευση) με την ανάστροφη αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας που εμφανίζεται σε πολύ μεταγενέστερο στάδιο. Το εύρημα αυτό συνάδει με τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης που κατέδειξε ότι οι μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων SERCA και  $\beta$ -MHC είναι ανιχνεύσιμες στο περιφερικό αίμα πρώιμα μετά την εμφύτευση μόνιμου τεχνητού βηματοδότη και προηγούνται κατά πολύ της δυσμενούς κοιλιακής αναδιαμόρφωσης που διαπιστώνεται υπερηχογραφικά πολύ αργότερα.<sup>5</sup>

## **ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε για πρώτη φορά, ότι το εύρος του βηματοδοτικού QRS συσχετίζεται με μεταβολές στην έκφραση στο περιφερικό αίμα του γονιδίου SERCA, οι οποίες προηγούνται της επιδείνωσης της συστολικής λειτουργικότητας και της ανάστροφης αναδιαμόρφωσης σε βηματοδοτημένους ασθενείς με διατηρημένη λειτουργικότητα. Στην μελέτη μας το εύρος του βηματοδοτικού QRS παρουσίαζε σημαντική συσχέτιση με την ανάστροφη αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας και ήταν ενδεικτικό της εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση, όπως έχει ήδη περιγραφεί και από άλλες μελέτες. Όμως το εύρος του βηματοδοτικού QRS φαίνεται να συσχετίζεται και με τις μεταβολές στην έκφραση του γονιδίου SERCA. Ειδικότερα, καθώς το εύρος του βηματοδοτικού QRS μεγαλώνει, η μείωση στην έκφραση του γονιδίου SERCA (που παριστά δείκτη της λειτουργικότητας της αριστεράς κοιλίας) γίνεται σημαντική ( $R=-0.607$ ,  $p=0.002$ ). Ενδιαφέρον αποτελεί, ότι οι ασθενείς με στενό QRS μετά την εμφύτευση δεν παρουσιάζουν καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή ούτε στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη λειτουργικότητα και υπερτρογία της αριστεράς κοιλίας, ούτε στις

υπερηχογραφικές παραμέτρους, όπως έχει ήδη περιγραφεί σε προηγούμενη μελέτη.<sup>5</sup>

Είναι γνωστό ότι παθοφυσιολογικές καταστάσεις αιμοδυναμικού ή μεταβολικού stress όπως είναι η καρδιακή ανεπάρκεια καταστέλλουν το γονιδιακό πρόγραμμα μετά τη γέννηση και επαναενεργοποιούν το “εμβρυικό γονιδιακό πρόγραμμα”.<sup>6</sup> Η επανεμφάνιση του “εμβρυικού γονιδιακού προγράμματος” πυροδοτεί την αλλαγή ισομορφών μυοκαρδιακών πρωτεϊνών, μεταβολικών ενζύμων και πρωτεϊνών του σαρκομερίου.<sup>7</sup> Παθολογική έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν τη σύζευξη διέγερσης-συστολής όπως το SERCA, οδηγούν διαταραχή της διαχείρισης του ασβεστίου, συστολική δυσλειτουργία και σαν επακόλουθο δυσμενή αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας.<sup>8</sup> Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα το γονίδιο SERCA αποτελεί τόσο δείκτη όσο και θεραπευτικό στόχο της καρδιακής ανεπάρκειας.<sup>9</sup> Πράγματι, έχει περιγραφεί ότι τα επίπεδα του SERCA μειώνονται με την προόδο της καρδιακής ανεπάρκειας, ενώ αυξάνουν ξανά με την υποχώρηση της.<sup>10,11</sup>

Η συχνότητα εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση στη σύγχρονη βιβλιογραφία ποικίλει ανάλογα με τον πληθυσμό που μελετήθηκε καθώς και αναλόγως αν η διάγνωση της πρωτοεμφανιζόμενης καρδιακής ανεπάρκειας βασίστηκε σε υπερηχογραφικά ή κλινικά κριτήρια. Αναλυτικότερα, ασθενείς με φυσιολογική ή διατηρημένη λειτουργικότητα, χωρίς προηγούμενο ιστορικό καρδιακής ανεπάρκειας ή/και στεφανιαίας νόσου φαίνεται να παρουσιάζουν μικρό ποσοστό μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση. Στη μελέτη UKPACE, 2568 ασθενείς με διατηρημένη λειτουργικότητα, παρουσίασαν ετήσια συχνότητα νοσηλείας λόγω καρδιακής ανεπάρκειας που δεν μπορούσε να αποδοθεί σε άλλη αιτιολογία σε ποσοστό 3.5% η ομάδα με τη διπλοεστιακή βηματοδότηση και 3.1% η μονοεστιακή βηματοδότηση.<sup>12</sup> Στη μελέτη MOST που συμπεριέλαβε 2010 ασθενείς με μέση παρακολούθηση 33.1 μήνες, η συχνότητα εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση ήταν ίδια και για τη διπλοεστιακή και μονοεστιακή βηματοδότηση 10.3% και 12.3% ( $p=0.13$ ) αντίστοιχα.<sup>2</sup> Σε άλλη μελέτη 304 ασθενών με διατηρημένη λειτουργικότητα και μακρά παρακολούθηση 7.8 ετών, αναφέρεται αρκετά υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας 26%, ωστόσο το ποσοστό κοιλιακής

βηματοδότησης ήταν υψηλό >90%.<sup>1</sup> Επιπλέον, όταν ο πληθυσμός που μελετήθηκε είχε επηρεασμένη λειτουργικότητα αριστεράς κοιλίας, το υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης είχε δυσμενείς επιπτώσεις με αυξημένο κίνδυνο επιδείνωσης της ήδη προυπάρχουσας καρδιακής ανεπάρκειας ήδη από τον πρώτο χρόνο μετά την εμφύτευση, όπως έχουν αναδείξει υποαναλύσεις των μελετών DAVID και MADIT II.<sup>13,14</sup>

Φαίνεται λοιπόν ότι σε ασθενείς με διατηρημένη λειτουργικότητα, παράγοντες όπως το ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης και το εύρος του βηματοδοτικού QRS παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση. Σε ασθενείς που βηματοδοτούνται λόγω διαταραχών κολποκοιλιακής αγωγιμότητας και άρα εκτίθενται σε υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης, το εύρος του βηματοδοτικού QRS καθίσταται ακόμα πιο ουσιώδες στην εμφάνιση μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση. Σε μελέτη 1750 ασθενών με διατηρημένη λειτουργικότητα που υποβλήθηκαν σε εμφύτευση μόνιμου τεχνητού βηματοδότη, ποσοστό 22.8% ανέπτυξαν μυοκαρδιοπάθεια επαγόμενη από βηματοδότηση μετά από μέση παρακολούθηση 3.4 ετών.<sup>15</sup> Αυτοί οι ασθενείς ήταν πιο πιθανό να είναι άντρες ( $p=0.03$ ), με χαμηλότερο κλάσμα εξώθησης κατά την εμφύτευση ( $p=0.04$ ), ευρύτερο QRS προ της εμφύτευσης ( $p=0.006$ ), υψηλότερη καρδιακή συχνότητα κατά την παρακολούθηση ( $p<0.001$ ) και ευύτερο βηματοδοτικό QRS μετά την εμφύτευση ( $p=0.001$ ). Ενδιαφέρον αποτελεί ότι το εύρος του βηματοδοτικού QRS αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση. Ειδικότερα, εύρος βηματοδοτικού QRS  $\geq 150\text{msec}$  παρουσίαζε 95% ευαισθησία για εμφάνιση μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση. Το εύρημα αυτό είναι σε συμφωνία με τη γνωστή διαπίστωση ότι οι ασθενείς εκείνοι που ωφελούνται ιδιαίτερα από τον καρδιακό επανασυγχρονισμό μέσω αμφικοιλιακής βηματοδότησης είναι εκείνοι που παρουσιάζουν μορφολογία αποκλεισμού του αριστερού σκέλους και εύρος QRS  $\geq 150\text{msec}$ .<sup>16</sup> Ομοίως και η μυοκαρδιοπάθεια από εκτακτοσυστολική αρρυθμία είναι πιθανότερο να εκδηλωθεί όταν οι έκτακτες κοιλιακές συστολές έχουν εύρος QRS  $\geq 150\text{msec}$ .<sup>17</sup>

Φυσικά, δε θα μπορούσε κανείς να προτείνει έλεγχο ρουτίνας σε όλους τους βηματοδοτημένους ασθενείς που παρουσιάζουν υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης, καθώς αυτό θα επιβάρυνε σημαντικά τα εθνικά συστήματα υγείας τόσο οικονομικά, όσο και σε επίπεδο απασχόλησης του ιατρικού προσωπικού. Παρόλο που δεν μπορούμε να προτείνουμε ένα όριο βηματοδοτικού QRS σαν ενδεικτικό για τον κίνδυνο εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση λόγω του μικρού αριθμού ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη, είναι ωστόσο προφανές ότι όσο ευρύτερο το βηματοδοτικό QRS, τόσο μεγαλύτερος ο κίνδυνος εμφάνισης δυσλειτουργίας της αριστεράς κοιλίας μετά από μόνιμη τεχνητή βηματοδότηση. Η πρόληψη της μυοκαρδιοπάθειας από βηματοδότηση θα μπορούσε να οδηγήσει σε λιγότερες νοσηλείες λόγω καρδιακής ανεπάρκειας και βελτίωση της ποιότητας της ζωής για τους βηματοδοτημένους ασθενείς. Με βάση τις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες, ασθενείς με κλασσική ένδειξη για καρδιακή βηματοδότηση και διατηρημένη λειτουργικότητα δεν έχουν ένδειξη για τοποθέτηση αμφικοιλιακού βηματοδότη.<sup>18</sup> Μόνο εφόσον αναπτυχθεί μυοκαρδιοπάθεια από βηματοδότηση υπάρχει ένδειξη για αναβάθμιση βηματοδοτικής συσκευής σε αμφικοιλιακή για αντιμετώπιση της συμπτωματολογίας της καρδιακής ανεπάρκειας.<sup>18</sup> Ωστόσο, δεν είναι πάντοτε εφικτή η αναστροφή της μυοκαρδιοπάθειας, καθώς η μακροχρόνια έκθεση στην παθολογική διέγερση μπορεί να έχει οδηγήσει σε μη αναστρέψιμη δυσμενή αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας. Επιπλέον, η καθυστερημένη αναβάθμιση της βηματοδοτικής συσκευής ενέχει και άλλους κινδύνους όπως θρόμβωση των φλεβών που χρησιμοποιούνται για την προσπέλαση των ηλεκτροκαθετήρων στη δεξιά κοιλία, επιμόλυνση της θήκης ή της συσκευής λόγω επανεπεμβάσεων κ.ά.

Με βάση τα ευρήματα της μελέτης μας, το εύρος του βηματοδοτικού QRS είναι ενδεικτικό για τον κίνδυνο εμφάνισης μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση και σχετίζεται με τις μεταβολές στην έκφραση του μυοκαρδιακού γονιδίου SERCA. Επομένως, μια στενότερη παρακολούθηση και απεικόνιση σε ασθενείς που είναι εκτεθειμένοι σε υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης με ευρύ βηματοδοτικό QRS (π.χ.  $\geq 150\text{msec}$ ) και παθολογική έκφραση του SERCA στο περιφερικό αίμα, θα μπορούσε να οδηγήσει σε πρωιμότερη ανίχνευση των ασθενών που είναι

ευάλωτοι και την καλύτερη αντιμετώπιση τους, ακόμα και με πρόωμη αναβάθμιση της βηματοδοτικής συσκευής.

## **ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Στη μελέτη μας, η έκφραση του μυοκαρδιακού γονιδίου SERCA μετρήθηκε από περιφερικό αίμα και όχι από μυοκαρδιακή βιοψία που αποτελεί και την πιο αξιόπιστη μέθοδο για την εκτίμηση της έκφρασης των γονιδίων. Ωστόσο, το περιφερικό αίμα έχει προταθεί για τη μέτρηση βιοδεικτών και την παρακολούθηση καρδιαγγειακών νοσημάτων και μπορεί να μας βοηθήσει στην ανίχνευση της βαρύτητας και της εξέλιξης μιας πάθησης.<sup>19</sup> Η σημαντική αλληλοεπικάλυψη στη μοριακή δομή των μονοκύτταρων του περιφερικού αίματος και των μυοκαρδιακών κυττάρων που παρατηρείται σε πειραματικά μοντέλα ζώων, υπονοεί ότι τα μεταγραφικά μόρια των μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος μπορεί να χρησιμεύσουν σαν πρώιμοι μη-επεμβατικοί δείκτες που θα μπορούσαν να προβλέψουν μελλοντική παθολογική αναδιαμόρφωση.<sup>20</sup> Επομένως, το περιφερικό αίμα θα μπορούσε να αποτελέσει ένα αξιόπιστο και εύκολα προσβάσιμο δείκτη της έκφρασης των μυοκαρδιακών γονιδίων.

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Μετά την εμφύτευση βηματοδότη από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας οι ασθενείς με ευρύ βηματοδοτικό QRS και υψηλό ποσοστό κοιλιακής βηματοδότησης υπόκεινται σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης μυοκαρδιοπάθειας επαγόμενης από βηματοδότηση. Το εύρος του βηματοδοτικού QRS φαίνεται να σχετίζεται με τις μεταβολές της έκφρασης του μυοκαρδιακού γονιδίου SERCA που προηγούνται χρονικά της δυσμενούς αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας. Αν αποκτήσουμε ισχυρά δεδομένα για την προβλεπτική τους ισχύ, τότε βηματοδοτημένοι ασθενείς με ευρύ QRS και παθολογική έκφραση του SERCA στο περιφερικό αίμα, θα μπορούσαν ενδεχομένως να επωφεληθούν από στενότερη παρακολούθηση και διαφορετική θεραπευτική αντιμετώπιση όπως



καρδιακό επανασυγχρονισμό σε πολύ πρωιμότερα στάδια.

## ΠΙΝΑΚΕΣ

Παράμετροι	Ομάδα Α (n=24)	Ομάδα Β (n=28)	Τιμή p
<b>Ηλικία (έτη)</b>	79.3±7.4	78.9±8	0.86
<b>Φύλο (άνδρες/γυναίκες)</b>	13/11	15/13	0.99
<b>Ατομικό αναμνηστικό</b>			
Αρτηριακή υπέρταση	19	22	0.65
Υπερλιπιδαιμία	15	18	0.92
Σακχαρώδης διαβήτης	9	12	0.85
Στεφανιαία νόσος	8	10	0.82
<b>ΝΥΗΑ τάξη (I/II)</b>	11/13	12/16	0.75
<b>Υπερηχογραφικές μετρήσεις</b>			
LVEDD (mm)	50±4.9	49.6±4.9	0.86
LVESD (mm)	29.6±3.3	28.64±2.7	0.72
EF (%)	63±10.2	65±9.6	0.69

**Πίνακας 1:** Δημογραφικά/ κλινικά χαρακτηριστικά και υπερηχογραφικές παράμετροι κατά την ένταξη των 2 ομάδων των ασθενών στη μελέτη

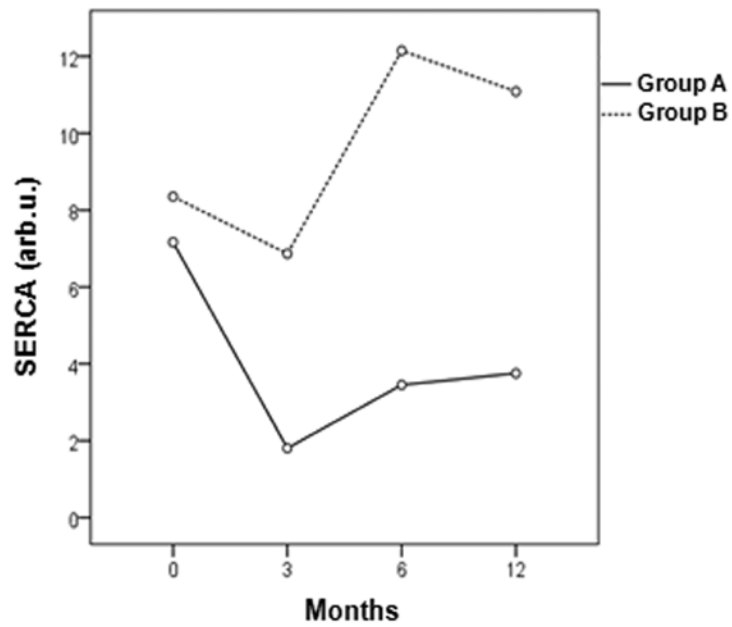
mRNA SERCA			
Χρονικά σημεία μετρήσεων	Ομάδα Α	Ομάδα Β	P value
εμφύτευση	8.63±5.54	7.87±5.51	0.623
3 μήνες	3.48±3.46	6.72±3.9	0.003
6 μήνες	4.21±2.77	9.83±12.1	0.031
1 χρόνος	3.56±2.68	8.82±11.05	0.021

**Πίνακας 2:** Μετρήσεις της έκφρασης του μυοκαρδιακού γονιδίου SERCA στις 2 ομάδες των ασθενών κατά τη διάρκεια των 12 πρώτων μηνών της παρακολούθησης

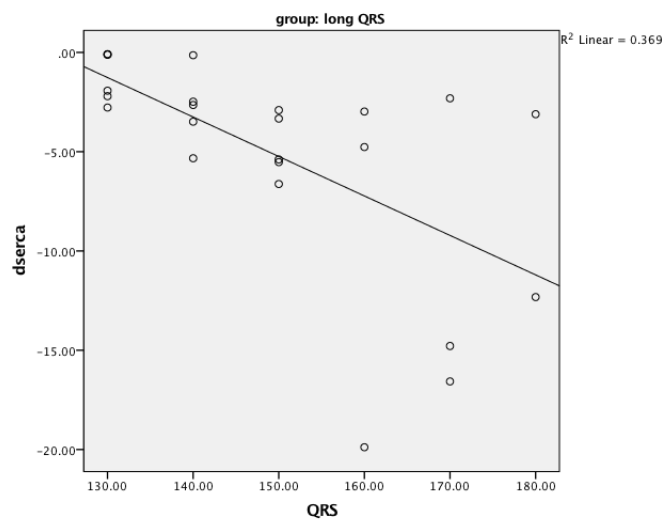
Χρονικές στιγμές υπερηχογραφικής εκτίμησης	LVEDD (mm)		LVESD (mm)		EF (%)	
	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Ομάδα Α	Ομάδα Β
εμφύτευση	50±4.95	49.64±4.93	29.67±3.39	28.64±2.73	63.04±10.22	65.07±9.66
3 μήνες	50.54±4.7	49.79±5.04	30±3.41	29.14±2.99	63.54±8.99	65.64±8.89
1 χρόνο	51.63±4.49	50.57±4.91	<b>31.21±3.75</b>	29.25±2.85	61.71±9.23	65.75±8.46
2 χρόνια	53.79±5.46	50.46±4.94	33.13±4.43	29±2.73	56.58±10.9	65.61±8.15
4 χρόνια	56.71±5.52	50.36±4.84	35.38±4.22	29.04±2.8	52.83±10.81	65.29±8.28

**Πίνακας 3:** Μετρήσεις των υπερηχογραφικών παραμέτρων LVEDD, LVESD, LVEF στις 2 ομάδες ασθενών κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης

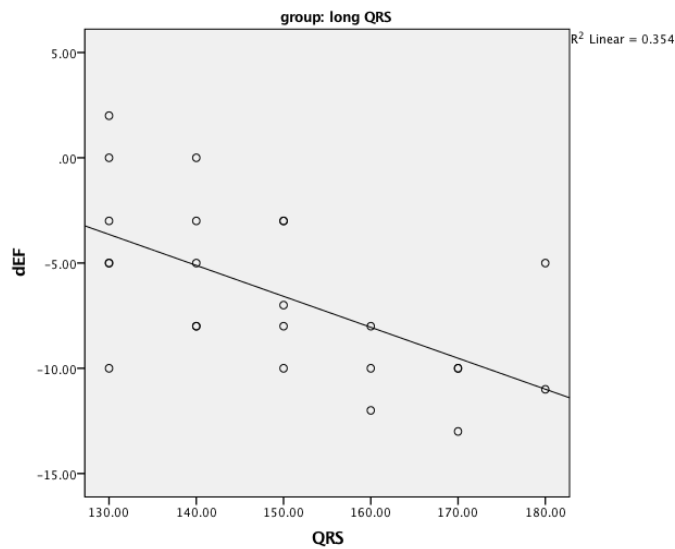
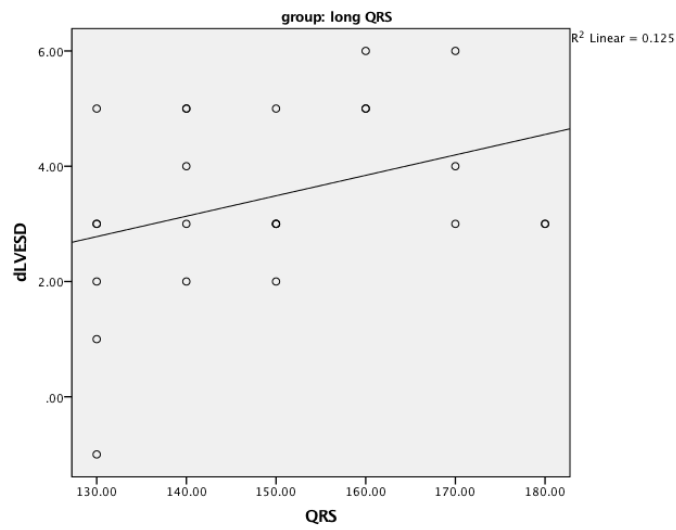
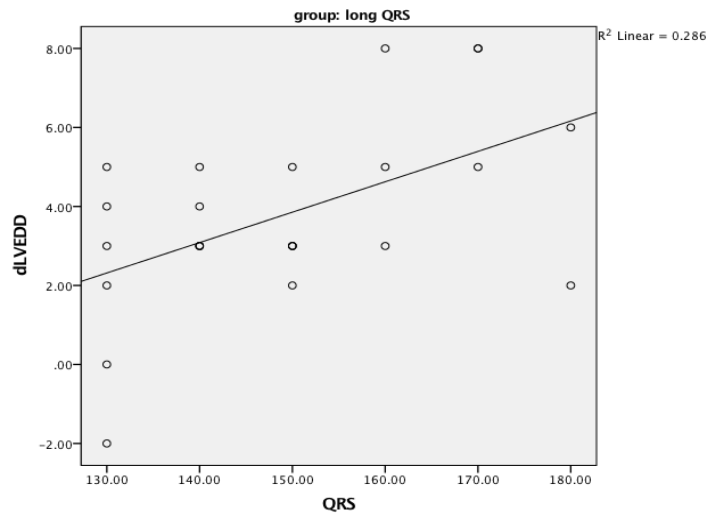
## ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ



**Διάγραμμα 1:** Μεταβολές στην έκφραση του γονιδίου SERCA στις 2 ομάδες κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης



**Διάγραμμα 2:** Σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο εύρος του βηματοδοτικού QRS στην ομάδα A και τις μεταβολές του γονιδίου SERCA τους πρώτους 12 μήνες



**Διάγραμμα 3:** Σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο εύρος του βηματοδοτικού QRS στην ομάδα A και των μεταβολών των υπερηχογραφικών παραμέτρων στα 2 χρόνια παρακολούθησης

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Zhang XH, Chen H, Siu CW, Yiu KH, Chan WS, Lee KL, et al. New-onset heart failure after permanent right ventricular apical pacing in patients with acquired high-grade atrioventricular block and normal left ventricular function. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2008;19:136-41.
2. Sweeney MO, Hellkamp AS, Ellenbogen KA, Greenspon AJ, Freedman RA, Lee KL et al. Adverse effect of ventricular pacing on heart failure and atrial fibrillation among patients with normal baseline QRS duration in a clinical trial of pacemaker therapy for sinus node dysfunction. *Circulation.* 2003;107:2932-7.
3. Siu CW, Wang M, Zhang XH, Lau CP, Tse HF. Analysis of ventricular performance as a function of pacing site and mode. *Prog Cardiovasc Dis.* 2008;51:171-82.
4. Kontaraki JE, Parthenakis FI, Nyktari EG, Patrianakos AP, Vardas PE. Myocardial gene expression alterations in peripheral blood mononuclear cells of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2010;12:541-548.
5. Arkolaki EG, Simantirakis EN, Kontaraki JE, Chrysostomakis SI, Patrianakos AP, Chlouverakis GI et al. Nakou ES, Vardas PE. Alterations in the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex. *Europace.* 2015;17(10):1563-70.
6. Rajabi M, Kassiotis C, Razeghi P, Taegtmeyer H. Return to the fetal gene program protects the stressed heart: a strong hypothesis. *Heart Fail Rev.* 2007 Dec;12(3-4):331-43.
7. Taegtmeyer H, Sen S, Vela D. Return to the fetal gene program: a suggested metabolic link to gene expression in the heart. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1188:191-8.
8. Periasamy M, Bhupathy P, Babu GJ. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. *Cardiovasc Res.* 2008;77:265-273.

9. Shareef MA, Anwer LA, Poizat C. Cardiac SERCA2A/B: Therapeutic targets for heart failure. *Eur J Pharmacol.* 2013;724C:1-8.
10. Lowes BD, Gilbert EM, Abraham WT, Minobe WA, Larrabee P, Ferguson D, et al. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *N Engl J Med.* 2002;346:1357-6.
11. Vanderheyden M, Mullens W, Delrue L, Goethals M, de Bruyne B, Wijns W, et al. Myocardial gene expression in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy responders versus nonresponders. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51:129-36.
12. Toff WD, Camm AJ, Skehan JD, for UKPACE: Single-chamber versus dual-chamber pacing for high-grade atrioventricular block. *N Engl J Med* 353:145-155, 2005.
13. Wilkoff BL, Cook JR, Epstein AE, et al: Dual-chamber pacing or ventricular backup pacing in patients with an implantable defibrillator: the Dual Chamber and VVI Implantable Defibrillator (DAVID) Trial. *JAMA* 288:3115-3123, 2002.
14. Steinberg JS, Fischer A, Wang P, et al: The clinical implications of cumulative right ventricular pacing in the multicenter automatic defibrillator trial II. *J Cardiovasc Electrophysiol* 16:359-365, 2005.
15. Khurshid S, Liang JJ, Owens A, Lin D, Schaller R, Epstein AE et al. Longer Paced QRS Duration is Associated With Increased Prevalence of Right Ventricular Pacing-Induced Cardiomyopathy. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2016;27(10):1174-1179.
16. Moss AJ, Hall WJ, Cannom DS, Klein H, Brown MW, Daubert JP et al. MADIT-CRT Trial Investigators: Cardiac-resynchronization therapy for the prevention of heart-failure events. *N Engl J Med* 2009;361:1329-1338.
17. Deyell MW, Park K-M, Han Y, Frankel DS, Dixit S, Cooper JM et al. Predictors of recovery of left ventricular dysfunction after ablation of frequent ventricular premature depolarizations. *Heart Rhythm* 2012;9:1465-1472.
18. Brignole M, Auricchio A, Baron-Esquivias G, Bordachar P, Boriani G, Breithardt OA, et al.



2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the Task Force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace* 2013;15(8):1070-118.

19. Aziz H, Zaas A, Ginsburg G. Peripheral blood gene expression profiling for cardiovascular disease assessment. *Genomic Medicine*. 2007;1:105-112.
20. Gerling IC, Ahokas RA, Kamalov G, Zhao W, Bhattacharya SK, Sun Y, et al. Gene Expression Profiles of Peripheral Blood Mononuclear Cells Reveal Transcriptional Signatures as Novel Biomarkers for Cardiac Remodeling in Rats with Aldosteronism and Hypertensive Heart Disease. *JACC Heart failure*. 2013;1.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ (ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ)

### Δημοσιεύσεις σε ξενόγλωσσα περιοδικά του Medline/Pubmed

1.Arkolaki EG, Simantirakis EN, Kontaraki JE, Chrysostomakis SI, Patrianakos AP, Chlouverakis GI et al. Nakou ES, Vardas PE. Alterations in the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex. Europace. 2015;17(10):1563-70.

2.Simantirakis E, Arkolaki E, Kontaraki J, Chlouverakis G, Mavrakis H, Kallergis E, Parthenakis F, Vardas P. The impact of paced QRS duration on the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex. UNDER REVIEW EUROPACE

### **Ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια**

1. EN. Simantirakis, J. Kontaraki, E. Arkolaki, S.I. Chrysostomakis, A.P. Patrianakos, P. E.Vardas. Alterations in the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex (Preliminary results). CARDIOSTIM EHRA 2015:21-24 June, Milan, Italy. (oral abstract session)
2. EN. Simantirakis, E. Arkolaki, JE. Kontaraki, GI. Chlouverakis, H. Mavrakis, F. Parthenakis, P. Vardas. The impact of paced QRS duration on the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex. ESC Congress 2018:25-29 August, Munich, Germany. (poster session)

## **Ανακοινώσεις σε ελληνικά συνέδρια**

Ε.Αρκολάκη, Ι.Κονταράκη, Ε.Νύκταρη, Σ.Χρυσοστομάκης, Ε.Σημαντηράκης, Π.Βάρδας. Ο ρόλος της μόνιμης βηματοδότησης από την κορυφή της δεξιάς κοιλίας στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη συσταλτικότητα και την υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας (προκαταρκτικά αποτελέσματα). Συμπλήρωμα Περιλήψεις 34<sup>ο</sup> Πανελληνίου Καρδιολογικού Συνεδρίου 10-12 Οκτωβρίου 2013, Αθήνα.

## **ΑΝΑΤΥΠΙΑ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΩΝ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΩΝ**

# Alterations in the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex

Eva G. Arkolaki<sup>1</sup>, Emmanuel N. Simantirakis<sup>1\*</sup>, Joanna E. Kontaraki<sup>2</sup>, Stavros I. Chrysostomakis<sup>1</sup>, Alexandros P. Patrianakos<sup>1</sup>, Gregory I. Chlouverakis<sup>2</sup>, Eleni S. Nakou<sup>1</sup>, and Panos E. Vardas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University Hospital of Heraklion, PO box 1352, Stavrakia, Heraklion Crete, Greece; and <sup>2</sup>Medical School of Heraklion, Stavrakia, Heraklion Crete, Greece

Received 27 September 2014; accepted after revision 27 February 2015; online publish-ahead-of-print 7 April 2015

## Aim

Long-term right ventricular apical (RVA) pacing may lead to left ventricular (LV) remodelling and heart failure. This study assessed changes in the expression of genes regulating LV contractile function and hypertrophy, after permanent RVA pacing and investigated whether such changes proceed or even predict LV remodelling.

## Methods and results

We enrolled 52 consecutive patients (age  $79.1 \pm 7.7$  years, 34 males) who underwent pacemaker implantation for bradycardic indications: Group A, 24 individuals with atrioventricular conduction disturbances and group B, 28 patients with sinus node disease. In group A, peripheral blood mRNA levels of gene sarcoplasmic reticulum calcium ATPase decreased at 3, 6, and 12 months' follow-up, while  $\alpha$ -myosin heavy chain (MHC) decreased and  $\beta$ -MHC increased until 6 months follow-up. In this group, 25% of patients demonstrated significant LV remodelling. At 4 years, LV end-systolic diameter increased from  $29.67 \pm 3.39$  mm at baseline to  $35.38 \pm 4.22$  mm, LV end-diastolic diameter increased from  $50 \pm 4.95$  to  $56.71 \pm 5.52$  mm, and ejection fraction declined from  $63.04 \pm 10.22$  to  $52.83 \pm 10.81\%$ . Early alterations in gene expression were associated with a deterioration in LV function and geometry that became apparent months later. In group B, echocardiographic indexes and mRNA levels of the evaluated genes demonstrated no statistically significant changes.

## Conclusions

Permanent RVA pacing in patients with preserved ejection fraction is associated with alterations in the expression of genes regulating LV contractile function and hypertrophy, measured in the peripheral blood. These alterations are traceable at an early stage, before echocardiographic changes are apparent and are associated with LV remodelling that becomes evident in the long term.

## Keywords

Gene expression • Right ventricular apical pacing • Ventricular remodelling

## Introduction

The right ventricular apex has been the most commonly used pacing site, while alternative pacing sites in the right ventricle (RV), although they may provide some advantages, have not proven to be superior regarding hard outcomes such as morbidity and mortality.<sup>1</sup> However, soon after its introduction, it became clear that RVA pacing entails abnormal impulse conduction to the ventricles, leading to asynchronous activation and contraction. This abnormal

activation pattern provokes alterations in regional mechanical function and loading, myocardial perfusion and autonomic innervation, leading to LV remodelling and heart failure (HF) in a considerable proportion of paced patients.<sup>2</sup> Several studies have demonstrated the development of new-onset HF after RVA pacing in patients with preserved LV function and no prior history of HF or coronary artery disease (CAD).<sup>3,4</sup> Heart failure development seems to be related with both the duration of pacing and the cumulative percentage of ventricular pacing (VP).<sup>3,5</sup>

\* Corresponding author. Tel: +30 2810392706, +30 2810375048. fax: +30 2810542055, E-mail address: esimant@hotmail.com

Published on behalf of the European Society of Cardiology. All rights reserved. © The Author 2015. For permissions please email: journals.permissions@oup.com.

### What's new?

- Permanent RVA pacing leads to changes in the expression of genes that regulate myocardial contractile function and hypertrophy, which are traceable in the peripheral blood.
- These changes are evident early after pacemaker implantation (even at 3 months' follow-up) and precede LV remodelling.
- These early detected alterations in the expression of genes seems to be associated with LV remodelling in the long term.
- If solid data can be established concerning factors for the early prediction of LV remodelling, then patients who might benefit from other pacing modalities, such as biventricular pacing, could be identified during a very early phase.

On the other hand, it is known that certain genes regulate excitation–contraction coupling and contractile proteins and therefore are associated with HF development.<sup>6,7</sup>

We hypothesized that RVA pacing may provoke changes in gene expression that precede a deterioration in LV function and geometry that only becomes echocardiographically or clinically evident at

a much later stage. Therefore, the aim of our study was to assess early changes in the expression of selected genes related to the contractile apparatus and excitation–contraction coupling proteins, in peripheral blood cells of patients with preserved LV function, who underwent long-term RVA pacing.

## Methods

### Study design

This was a prospective controlled study, conducted between January 2008 and December 2013. Data concerning gene expression in the peripheral blood were assessed at enrolment (just prior to pacemaker implantation), and at 3, 6, and 12 months. Echocardiographic indexes were assessed at the time of enrolment, and at 3 months, 1 year, 2 and 4 years.

The study complied with the Declaration of Helsinki, all subjects gave written, informed consent prior to their inclusion in the study and the experimental protocol was approved by the hospital's Ethics Committee.

### Study population

We enrolled 52 consecutive patients (34 males, age  $79.1 \pm 7.7$  years), with preserved LV ejection fraction ( $EF \geq 45\%$ ) who underwent pacemaker implantation for bradycardic indications; the ventricular lead was placed in the RV apex in all patients. Participants were divided into two groups, based on the post-implant cumulative percentage of VP. Group A consisted of 24 individuals who were paced for atrioventricular conduction disturbances with a post-implant VP cumulative percentage that exceeded 90%, while group B (control group) consisted of 28 patients who received a permanent pacemaker because of sinus node dysfunction with preserved intrinsic atrioventricular conduction and whose percentage of post-implant VP was lower than 5%; the devices were appropriately programmed to minimize VP. Patients with ventricular conduction disturbances (QRS duration  $\geq 120$  ms) were excluded from this latter group. All patients underwent pacemaker interrogation to determine the percentage of paced ventricular systoles. In addition, we obtained 24-h Holter recordings from all patients, in order to determine whether the pacemaker-reported VP percentage was indeed referring to fully captured beats, rather than fusion or pseudofusion beats.

### Echocardiography

At the time of implantation and at certain time points during follow-up, patients underwent echocardiographic examination for the evaluation of LV function and structure. Echocardiographic images were obtained with patients in the left lateral decubitus position, by two experienced echocardiographers blinded to the study protocol, using a Vivid 7 (General Electric, Horten, Norway) ultrasound device with a 1.5–3.6 MHz wide angle phased-array transducer (M4S).

**Table 1** Demographic/clinical characteristics and echocardiographic baseline parameters of two groups

Parameters	Group A (n = 24)	Group B (n = 28)	P-value
Age (years)	$79.3 \pm 7.4$	$78.9 \pm 8$	0.86
Sex (male/female)	13/11	15/13	0.99
Medical history			
Arterial hypertension	19	22	0.65
Hyperlipidaemia	15	18	0.92
Diabetes mellitus	9	12	0.85
CAD	8	10	0.82
NYHA class (I/II)	11/13	12/16	0.75
Echocardiographic findings			
LVEDD (mm)	$50 \pm 4.9$	$49.6 \pm 4.9$	0.86
LVESD (mm)	$29.6 \pm 3.3$	$28.64 \pm 2.7$	0.72
EF (%)	$63 \pm 10.2$	$65 \pm 9.6$	0.69

**Table 2** Values of the expression of SERCA,  $\alpha$ -MHC, and  $\beta$ -MHC in two groups of patients at various time points during 12 months' follow-up

Time points	mRNA SERCA			mRNA $\alpha$ -MHC			mRNA $\beta$ -MHC		
	Group A	Group B	P-value	Group A	Group B	P-value	Group A	Group B	P-value
Implantation	$8.63 \pm 5.54$	$7.87 \pm 5.51$	0.623	$0.2 \pm 0.61$	$0.06 \pm 0.15$	0.305	$10.77 \pm 15.41$	$25.35 \pm 46.07$	0.124
3 months	$3.48 \pm 3.46$	$6.72 \pm 3.9$	0.003	$0.13 \pm 0.2$	$0.07 \pm 0.16$	0.240	$147.02 \pm 340.79$	$78.23 \pm 259.82$	0.413
6 months	$4.21 \pm 2.77$	$9.83 \pm 12.1$	0.031	$0.02 \pm 0.03$	$0.09 \pm 0.16$	0.026	$59.23 \pm 194.58$	$27.22 \pm 70.89$	0.422
1 year	$3.56 \pm 2.68$	$8.82 \pm 11.05$	0.021	$0.41 \pm 0.98$	$0.08 \pm 0.12$	0.110	$4.85 \pm 13.37$	$1.83 \pm 4.73$	0.302

All measurements were performed off-line on digitally stored images. Left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD) and left ventricular end-systolic diameter (LVESD) were assessed from M-mode recordings in parasternal long-axis view. Left ventricular end-systolic and end-diastolic volumes were assessed from apical two- and four-chamber views, and LVEF was calculated using the biplane Simpson's rule.

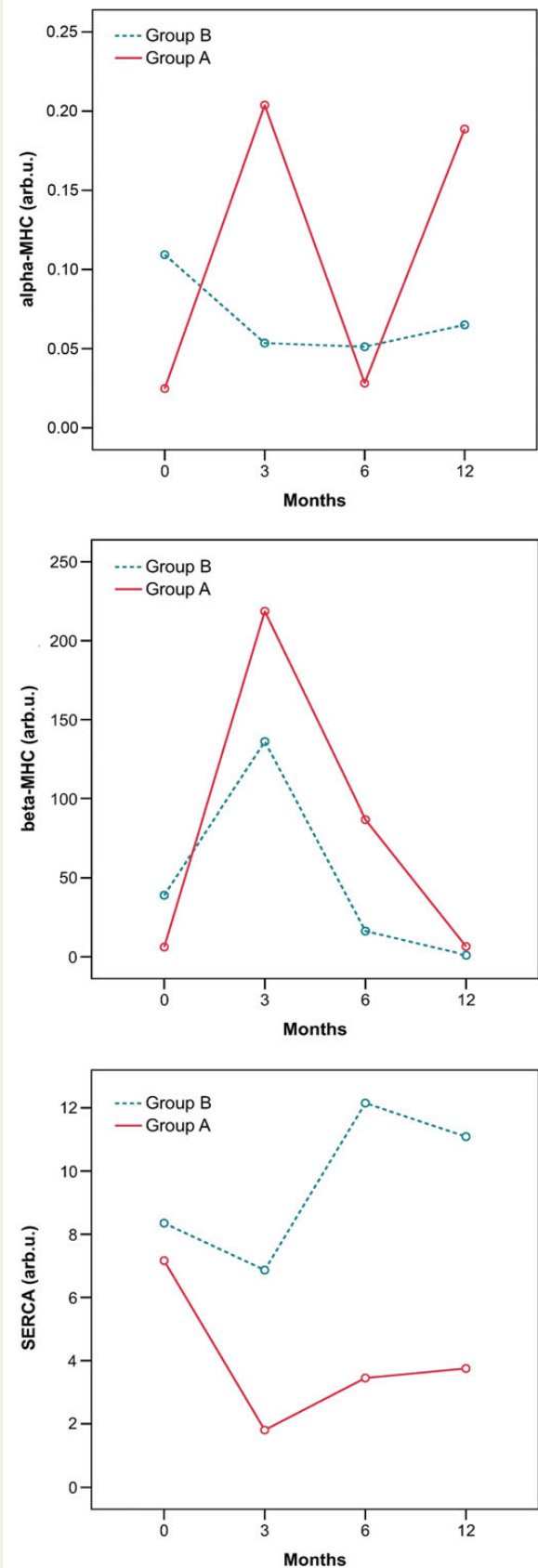
## Expression of genes

### RNA isolation and quantitative RT-PCR

Blood samples were collected into ethylenediamide-tetra-acetic acid (EDTA) collection tubes. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated by ficoll-paque plus (Stem Cell Technologies Inc., Vancouver, BC, Canada) gradient centrifugation, total RNA was isolated using the TRI-Reagent (Ambion, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). RNA samples for each patient's full time course were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. One microgram of total RNA was reverse transcribed with oligo-(dT) using the Reverse Transcription System (Promega, Madison, \*\*USA) in 20  $\mu\text{L}$  reactions. Measurements of mRNA levels were performed by quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) using the STRATAGENE Mx3000P Detection System. Polymerase chain reaction assays were performed in 2  $\mu\text{L}$  of the cDNA templates using the SYBR Green PCR Master Mix (Bio-Rad, CA, USA) in 20  $\mu\text{L}$  reactions. Primer sequences for sarcoplasmic reticulum calcium ATPase (SERCA),  $\alpha$ -myosin heavy chain ( $\alpha$ -MHC),  $\beta$ -MHC, and glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase (GAPDH), as well as the experimental design strategy to achieve specificity were as previously described.<sup>8</sup> Thermal profiling for the real-time PCR was an initial denaturation step at  $95^{\circ}\text{C}$  for 5 min, followed by 40 cycles of  $95^{\circ}\text{C}$  for 15 s, annealing temperature for 60 s,  $72^{\circ}\text{C}$  for 30 s, followed by melting curve generation from 55 to  $95^{\circ}\text{C}$ . Annealing temperature was the optimal for each primer set and ranged from 55 to  $60^{\circ}\text{C}$ . All samples were run in duplicate. The standard curve method was used for absolute quantification of the amplification products and specificity was determined by performing a melting curve analysis. A uniform amplification of the products was rechecked by analysing the melting curves of the amplified products (dissociation graphs). Standard curves for the expression of each gene were generated by serial dilution of known quantities of cDNA template. The housekeeping gene GAPDH was used as an endogenous reference gene and relative quantification was performed by normalizing the signals of the different genes with the GAPDH signal. Expression levels for each gene after absolute quantification and normalization to the GAPDH signal were presented as arbitrary units.

### Statistical analysis

Summary descriptive statistics are expressed as mean  $\pm$  standard deviation or as frequencies and percentages, as appropriate. Continuous variables were compared between the two QRS groups using independent samples *t*-tests. Categorical variables were compared with using Fisher's exact test. Repeated measures analysis of variance was employed to assess time, group, and interaction effects between the echo parameters and gene expressions. Pearson correlation coefficients were also computed to assess the association between changes in echo variables and gene expression changes. All statistical tests were carried out at the two-sided 5% level of significance. The statistical package IBM-SPSS 21 was used for all analyses. In regard to echocardiographic measurements, intra- and inter-observer variability and agreement between the measurements obtained were calculated according to Bland and Altman's method. Lower and upper limits of agreement (95% limits of agreement of the mean bias) and coefficients of variation were calculated as the within-subject SD divided by the mean of the observations. The differences (the difference between paired measurements divided by the average of the two measurements times) were calculated for all Bland-Altman plots.



**Figure 1** Time course of the expression of SERCA,  $\alpha$ -MHC, and  $\beta$ -MHC in patients in two groups. Arb. U: arbitrary units.



## Results

### Patient characteristics

Patients' demographic and clinical characteristics, together with baseline echocardiographic parameters, are summarized in *Table 1*. The majority of patients were on angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors, angiotensin receptor blockers and diuretics. Patients in group A exhibited a high percentage of VP ( $94 \pm 2\%$ ) with a mean paced QRS duration of  $142 \pm 12$  ms, while in the control group VP was  $3 \pm 1\%$  with QRS duration  $85 \pm 5$  ms. Echocardiographic parameters and the mRNA levels of the genes measured did not exhibit statistically significant differences between the two groups at the time of pacemaker implantation. Further analysis of patients' clinical characteristics (arterial hypertension, diabetes mellitus, hyperlipidaemia, and CAD) did not reveal any statistically significant correlation to the clinical outcome. This could probably be attributed to the small number of patients included in this study.

### Alterations in the expression of genes

Repeated measures ANOVA showed significant time  $\times$  group interaction effects on SERCA ( $P = 0.048$ ) and  $\alpha$ -MHC ( $P = 0.032$ ). In group A, significant time effects were observed for SERCA ( $P < 0.001$ ) and borderline effects for  $\alpha$ -MHC ( $P = 0.06$ ). Serca decreased sharply from the time of implantation to 3 months' follow-up ( $P < 0.001$ ), with no further changes, while  $\alpha$ -MHC differed between 3 and 6 months' follow-up ( $P = 0.015$ ). For  $\beta$ -MHC, there were no group ( $P = 0.38$ ) or interaction effects ( $P = 0.58$ ), but a significant time effect was observed ( $P = 0.004$ ). *Post hoc* tests showed that levels of gene expression at 12 months' follow-up were significantly less than at the time of implantation.

No significant changes were observed in group B.

The exact values and the time course of the gene expression of these three genes in the two groups are presented in *Table 2* and *Figure 1*, respectively.

### Alterations in echocardiographic parameters/left ventricular function and geometry

No statistically significant intra- and inter-observer variation was found between the measurements obtained from the patients.

Significant time  $\times$  group interaction effects were also observed for LVESD, LVEDD, and EF ( $P < 0.001$  for all). More specifically, in group A, a very significant time effect was apparent for LVESD ( $P < 0.001$ ), whereas in group B no time effect was observed ( $P = 0.109$ ). *Post hoc* Bonferroni-adjusted tests in group A showed a significant increase at each time point ( $P < 0.001$ ). Similarly, a significant increase in LVEDD at each time point ( $P < 0.001$ ) was evident in group A, while in group B there was a significant, but rather small difference at 1 and 2 years' follow-up ( $P = 0.005$ ) compared with baseline. On the other hand, EF showed a significant steady decline at each time point in group A ( $P < 0.001$ ), while in group B no time effect was observed ( $P = 0.246$ ).

The exact values and the time course of the echocardiographic indexes in the two groups are presented in *Table 3* and *Figure 2*, respectively.

### Association between gene expression alterations and left ventricular remodelling

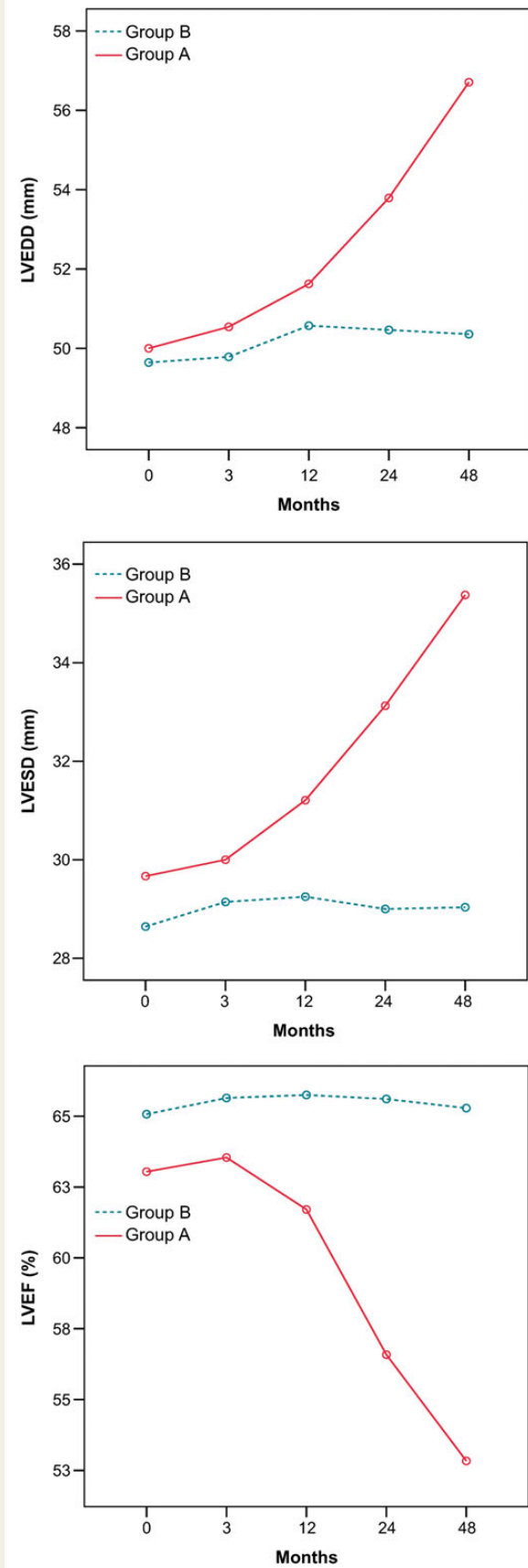
We sought to evaluate whether alterations in the expression of genes at an early stage (from the time of implantation up to the first year) could be correlated with a deterioration in LV function and geometry that became more evident later in the long-term follow-up.

Indeed, changes in the genes at an early stage seemed to be associated with LV remodelling that took place months later. More specifically, an increase in  $\beta$ -MHC during the first 6 months appeared to be associated with an increase in LV dimensions and a decline in EF that became apparent almost 2 years later (*Figure 3*). In addition, a decrease in the expression of the gene SERCA during the first year, was correlated with an increase in LV dimensions and a decrease in EF at 2 and 4 years of follow-up (*Figure 4*).

To assess the extent of LV remodelling in patients in group A at 4 years' follow-up, we defined significant adverse LV remodelling, as an increase in LVEDD by  $\geq 15\%$  and a decrease in EF by  $\geq 15\%$ . Based on these criteria, 25% of the patients in group A demonstrated significant adverse remodelling of the LV. Moreover, patients with significant LV remodelling demonstrated more extensive changes of the gene  $\beta$ -MHC at 6 months and the SERCA gene at 1 year, compared with those that did not fulfil the criteria for significant LV remodelling; the difference between the two subgroups was statistically significant (*Table 4*).

**Table 3** Values of the echocardiographic indexes LVEDD, LVESD, and LVEF in two groups of patients at various time points during 4 years' follow-up

Time points	LVEDD (mm)		LVESD (mm)		EF (%)	
	Group A	Group B	Group A	Group B	Group A	Group B
Implantation	$50 \pm 4.95$	$49.64 \pm 4.93$	$29.67 \pm 3.39$	$28.64 \pm 2.73$	$63.04 \pm 10.22$	$65.07 \pm 9.66$
3 months	$50.54 \pm 4.7$	$49.79 \pm 5.04$	$30 \pm 3.41$	$29.14 \pm 2.99$	$63.54 \pm 8.99$	$65.64 \pm 8.89$
1 year	$51.63 \pm 4.49$	$50.57 \pm 4.91$	$31.21 \pm 3.75$	$29.25 \pm 2.85$	$61.71 \pm 9.23$	$65.75 \pm 8.46$
2 years	$53.79 \pm 5.46$	$50.46 \pm 4.94$	$33.13 \pm 4.43$	$29 \pm 2.73$	$56.58 \pm 10.9$	$65.61 \pm 8.15$
4 years	$56.71 \pm 5.52$	$50.36 \pm 4.84$	$35.38 \pm 4.22$	$29.04 \pm 2.8$	$52.83 \pm 10.81$	$65.29 \pm 8.28$



**Figure 2** Time course of echocardiographic indexes LVEDD, LVESD, and EF in patients in two groups.

## Discussion

In this study, we demonstrated for the first time that permanent RVA pacing leads to changes in the expression of genes that regulate myocardial contractile function and hypertrophy, traceable in the peripheral blood. These changes are evident early after pacemaker implantation (even at 3 months' follow-up) and precede LV remodelling. Furthermore, these early detected alterations in gene expression seem to be associated with LV remodelling in the long term.

Specifically, in group A, mRNA levels of SERCA gene decreased at 6 and 12 months' follow-up, while  $\alpha$ -MHC decreased and  $\beta$ -MHC increased until 6 months' follow-up, as has already been described in patients who are susceptible to LV deterioration.<sup>9,10</sup> It should be noted that, at 12 months' follow-up mRNA levels of  $\alpha$ -MHC had risen again and mRNA levels of  $\beta$ -MHC decreased. However, the reasons for these changes at 12 months are unclear. In group A, 25% of patients demonstrated significant LV remodelling, and the changes in the gene  $\beta$ -MHC at 6 months and SERCA at 12 months appeared to be associated with LV remodelling.

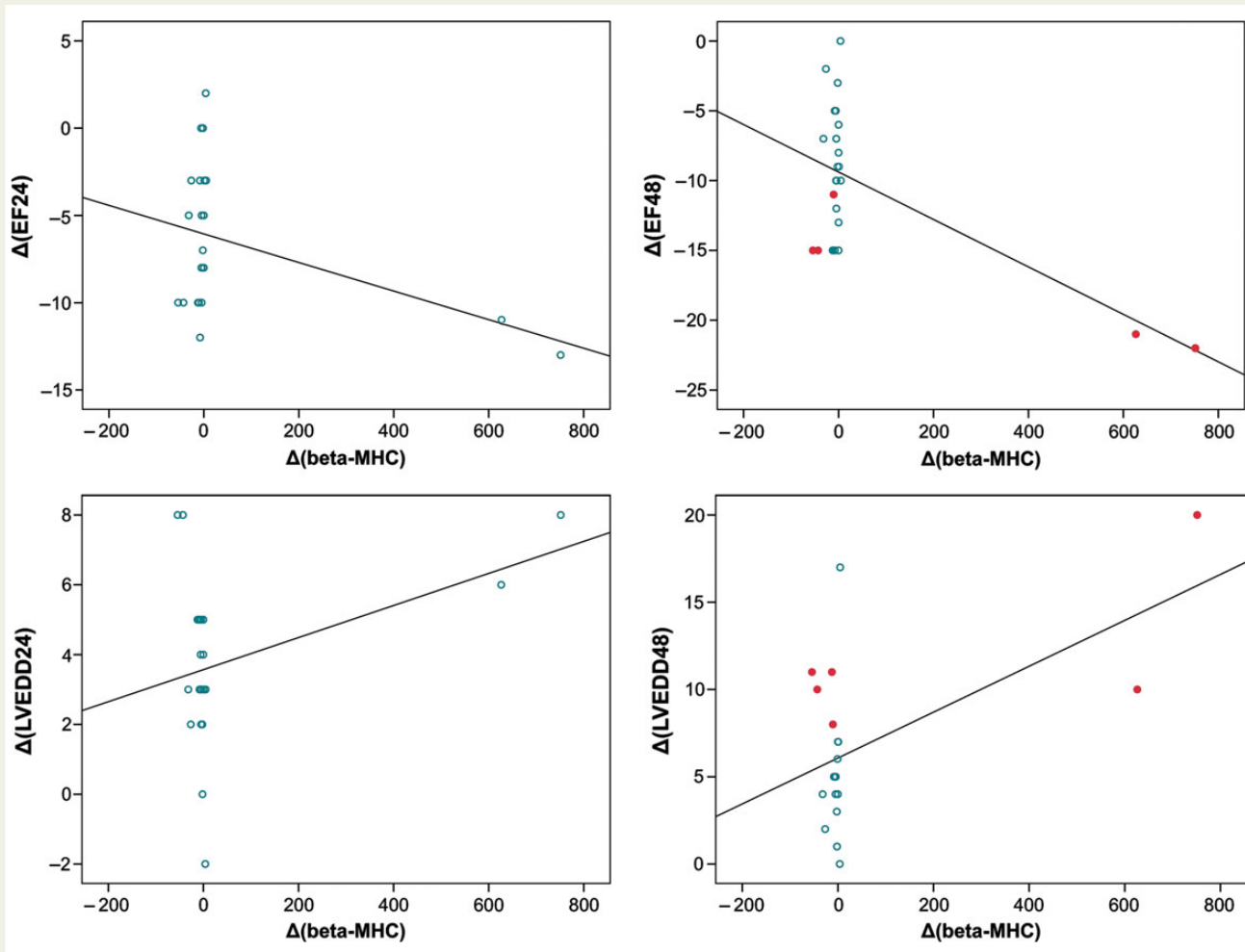
In contrast, patients in group B, with a low percentage of VP, did not demonstrate statistically significant changes, either in the expression of these genes in the peripheral blood or in echocardiographic parameters.

## Myocardial gene expression and heart failure

The pathophysiology of HF is known to involve alterations in gene expression. Adverse cardiac remodelling is characterized by the re-employment of developmental transcription factors and the activation of the 'foetal cardiac gene program', including an isoform switch in MHC.<sup>11,12</sup> Other molecular changes include alterations in the expression of genes encoding excitation–contraction coupling, such as SERCA, resulting in impaired calcium cycling and therefore accounting for contractile deficiency and pathological remodelling in HF.<sup>7</sup> In that respect, SERCA expression and functional alterations seem to contribute to major cardiac diseases that often progress to HF; thus SERCA is assumed to be a marker and a therapeutic target in heart disease.<sup>13</sup>

Although, this altered gene profile has been postulated as an adaptive response to mechanical overload, it further deteriorates LV function and remodelling, precipitating HF.<sup>14</sup> Conversely, an increase in SERCA levels in experimental models has been associated with an improvement in LV function.<sup>15</sup> Even in humans, when a therapeutic decision targeting this vicious circle has been made, amelioration of LV mechanics and reversal of this abnormal gene profile is observed. Specifically, in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy  $\beta$ -blocker therapy not only improved LV function but also led to deactivation of the 'foetal gene program' with an increase in SERCA gene expression and a decrease of  $\beta$ -MHC gene.<sup>9</sup> Similarly, in end-stage HF patients, implantation of an LV assist device had the same effects on gene expression.<sup>10</sup> Finally, in HF patients, the clinical response to cardiac resynchronization therapy (CRT) was also associated with favourable changes in genes regulating LV contractile function and hypertrophy.<sup>16</sup>

In our study, the changes observed in gene expression represented an early indication of LV dysfunction that would gradually lead to negative LV remodelling and deterioration in LV function.



**Figure 3** Scatter plots of changes in  $\beta$ -MHC at 6 months' follow-up and changes in LVEDD and EF at 24 (left) and 48 (right) months' follow-up. Note with the solid circle, patients that demonstrated significant LV remodelling.

Based on current guidelines, patients with a classical indication for pacemaker implantation and preserved EF are not eligible to receive a CRT device. In the case of HF development, a late upgrade is recommended with a view to achieving remission of the HF symptoms and restoration of LV function.<sup>17</sup>

By upgrading patients with an unfavourable gene profile to biventricular pacing at an early stage, we could prevent HF from developing. In this way, we could overcome several complications of the late upgrade due to vein thrombosis or device infection due to reoperation. Of course, this should translate to early upgrades in a very limited number of patients, based on the severity of the abnormal gene profile.

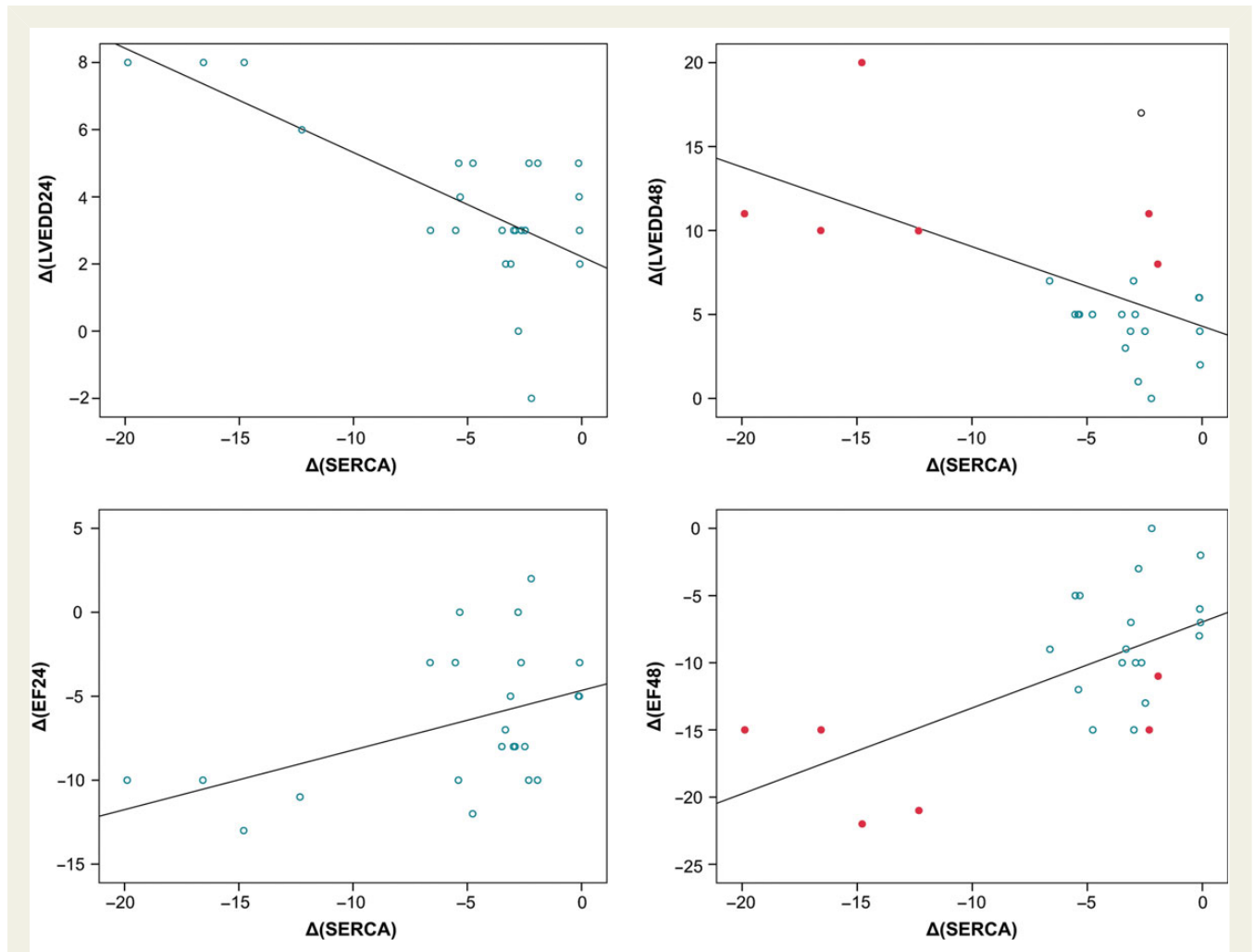
### Study limitations

The gold standard for evaluation of the expression of genes regulating contractile function and hypertrophy is myocardial biopsy. However, in our study we chose to use peripheral blood to evaluate gene expression. The reason was that myocardial biopsy is a technique that requires highly trained personnel and technology and, even if proved to be of value in predicting LV remodelling, it cannot be performed in everyday clinical practice. Therefore, there is a need for

parameters that are easily accessible on an everyday basis, such as peripheral blood measurements.

Additionally, peripheral blood has been suggested as a powerful substitute material that can monitor cardiovascular disease states and can probably act as a sensor of the disease severity.<sup>18</sup> The significant overlap in the molecular mimicry of PBMCs and cardiomyocytes that is observed in animal models, implies that transcriptional signatures of PBMCs may serve as early non-invasive and novel sentinels, predictive of impending pathologic remodeling.<sup>19</sup> Gene expression signatures associated with HF patient outcomes have also been identified in PBMCs.<sup>20</sup> In addition, we have reported that alterations in the expression of  $\alpha$ -MHC,  $\beta$ -MHC, and SERCA in PBMCs are associated with LV diastolic dysfunction in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy and HF.<sup>8</sup> Therefore, measurement of mRNA in peripheral blood, though not the gold standard, is still a reliable index. A possible strong correlation between gene expression in peripheral blood and deterioration in the contractile function of the LV could be of great clinical use.

A second limitation of this study could be that for the assessment of LV function and geometry we used simple indexes such as LV end-systolic and end-diastolic diameters and volumes, rather than



**Figure 4** Scatter plots of changes in SERCA at 12 months' follow-up and changes in LVEDD and EF at 24 (left) and 48 (right) months' follow-up. Note with the solid circle, patients that demonstrated significant LV remodelling.

**Table 4** Comparison of changes in  $\beta$ -MHC gene at 6 months and SERCA gene at 1 year, between patients of group A that demonstrated significant LV remodelling and those that did not; the difference between two subgroups was statistically significant

	$\Delta\beta$ -MHC6		$\Delta$ -SERCA12	
	LV remodelling	No LV remodelling	LV remodelling	No LV remodelling
N	6	18	6	18
Mean	209.56	-5.24	-11.3	-3.00
SD	373.75	9.49	7.52	2.00
Std. error mean	152.58	2.23	3.07	0.47

using more advanced techniques, such as 2D strain or 3D echocardiography, that are more sensitive in detecting LV remodelling earlier. However, we preferred the former indexes as they are commonly used, can be easily implemented in everyday practice, and do not require particular expertise.

Finally, it should be noted that the majority of our patients were taking ACE inhibitors, angiotensin receptors blockers, and  $\beta$ -blockers. This kind of medication has been proven to slow down and/or reverse LV remodelling, so we cannot predict the impact that the absence of these medications would have on our results.

## Conclusions

In patients with preserved EF after permanent RVA pacing, alterations in the expression of genes regulating LV contractile function and hypertrophy measured in the peripheral blood are traceable at an early stage, before any changes in echocardiographic parameters are evident. These alterations seem to be associated with LV deterioration, even though larger studies are needed to confirm this finding. If solid data can be established concerning factors for the early prediction of LV remodelling, then patients who might benefit from other pacing modalities, such as biventricular pacing, could be identified during a very early phase.

## Acknowledgements

We thank Philip Lees, Technical Editor of the Hellenic Journal of Cardiology, for professionally editing the manuscript.

**Conflict of interest:** none declared.

## References

- Shimony A, Eisenberg MJ, Filion KB, Amit G. Beneficial effects of right ventricular non-apical vs. apical pacing: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *Europace* 2012;**14**:81–91.
- Sweeney MO, Hellkamp AS, Lee KL, Lamas GA. Association of prolonged QRS duration with death in a clinical trial of pacemaker therapy for sinus node dysfunction. *Circulation* 2005;**111**:2418–23.
- Sweeney MO, Hellkamp AS, Ellenbogen KA, Greenspon AJ, Freedman RA, Lee KL et al. Adverse effect of ventricular pacing on heart failure and atrial fibrillation among patients with normal baseline QRS duration in a clinical trial of pacemaker therapy for sinus node dysfunction. *Circulation* 2003;**107**:2932–7.
- Zhang XH, Chen H, Siu CW, Yiu KH, Chan WS, Lee KL et al. New-onset heart failure after permanent right ventricular apical pacing in patients with acquired high-grade atrioventricular block and normal left ventricular function. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2008;**19**:136–41.
- Siu CW, Wang M, Zhang XH, Lau CP, Tse HF. Analysis of ventricular performance as a function of pacing site and mode. *Prog Cardiovasc Dis* 2008;**51**:171–82.
- Gupta MP. Factors controlling cardiac myosin-isoform shift during hypertrophy and heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2007;**43**:388–403.
- Periasamy M, Bhupathy P, Babu GJ. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathophysiology. *Cardiovasc Res* 2008;**77**:265–73.
- Kontaraki JE, Parthenakis FI, Nyktari EG, Patrianakis AP, Vardas PE. Myocardial gene expression alterations in peripheral blood mononuclear cells of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2010;**12**:541–8.
- Lowe BD, Gilbert EM, Abraham WT, Minobe WA, Larrabee P, Ferguson D et al. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *N Engl J Med* 2002;**346**:1357–6.
- Heerdt PM, Holmes JW, Cai B, Barbore A, Madigan JD, Reiken S et al. Chronic unloading by left ventricular assist device reverses contractile dysfunction and alters gene expression in end-stage heart failure. *Circulation* 2000;**102**:2713–9.
- Oka T, Xu J, Molkenin JD. Re-employment of developmental transcription factors in adult heart disease. *Semin Cell Dev Biol* 2007;**18**:117–31.
- Rajabi M, Kassiotis C, Razeghi P, Taegtmeier H. Return to the fetal gene program protects the stressed heart: a strong hypothesis. *Heart Fail Rev* 2007;**12**:331–43.
- Shareef MA, Anwer LA, Poizat C. Cardiac SERCA2A/B: therapeutic targets for heart failure. *Eur J Pharmacol* 2013;**724C**:1–8.
- Herron TJ, Korte FS, McDonald KS. Loaded shortening and power output in cardiac myocytes are dependent on myosin heavy chain isoform expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;**281**:H1217–22.
- Muller OJ, Lange M, Rattunde H, Lorenzen HP, Muller M, Frey N et al. Transgenic rat hearts overexpressing SERCA2a show improved contractility under baseline conditions and pressure overload. *Cardiovasc Res* 2003;**59**:380–9.
- Vanderheyden M, Mullens W, Delrue L, Goethals M, de Bruyne B, Wijns W et al. Myocardial gene expression in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy responders versus nonresponders. *J Am Coll Cardiol* 2008;**51**:129–36.
- Brignole M, Auricchio A, Baron-Esquivias G, Bordachar P, Boriani G, Breithardt OA et al. 2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the Task Force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace* 2013;**15**:1070–118.
- Aziz H, Zaas A, Ginsburg G. Peripheral blood gene expression profiling for cardiovascular disease assessment. *Genomic Med* 2007;**1**:105–12.
- Gerling IC, Ahokas RA, Kamalov G, Zhao W, Bhattacharya SK, Sun Y et al. Gene expression profiles of peripheral blood mononuclear cells reveal transcriptional signatures as novel biomarkers for cardiac remodeling in rats with aldosteronism and hypertensive heart disease. *JACC Heart Fail* 2013; **1**: doi: 10.1016/j.jchf.2013.09.003.
- Vanburen P, Ma J, Chao S, Mueller E, Schneider DJ, Liew CC. Blood gene expression signatures associate with heart failure outcomes. *Physiol Genomics* 2011;**43**:392–7.

# Europace

## The impact of paced QRS duration on the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex --Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	The impact of paced QRS duration on the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex
<b>Article Type:</b>	Clinical Research
<b>Keywords:</b>	right ventricular apical pacing; gene expression; ventricular remodelling; SERCA
<b>Corresponding Author:</b>	EVA ARKOLAKI, M.D University Hospital of Heraklion Heraklion, GREECE
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	University Hospital of Heraklion
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	EMMANOUEL SIMANTIRAKIS, PROFESSOR
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	EMMANOUEL SIMANTIRAKIS, PROFESSOR EVA ARKOLAKI, M.D JOANNA KONTARAKI GREGORY CHLOUVERAKIS HERCULES MAVRAKIS ELEUTHERIOS KALLERGIS FRAGISKOS PARTHENAKIS PANOS VARDAS
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p>Abstract</p> <p><b>Aims</b> Right ventricular (RV) apex has proven to induce abnormal left ventricular (LV) activation pattern leading to pacing-induced cardiomyopathy (PICM) in a substantial percentage of paced patients. This study assessed the impact of paced QRS duration on the expression in the peripheral blood of sarcoplasmic reticulum calcium ATPase (SERCA) and investigated whether its width is related to the extend of LV remodelling.</p> <p><b>Methods</b> We enrolled 52 consecutive patients with preserved ejection fraction (EF) who underwent pacemaker implantation for bradycardic indications. Group A consisted of 24 patients paced for atrioventricular conduction disturbances with QRS=142±12ms post-implant and group B of 28 patients paced for sinus node disease with QRS=94±2%ms post-implant. mRNA levels of SERCA were assessed at implantation, 3, 6 and 12 months follow-up, while echocardiographic parameters at implantation, 1, 2 and 4 years.</p>

#### Results

In group A, mRNA levels of SERCA decreased significantly at 3 months and remained low at 6 and 12 months' follow-up and were associated to the deterioration of LV function and geometry. Paced QRS duration was associated to both the alteration in the expression of SERCA and to the extent of LV remodelling. In group B no statistically significant change was demonstrated.

#### Conclusions

Permanent RV pacing in patients with preserved EF and wide QRS post-implant is associated with a significant reduction of mRNA levels of SERCA. Paced QRS duration is associated to alterations in the expression of SERCA which precede adverse LV remodelling.



### Author Declaration Form

**Title of Manuscript:**

The impact of paced QRS duration on the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex

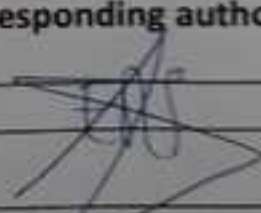
This manuscript, or part of it, has neither been published nor is currently under consideration by any other Journal.

I declare that:

*(Please tick the relevant statement below):*

my co-authors listed below have read the manuscript and approved its submission to Europace. Each author has signed to that effect below, or

in the case of 5 or more authors, every author has read and approved the manuscript and has delegated me, as corresponding author, to sign this declaration on their behalf.

Printed corresponding author name	Corresponding author signature
E. Simantirakis	
Printed Co-author name	Co-author signature



## What's new?

- Duration of paced QRS is associated to alterations in the expression of the gene SERCA that precede adverse LV remodeling in paced patients with preserved EF.
- Paced QRS duration is also associated to LV adverse remodelling and is indicative of the development of PICM.
- If solid data can be established, patients with wide paced QRS and pathologic expression of SERCA in the peripheral blood might benefit from closer monitoring and therapeutic approach such as cardiac resynchronization therapy.

## Abstract

### Aims

Right ventricular (RV) apex has proven to induce abnormal left ventricular (LV) activation pattern leading to pacing-induced cardiomyopathy (PICM) in a substantial percentage of paced patients. This study assessed the impact of paced QRS duration on the expression in the peripheral blood of sarcoplasmic reticulum calcium ATPase (SERCA) and investigated whether its width is related to the extend of LV remodelling.

### Methods

We enrolled 52 consecutive patients with preserved ejection fraction (EF) who underwent pacemaker implantation for bradycardic indications. Group A consisted of 24 patients paced for atrioventricular conduction disturbances with QRS=142±12ms post-implant and group B of 28 patients paced for sinus node disease with QRS=94±2%ms post-implant. mRNA levels of SERCA were assessed at implantation, 3, 6 and 12 months follow-up, while echocardiographic parameters at implantation, 1, 2 and 4 years.

### Results

In group A, mRNA levels of SERCA decreased significantly at 3 months and remained low at 6 and 12 months' follow-up and were associated to the deterioration of LV function and geometry. Paced QRS duration was associated to both the alteration in the expression of SERCA and to the extend of LV remodelling. In group B no statistically significant change was demonstrated.

### Conclusions

Permanent RV pacing in patients with preserved EF and wide QRS post-implant is associated with a significant reduction of mRNA levels of SERCA. Paced QRS duration is associated to alterations in the expression of SERCA which precede adverse LV remodelling.

### Keywords

right ventricular apical pacing

gene expression

ventricular remodelling

SERCA

## **Condensed abstract**

We enrolled 52 consecutive patients with preserved ejection fraction who underwent pacemaker implantation. Paced QRS duration was associated to both alterations in the expression of gene SERCA that precede LV adverse remodelling and to the extent of LV remodelling.

# **The impact of paced QRS duration on the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex**

## **Introduction**

Right ventricular (RV) apex, albeit the most popular pacing site, has proven to induce abnormal left ventricular (LV) activation pattern thus leading to pacing-induced cardiomyopathy (PICM) in a substantial percentage of paced patients.<sup>1,2</sup> The risk of developing PICM depends on the interactions between numerous factors either patient-specific or pacing-related. Patient-specific factors comprise the presence of intrinsic AV and ventricular conduction disturbances, baseline atrial rhythm, LV ejection fraction (EF), presence of heart failure (HF) and/or coronary artery disease (CAD) at the time of implantation. Pacing-related factors include the mode of pacing, site of ventricular lead, duration of paced QRS, percentage of ventricular pacing and duration of pacing.<sup>2,3</sup>

We hypothesized that duration of paced QRS could serve as an index of the asynchrony induced by RV apical pacing. Therefore, the aim of our study was to assess the impact of paced QRS duration on the expression in the peripheral blood of genes regulating contractile function and hypertrophy as well as to investigate whether its width is related to the extent of LV remodelling and clinical deterioration in paced patients.

## **Methods**

### **Study design**

This was a prospective controlled study, conducted in a single centre with enrolment period lasting for 1 year and mean follow up 4 years. Data concerning gene expression in the peripheral blood were assessed at enrolment (just prior to pacemaker implantation) and at 3, 6, and 12 months. Echocardiographic indexes were assessed at the time of enrolment, and at 1 year, 2 and 4 years. The study complied with the Declaration of Helsinki, all subjects gave written, informed consent prior to their inclusion in the study and the experimental protocol was approved by the hospital's Ethics Committee.

### **Study population**

We enrolled 52 consecutive patients (34 males, age  $79.1 \pm 7.7$  years), with

preserved LV function ( $EF \geq 45\%$ ) who underwent pacemaker implantation due to bradycardic indications. The ventricular lead was placed in the RV apex in all patients. All patients underwent pacemaker interrogation to determine the percentage of paced ventricular systoles and ECGs to assess QRS duration after optimum device programming to minimize unnecessary ventricular pacing (VP). Patients were divided into two groups based on the QRS duration post-implant. Group A consisted of 24 individuals with a post implant QRS duration  $\geq 120$  msec and VP cumulative percentage that exceeded 90%. Group B which served as controls consisted of 28 patients with preserved intrinsic atrioventricular conduction and therefore a narrow QRS post implant  $<120$  msec and  $VP < 5\%$ .

### **Echocardiography**

At the time of implantation and at 1, 2 and 4 years follow up, patients underwent echocardiographic examination for the evaluation of LV function and structure. Echocardiographic images were obtained with patients in the left lateral decubitus position, by 2 experienced echocardiographers blinded to the study protocol, using a Vivid 7 (General Electric, Horten, Norway) ultrasound device with a 1.5 –3.6 MHz wide angle phased-array transducer (M4S).

All measurements were performed off-line on digitally stored images. Left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD) and left ventricular end-systolic diameter (LVESD) were assessed from M-mode recordings in parasternal long axis view. LV end-systolic and end-diastolic volumes were assessed from apical 2-chamber and 4-chamber views, and LVEF was calculated using the biplane Simpson's rule.

### **Expression of genes**

#### **RNA isolation and quantitative RT-PCR**

Blood samples were collected into ethylenediamide-tetra-acetic-acid (EDTA) collection tubes. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated by ficoll-paque plus (Stem Cell Technologies Inc., Vancouver, BC, Canada) gradient centrifugation, total RNA was isolated using the TRI-Reagent (Ambion, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). RNA samples for each patient's full time course were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis.  $1\mu\text{g}$  of total RNA was reverse transcribed with oligo-(dT) using the Reverse Transcription System (Promega, Madison, USA) in  $20\mu\text{l}$  reactions. Measurements of mRNA levels were performed by quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) using the STRATAGENE Mx3000P Detection System. PCR assays were performed in  $2\mu\text{l}$  of the cDNA templates using the SYBR Green PCR Master Mix (Bio-Rad, CA, USA) in  $20\mu\text{l}$  reactions. Primer

sequences for sarcoplasmic reticulum calcium ATPase (SERCA) and glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase (GAPDH), as well as the experimental design strategy to achieve specificity were as previously described.<sup>4</sup> Thermal profiling for the real time PCR was an initial denaturation step at 95°C for 5mins, followed by 40 cycles of: 95°C for 15sec, annealing temperature for 60sec, 72°C for 30sec, followed by melting curve generation from 55°C to 95°C. Annealing temperature was the optimal for each primer set. All samples were run in duplicate. The standard curve method was used for absolute quantification of the amplification products and specificity was determined by performing a melting curve analysis. A uniform amplification of the products was rechecked by analyzing the melting curves of the amplified products (dissociation graphs). Standard curves for the expression of each gene were generated by serial dilution of known quantities of cDNA template. The housekeeping gene GAPDH was used as an endogenous reference gene and relative quantification was performed by normalizing with the GAPDH signal. Gene expression levels after absolute quantification and normalization to the GAPDH signal were presented as arbitrary units.

## **Statistical analysis**

Summary descriptive statistics are expressed as mean +/-standard deviation or as frequencies and percentages, as appropriate. Categorical variables were compared with using Fisher's exact test. Repeated measures analysis of variance was employed to assess time, QRS width, and interaction effects of gene expression and echo parameters. Pearson correlation coefficients were also computed to assess the association between changes in echo variables and gene expression changes. All statistical tests were carried out at the two sided 5% level of significance. The statistical package IBM-SPSS 21 was used for all analyses.

## **Results**

### **Patient characteristics**

Patients' demographic and clinical characteristics, together with baseline echocardiographic parameters, are summarized in Table 1. Patients were on optimum medical treatment that included angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers and diuretics. Patients in group A exhibited a mean paced QRS duration of 142±12 ms and high percentage of VP

94±2%. Controls QRS duration post implant was rather narrow 85±5ms while VP was 3±1%. At the time of implantation there was no statistically significant difference in baseline echocardiographic parameters and mRNA levels of the gene SERCA between the two groups. Analysis of patients' clinical characteristics (arterial hypertension, diabetes mellitus, hyperlipidaemia and CAD) did not reveal any statistically significant correlation to the clinical outcome. This could probably be attributed to the small number of patients included in this study.

### **Alterations in the expression of gene SERCA**

There was a significant time effect on mRNA levels of the gene SERCA, with its levels decreasing sharply from the time of implantation to 3 months' follow-up ( $P<0.001$ ), with no further changes.

In controls (group B) there was no significant time effect in the expression of the gene SERCA. The exact values and the time course of the expression of the gene SERCA in the 2 groups are presented in Table 2 and Figure 1, respectively.

### **Association between post-implant QRS duration and the expression of SERCA**

In group A, paced QRS duration was associated to the alterations in the expression of SERCA. The wider the QRS duration, the more substantial the drop of SERCA ( $R=-0,607$ ,  $p=0,002$ )(figure 2). In group B there was no association between post-implant QRS duration expression of SERCA

### **Association between paced QRS duration and LV dimension and function**

No statistically significant intra- and inter-observer variation was found between the measurements obtained from the patients. In group A, there was another association between paced QRS duration and the extend of LV remodelling. The wider the QRS duration, the more substantial the drop of ejection fraction ( $R=-0,595$ ,  $p=0,002$ ) and the bigger increase in LV dimensions (for LV end-systolic diameter  $R=0,354$ ,  $p=0,09$  and for LV end-diastolic diameter  $R=0,535$ ,  $p=0,007$ ) (figure 3). After a mean follow up of 4 years 25% of our patients developed PICM (defined as increase in LVEDD by  $\geq 15\%$  and a decrease in EF by  $\geq 15\%$ ). All of them have had a paced QRS duration  $>150$ msec. In controls no statistically significant time effect was observed in LV dimensions and EF and no association was demonstrated between them and post implant QRS duration.

In group A, alterations in the expression of SERCA were also associated to the deterioration of LV function and geometry and were traceable at a much earlier stage. This finding is consistent with the results of a previous study that

demonstrated that alterations in the expression of the genes SERCA and  $\beta$ -MHC are traceable in the peripheral blood early after pacemaker implantation and precede LV remodelling which becomes evident in a much later stage.<sup>5</sup>

## Discussion

To our knowledge, this is the first study which demonstrates that duration of paced QRS is associated to alterations in the expression of the gene SERCA which precede deterioration of LV function and adverse LV remodeling in paced patients with preserved EF. In our study, paced QRS duration was associated to LV adverse remodelling and was indicative of the development of PICM, as already demonstrated in previous studies. However, paced QRS duration seems to have an association to the expression of SERCA as well. More specifically, as paced QRS duration becomes wider, the drop in the expression of SERCA (which represents an index of LV function) becomes substantial ( $R=-0,607$ ,  $p=0,002$ ). Interestingly, patients with narrow paced QRS do not exhibit any statistically significant alterations in the expression of SERCA, nor in echocardiographic parameters as demonstrated in a previous study conducted in our centre.<sup>5</sup>

Is it well-established that pathophysiologic conditions of hemodynamic or metabolic stress such as HF results in the suppression of the post-natal gene program and re-emerging of the fetal gene program.<sup>6</sup> Predominance of the fetal gene program includes isoform switching of myocardial proteins, metabolic enzymes and sarcomeric proteins.<sup>7</sup> Pathologic expression of genes encoding excitation-contraction coupling, such as SERCA, results in impaired calcium cycling, contractile deficiency and subsequently adverse remodelling.<sup>8</sup> According to published data SERCA is presumed to be both a marker and a therapeutic target of HF.<sup>9</sup> Indeed levels of SERCA decline with the progression of HF, while they rise again with its remission.<sup>10,11</sup>

Prevalence of PICM varies in current literature depending on the characteristics of the population studied as well as on whether the definition of new-onset HF was based on echocardiographic or clinical criteria. Indeed, patients with normal or near normal LV function and no prior history of HF and/or CAD seem to have low incidence of PICM. In UKPACE, 2568 patients with preserved EF, have had an annual incidence of HF hospitalization that could not be attributed to any other obvious reason of 3.5% for dual-chamber pacemaker and 3.1% for single-chamber pacemaker respectively.<sup>12</sup> In the MOST trial that included 2010 patients after a mean follow-up of 33.1 months, the incidence of PICM was approximately the same either for dual-chamber pacing 10.3%, or for single-chamber pacing 12.3% ( $p=0.13$ ).<sup>2</sup> Another study consisting of 304 patients with preserved EF and long term follow-up of 7.8 years reported a rather



higher incidence of 26%, however the percentage of VP was >90%.<sup>1</sup> On the other hand, in populations with reduced LV function, high percentage of RV apical pacing has proven detrimental with increased risk of deterioration of pre-existing HF (even from the first year post-implant) as subanalyses of both DAVID and MADIT II trials have demonstrated.<sup>13,14</sup>

Therefore it seems that in patients with preserved EF, factors such as cumulative percentage of VP and paced QRS duration may play an important role in development of new-onset HF. In patients with atrioventricular conduction disturbances who are exposed to high cumulative percentage of ventricular pacing, duration of paced QRS becomes even more fundamental in the development of PICM. In a study of 1750 consecutive patients with preserved EF undergoing pacemaker implantation, 22.8% developed PICM after a mean follow up of 3.4 years.<sup>15</sup> These patients were more likely to be men ( $p=0.03$ ), with lower EF at the time of implantation ( $p=0.04$ ), wider native QRS at baseline ( $p=0.006$ ), higher cardiac rate at follow-up ( $p<0.001$ ) and wider paced QRS duration ( $p=0.001$ ). Interestingly, in multivariate modeling, paced QRS duration was independently associated with the development of PICM. Indeed, paced QRS duration  $\geq 150$  msec was 95% sensitive for the development of PICM. This finding is consistent with the fact that benefit from cardiac resynchronization therapy (CRT) is primarily seen in patients with morphology of left bundle branch block and QRS duration  $\geq 150$  msec.<sup>16</sup> By analogy, cardiomyopathy induced by ventricular premature complexes is likely to develop when QRS duration of the ectopic ventricular beats exceeds 151 msec.<sup>17</sup> Of course, routine imaging of all patients exposed to high percentage of ventricular pacing would represent a high burden for both health economics and health provider personnel. And even though we cannot suggest a cut-off value as indicative of the risk for the development of PICM due to the small number of patients enrolled in the study, it is obvious that the wider the paced QRS, the more ominous for LV function. Prevention of PICM would result in fewer HF hospitalizations and improvement of the quality of life of paced patients. Based on current guidelines, patients with preserved EF and a classical indication for a pacemaker, are not eligible for biventricular pacing.<sup>18</sup> Upgrade to CRT is indicated only after HF development to achieve remission of HF.<sup>18</sup> However, PICM is not always reversible in some cases, given that chronic exposure to a pathogenic stimulus may lead to permanent adverse remodelling. Moreover, late upgrade has also complications such as vein thrombosis or device infection due to reoperation. Our findings clearly demonstrate that paced QRS duration is indicative of the risk for PICM and is associated to the alterations in the expression of the myocardial gene SERCA. Therefore, a closer follow up and imaging screening in patients exposed to high percentage of ventricular pacing with a wide paced QRS (i.e.  $\geq 150$  msec) and pathological expression of SERCA could result in early detection of those amenable to

PICM and in their optimum management even if needed device upgrade.

### **Study limitations**

In our study, expression of the myocardial gene SERCA was measured in the peripheral blood rather than in myocardial biopsy. However, it is well-established that peripheral blood can serve as a substitute material to monitor cardiovascular disease progress.<sup>19</sup> The significant overlap in the molecular mimicry of mononuclear cells in the peripheral blood and cardiomyocytes observed in animal models, implies that transcriptional signatures of mononuclear cells in the peripheral blood may serve as early non invasive sentinels with a predictive value of an imminent LV reverse remodelling.<sup>20</sup> Therefore, peripheral blood could represent a reliable and easily accessible index for the expression of myocardial genes.

### **Conclusions**

Patients exposed to RV apical pacing are subjected to the risk of developing PICM which is associated to the duration of paced QRS. Paced QRS duration is related to alterations in the expression of SERCA that precede LV remodelling. If solid data can be established concerning their predictive value, patients with wide paced QRS and pathologic expression of SERCA in the peripheral blood might benefit from closer monitoring and therapeutic approach such as cardiac resynchronization therapy.

**Conflict of interest:** none declared

**Table 1**

<b>Parameters</b>	<b>Group A (n=24)</b>	<b>Group B (n=28)</b>	<b>p value</b>
<b>Age (years)</b>	79.3±7.4	78.9±8	0.86
<b>Sex (male/female)</b>	13/11	15/13	0.99
<b>Medical history</b>			
Arterial hypertension	19	22	0.65
Hyperlipidemia	15	18	0.92
Diabetes mellitus	9	12	0.85
CAD	8	10	0.82
<b>NYHA class (I/II)</b>	11/13	12/16	0.75
<b>Echocardiographic findings</b>			
LVEDD (mm)	50±4.9	49.6±4.9	0.86
LVESD (mm)	29.6±3.3	28.64±2.7	0.72
EF (%)	63±10.2	65±9.6	0.69

Demographic/clinical characteristics and echocardiographic baseline parameters of the patients of the 2 groups

**Table 2**

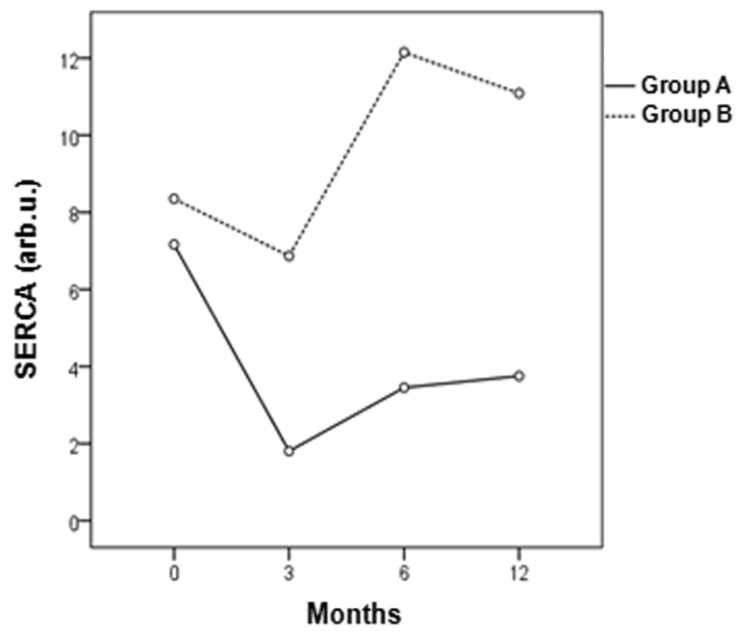
<b>mRNA SERCA</b>			
<b>Timepoints</b>	<b>Group A</b>	<b>Group B</b>	<b>P value</b>
<b>implantation</b>	8.63±5.54	7.87±5.51	0.623
<b>3 months</b>	3.48±3.46	6.72±3.9	0.003
<b>6 months</b>	4.21±2.77	9.83±12.1	0.031
<b>1 year</b>	3.56±2.68	8.82±11.05	0.021

Values of the expression of SERCA of patients of the 2 groups at various timepoints during 12 months' follow up

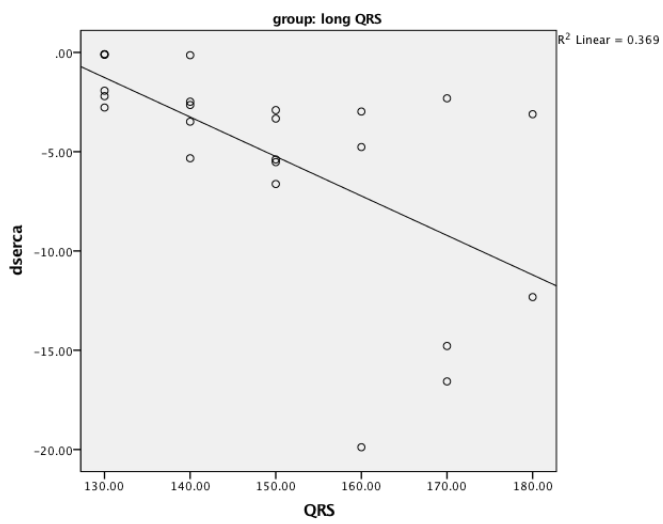
**Table 3**

Timepoints	LVEDD (mm)		LVESD (mm)		EF (%)	
	Group A	Group B	Group A	Group B	Group A	Group B
implantation	50±4.95	49.64±4.93	29.67±3.39	28.64±2.73	63.04±10.22	65.07±9.66
1 year	51.63±4.49	50.57±4.91	<b>31.21±3.75</b>	29.25±2.85	61.71±9.23	65.75±8.46
2 years	53.79±5.46	50.46±4.94	33.13±4.43	29±2.73	56.58±10.9	65.61±8.15
4 years	56.71±5.52	50.36±4.84	35.38±4.22	29.04±2.8	52.83±10.81	65.29±8.28

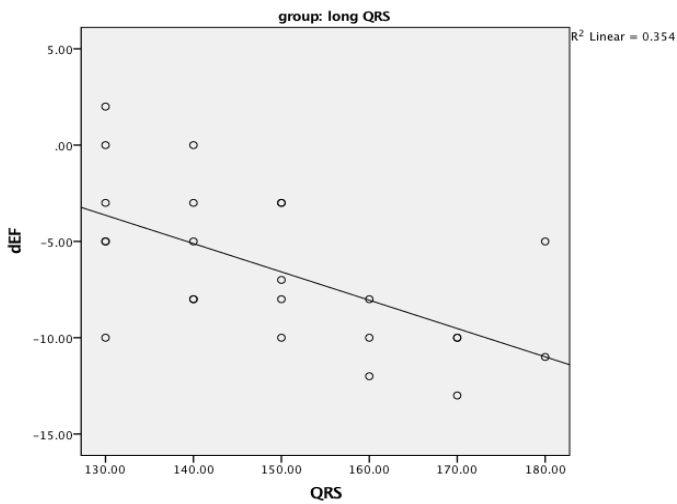
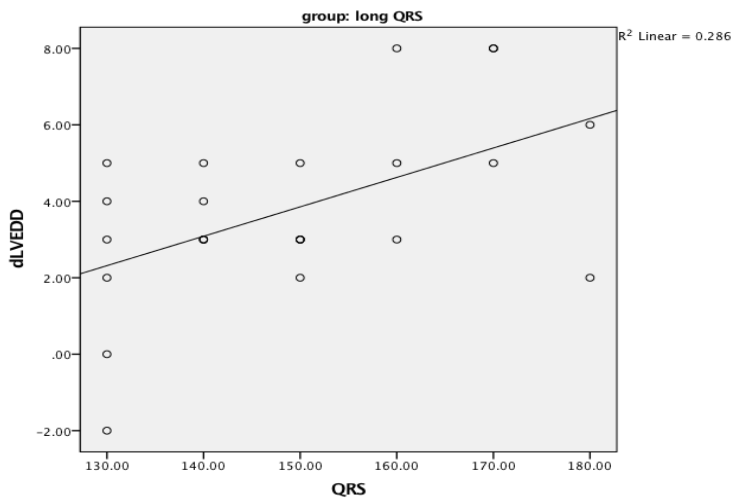
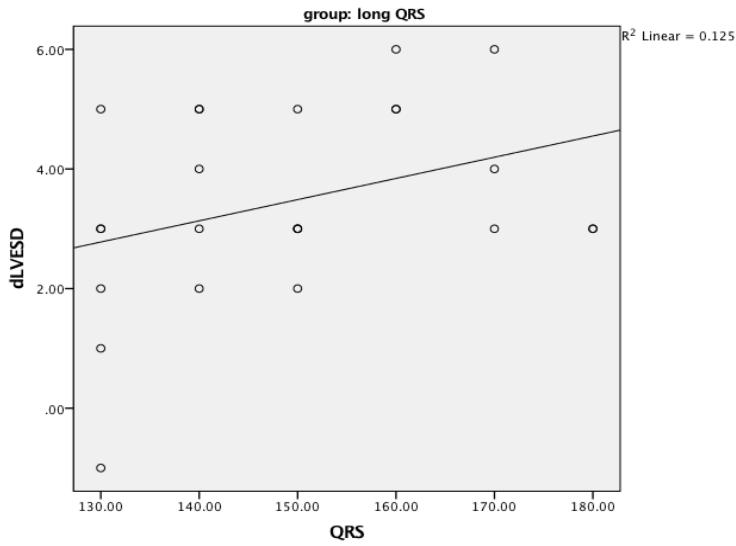
Values of the echocardiographic indexes LVEDD, LVESD, LVEF in the 2 groups of patients at various timepoints during 4 years' follow up



**Figure 1:** Time-course of the expression of SERCA in patients in the 2 groups. Arb. U: arbitrary units



**Figure 2:** Significant correlations between QRS and changes in 1 year SERCA



**Figure 3:** Significant correlations between QRS and 2-year changes in LVESD, LVEDD and EF.

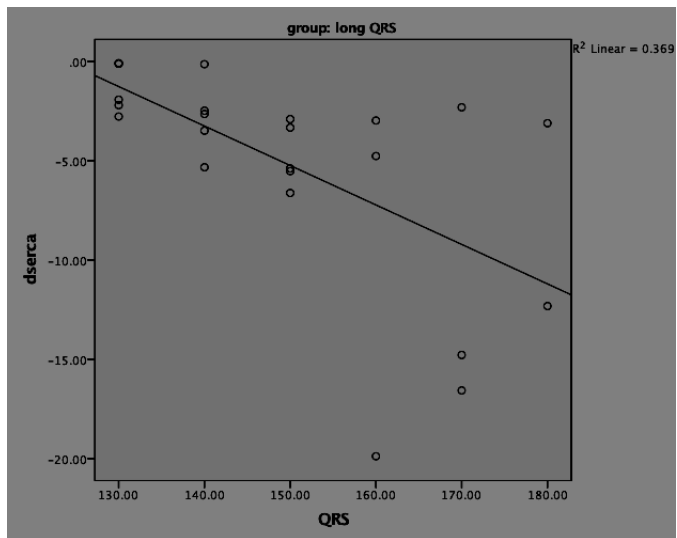


## References

1. Zhang XH, Chen H, Siu CW, Yiu KH, Chan WS, Lee KL, et al. New-onset heart failure after permanent right ventricular apical pacing in patients with acquired high-grade atrioventricular block and normal left ventricular function. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2008;19:136-41.
2. Sweeney MO, Hellkamp AS, Ellenbogen KA, Greenspon AJ, Freedman RA, Lee KL et al. Adverse effect of ventricular pacing on heart failure and atrial fibrillation among patients with normal baseline QRS duration in a clinical trial of pacemaker therapy for sinus node dysfunction. *Circulation*. 2003;107:2932-7.
3. Siu CW, Wang M, Zhang XH, Lau CP, Tse HF. Analysis of ventricular performance as a function of pacing site and mode. *Prog Cardiovasc Dis*. 2008;51:171-82.
4. Kontaraki JE, Parthenakis FI, Nyktari EG, Patrianakos AP, Vardas PE. Myocardial gene expression alterations in peripheral blood mononuclear cells of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2010;12:541-548.
5. Arkolaki EG, Simantirakis EN, Kontaraki JE, Chrysostomakis SI, Patrianakos AP, Chlouverakis GI et al. Nakou ES, Vardas PE. Alterations in the expression of genes related to contractile function and hypertrophy of the left ventricle in chronically paced patients from the right ventricular apex. *Europace*. 2015;17(10):1563-70.
6. Rajabi M, Kassiotis C, Razeghi P, Taegtmeyer H. Return to the fetal gene program protects the stressed heart: a strong hypothesis. *Heart Fail Rev*. 2007 Dec;12(3-4):331-43.
7. Taegtmeyer H, Sen S, Vela D. Return to the fetal gene program: a suggested metabolic link to gene expression in the heart. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1188:191-8.
8. Periasamy M, Bhupathy P, Babu GJ. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. *Cardiovasc Res*. 2008;77:265-273.
9. Shareef MA, Anwer LA, Poizat C. Cardiac SERCA2A/B: Therapeutic targets for heart failure. *Eur J Pharmacol*. 2013;724C:1-8.
10. Lowes BD, Gilbert EM, Abraham WT, Minobe WA, Larrabee P, Ferguson D, et al. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *N Engl J Med*. 2002;346:1357-6.
11. Vanderheyden M, Mullens W, Delrue L, Goethals M, de Bruyne B, Wijns W, et al. Myocardial gene expression in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy responders versus nonresponders. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:129-36.

12. Toff WD, Camm AJ, Skehan JD, for UKPACE: Single-chamber versus dual-chamber pacing for high-grade atrioventricular block. *N Engl J Med* 353:145-155, 2005.
13. Wilkoff BL, Cook JR, Epstein AE, et al: Dual-chamber pacing or ventricular backup pacing in patients with an implantable defibrillator: the Dual Chamber and VVI Implantable Defibrillator (DAVID) Trial. *JAMA* 288:3115-3123, 2002.
14. Steinberg JS, Fischer A, Wang P, et al: The clinical implications of cumulative right ventricular pacing in the multicenter automatic defibrillator trial II. *J Cardiovasc Electrophysiol* 16:359-365, 2005.
15. Khurshid S, Liang JJ, Owens A, Lin D, Schaller R, Epstein AE et al. Longer Paced QRS Duration is Associated With Increased Prevalence of Right Ventricular Pacing-Induced Cardiomyopathy. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2016;27(10):1174-1179.
16. Moss AJ, Hall WJ, Cannom DS, Klein H, Brown MW, Daubert JP et al. MADIT-CRT Trial Investigators: Cardiac-resynchronization therapy for the prevention of heart-failure events. *N Engl J Med* 2009;361:1329-1338.
17. Deyell MW, Park K-M, Han Y, Frankel DS, Dixit S, Cooper JM et al. Predictors of recovery of left ventricular dysfunction after ablation of frequent ventricular premature depolarizations. *Heart Rhythm* 2012;9:1465-1472.
18. Brignole M, Auricchio A, Baron-Esquivias G, Bordachar P, Boriani G, Breithardt OA, et al. 2013 ESC Guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the Task Force on cardiac pacing and resynchronization therapy of the European Society of Cardiology (ESC). Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace* 2013;15(8):1070-118.
19. Aziz H, Zaas A, Ginsburg G. Peripheral blood gene expression profiling for cardiovascular disease assessment. *Genomic Medicine*. 2007;1:105-112.
20. Gerling IC, Ahokas RA, Kamalov G, Zhao W, Bhattacharya SK, Sun Y, et al. Gene Expression Profiles of Peripheral Blood Mononuclear Cells Reveal Transcriptional Signatures as Novel Biomarkers for Cardiac Remodeling in Rats with Aldosteronism and Hypertensive Heart Disease.

## REPRESENTATIVE FIGURE



Significant correlations between QRS and changes in 1year SERCA