

doi: 10.3897/bgcardio.31.e174687

МОЛЕКУЛНИ МЕХАНИЗМИ НА ЛЕВОКАМЕРНАТА СИСТОЛНА ДИСФУНКЦИЯ: АКТУАЛЕН ПРЕГЛЕД

А. Иванов¹, Е. Левунлиева²

¹Клиника по кардиология и ангиология, Сърдечно-съдов център, Аджикадем Сити Клиник – София

²Клиника по детска кардиология, Национална кардиологична болница – София

MOLECULAR MECHANISMS OF LEFT VENTRICULAR SYSTOLIC DYSFUNCTION: A CURRENT REVIEW

A. Ivanov¹, E. Levunlieva²

¹Clinic of Cardiology and Angiology, Cardiovascular Centre, Acibadem City Clinic – Sofia

²Clinic of Pediatric Cardiology, National Heart Hospital – Sofia

Резюме.

Систолната дисфункция на лявата камера е крайният резултат от комплексни структурни, клетъчни и молекулни нарушения, засягащи съкратителния апарат на миокарда и неговата енергийна хомеостаза. Настоящият обзор разглежда ключовите механизми, стоящи в основата на този процес, като акцентира върху миокардното съкращение и регулацията му от калциевата динамика и състоянието на саркомерите. Представени са основните фактори, водещи до развитие на систолна дисфункция – обемно и тензионно обременяване, исхемия, възпаление, амилоидни и други натрупвания, неврохормонална активация и ендокринни нарушения, оксидативен стрес. Допълнително се разглеждат клетъчни и молекулни механизми, включително дефекти в SERCA2a и Na⁺/Ca²⁺ обменник, патологичен ефлукс на Ca²⁺ през RyR2, промени в титина, увреждане на миофиламентите, протеазомна дисфункция, нарушена автофагия, епигенетична регулация, митохондриална дисфункция, стрес на ендоплазмения ретикулум и нарушения във връзката между клетките. Комплексното взаимодействие между тези процеси води до прогресивно реструктуриране на миокарда, фиброза, енергиен дефицит и нарушение на съкратителната способност на миокарда. Познаването на тези механизми е от значение за по-доброто разбиране на патогенезата на систолната дисфункция, както и за разработването на нови терапевтични стратегии за повлияването ѝ.

Ключови думи:

миокардно съкращение, контрактилитет, систолна функция, систолна дисфункция

Адрес

за кореспонденция: Д-р Андрей Иванов, дм, e-mail: andrewaivanov12@gmail.com

Abstract.

Left ventricular systolic dysfunction results from complex structural, cellular, and molecular disorders affecting the contractile apparatus of the myocardium and its energy homeostasis. This review discusses the key mechanisms of this process, with emphasis on myocardial contraction and its regulation by calcium dynamics and integrity of the sarcomeres. The main factors leading to the development of systolic dysfunction are presented: volume and tension overload, ischemia, inflammation, amyloid and other deposits, neurohormonal activation and endocrine disorders, oxidative stress. In addition, cellular and molecular mechanisms are presented, such as defects in SERCA2a, and Na⁺/Ca²⁺ exchanger, pathological Ca²⁺ efflux through RyR2, alterations in titin phosphorylation, myofibrillar damage, proteasome dysfunction, impaired autophagy, epigenetic regulation, endoplasmic reticulum stress, and abnormalities in intercellular connectivity. The complex interaction between these processes leads to progressive myocardial remodeling, fibrosis, energy deficit, and impaired myocardial contractility. Understanding these mechanisms is important for better understanding the pathogenesis of systolic dysfunction as well as for the development of new therapeutic strategies for its treatment.

Key words:

myocardial contraction, contractility, systolic function, systolic dysfunction

Address

for correspondence: Andrey Ivanov, MD, PhD, e-mail: andrewaivanov12@gmail.com

Увод

Систолната дисфункция на лявата камера е крайният резултат от комплексни структурни, клетъчни и молекулни нарушения, засягащи контрактилния апарат на миокарда и неговата енергийна хомеостаза. Тя е основен патофизиологичен механизъм, стоящ в основата на сърдечната недостатъчност с редуцирана фракция на изтласкване (HFrEF). Характеризира се с невъзможност за генериране на адекватно напрежение и ударен обем за дадената степен на натоварване. Развитието ѝ е резултат от взаимодействие между хемодинамични фактори (обемно и тензионно обременяване), исхемия, възпалителни процеси, невроендокринни промени, както и клетъчни и молекулни дефекти, засягащи калциевата динамика, митохондриалната функция и структурната организация на саркомерите.

Съкращение и систолна функция

Механичната активност на миокарда е свързана със саркомерите – високоорганизирани структури, изградени от три типа влакна [47]:

INTRODUCTION

Left ventricular systolic dysfunction is the final result of complex structural, cellular, and molecular disorders affecting the myocardial contractile apparatus and its energy homeostasis. It is the primary pathophysiological mechanism of heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF). It is characterized by an inability to generate adequate tension and stroke volume for a given level of load. Its development results from interactions between hemodynamic factors (volume and pressure overload), ischemia, inflammatory processes, neuroendocrine changes, as well as cellular and molecular defects involving calcium handling, mitochondrial function, and the structural organization of sarcomeres.

Contraction and systolic function

The mechanical activity of the myocardium is associated with sarcomeres, which are highly organized structures made up of three types of fibers [47]. These fibers include:

Таблица 1. Съкращения // Table 1. Abbreviations

Abbreviation/Съкращение	Meaning/Значение
АТФ/ATP	Аденозинтрифосфат/Adenosine triphosphate
ЛК/LV	Левокамерен/Left ventricular
ACEi	Angiotensin-converting enzyme inhibitors
AF	Atrial fibrillation
ARB	Angiotensin receptor blockers
CaMKII	Ca ²⁺ /calmodulin-dependent protein kinase II
ECM	Extracellular matrix
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
ET-1	Endothelin-1
HFrEF	Heart failure with reduced ejection fraction
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
LOX	Lysyl oxidase
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MRA	Mineralocorticoid receptor antagonists
NF-κB	Nuclear factor kappa B
PKA	Protein kinase A
PKC	Protein kinase C
PKG	Protein kinase G
RAAS	Renin-angiotensin-aldosterone system
ROS	Reactive oxygen species
RyR2	Ryanodine receptor type 2
SERCA2a	Sarco/endoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase 2a
SR	Sarcoplasmic reticulum
TnI	Troponin I
UPR	Unfolded protein response
UPS	Ubiquitin-proteasome system
βARK	β-adrenergic receptor kinase

- дебели филаменти с диаметър около 15 nm, основно съставени от няколко стотин молекули миозин II;

- тънки филаменти с диаметър около 7 nm, изградени от 300-400 актинови молекули;

- гигантски еластичен протеин титин (коннектин).

В норма сърдечното съкращение се инициира от пропагиращия акционен потенциал, генериран от синусовите пейсмейкърни клетки [134]. При деполяризацията на мембраната се отварят волтаж-зависимите L-тип Ca^{2+} каналчета на цитоплазмената мембрана, през които започва навлизане на Ca^{2+} към вътрешността на клетката (фиг. 1). Посредством тип 2 каналчетата на рианодините рецептори този начален инфлукс на Ca^{2+} предизвиква Ca^{2+} ефлукс от саркоплазмения ретикулум, като концентрацията на калциевите йони в цитозола бързо се повишава. Те се свързват с тропонин С на тропониновия комплекс, съставен от три субединици – тропони С, I и Т. Следва свързване на тропонина с тропомиозина, разположен по дължината на актиновия филамент. При ниски концентрации на калциевите йони тропомиозинът блокира свързващите места за миозин на актина [92]. При повишаване на концентрацията на калциевите йони тропомиозинът освобождава свързващите места и дава възможност за взаимодействие между миозина и актина [135]. Поемането на Ca^{2+} от саркоплазмения ретикулум чрез Ca^{2+} -АТФаза и извеждането му извън клетката от $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник води до понижаване на цитоплазменото Ca^{2+} ниво и релаксация на клетката. Чувствителността на миофиламентите към Ca^{2+} се регулира от фосфорилирането на тропонин I (TnI) при серинови остатъци 23 и 24. Фосфорилирането на миозин-свързващия протеин С и регулаторната лека верига на миозина също променя чувствителността към калциевите йони, но в по-малка степен [134].

Сърдечна производителност – това е способността на сърцето да изтласква кръв към артериалното русло. Представя се като сърдечен дебит или като ударен обем. Сред факторите, модулиращи сърдечната производителност, са сърдечната честота, пред- и следнатоварването, контрактилното състояние на миокарда, камерната геометрия, ригидността/кмплайънсът на миокарда, вентрикулоартериалното куплиране, неврохуморалната активност [88].

Инотропия – този термин се използва за означаване на силата на мускулното съкращение, т.е. напрежението, генерирано по време на съкращението. Силата, създавана при съкращението на изолиран мускул зависи от дължината на саркомерите, интрацелуларната концентрация на калциевите йони, скоростта на скъсяване на саркомерите при съкращение срещу нулево натоварване, типа на

- thick filaments with a diameter of about 15 nm, mainly composed of several hundred myosin II molecules,

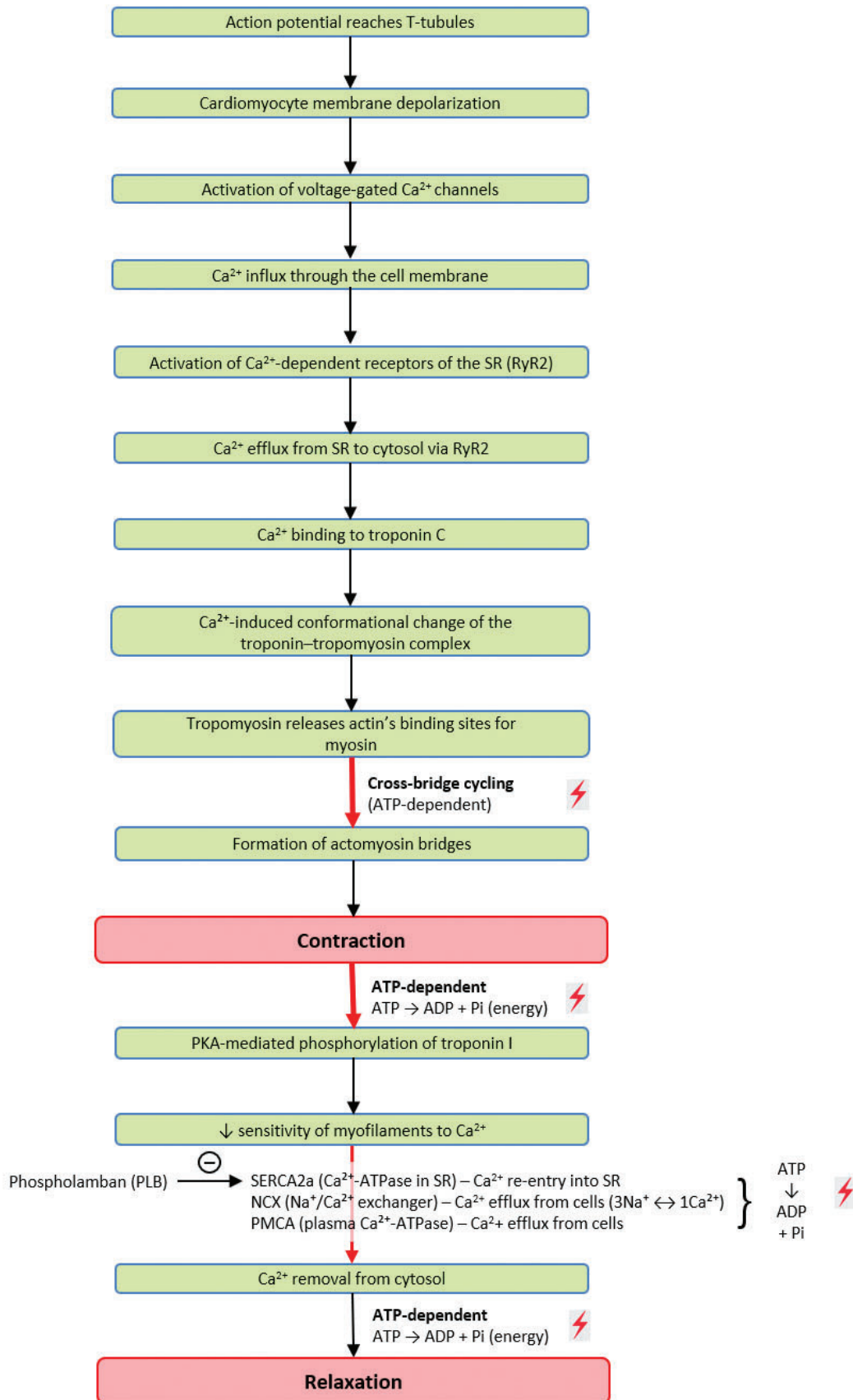
- thin filaments with a diameter of approximately 7 nm, made up of 300-400 actin molecules,

- giant elastic protein titin (connectin).

Usually, cardiac contraction is initiated by a propagating action potential generated by sinus pacemaker cells [134]. Upon membrane depolarization, voltage-gated L-type Ca^{2+} channels in the cytoplasmic membrane open, allowing Ca^{2+} to enter the cell (Fig. 1). Via type 2 ryanodine receptor channels, this initial influx of Ca^{2+} triggers Ca^{2+} efflux from the sarcoplasmic reticulum. Consequently, cytosolic calcium ion concentration rapidly increases. The ions then bind to troponin C of the troponin complex, which consists of three subunits – troponin C, I, and T. Troponin then binds to tropomyosin, which is located along the length of the actin filament. At low calcium ion concentrations, tropomyosin blocks the myosin binding sites on actin [92]. When the concentration of calcium ions increases, tropomyosin releases the binding sites and allows interaction between myosin and actin [135]. The reuptake of Ca^{2+} into the sarcoplasmic reticulum by Ca^{2+} -ATPase and its extrusion from the cell by the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger leads to a decrease in the cytoplasmic Ca^{2+} level and relaxation. Myofilament Ca^{2+} sensitivity depends on the phosphorylation of troponin I (TnI) at serine sites 23 and 24. Phosphorylation of myosin-binding protein C and the myosin regulatory light chain also alters the sensitivity to calcium ions, but to a lesser extent [134].

Cardiac performance (the ability of the heart to eject blood into the arterial system) is expressed as cardiac output or as stroke volume. Factors which modulate cardiac performance include heart rate, preload and afterload, myocardial contractile state, ventricular geometry, myocardial stiffness/compliance, ventriculo-arterial coupling, and neurohumoral activity [88].

Inotropy is a term used to describe the strength of muscle contraction, i.e., the tension generated during contraction. In an isolated muscle, force depends on sarcomere length, intracellular calcium ion concentration, the velocity of sarcomere shortening during contraction against zero load, myosin



Съкращения // Abbreviations: ATP – аденозинтрифосфат // adenosine triphosphate, ADP – аденозиндифосфат // adenosine diphosphate, Pi – неорганичен фосфат // inorganic phosphate

Фиг. 1. Последователност от събития при сърдечното съкращение // Fig. 1. Sequence of events in cardiac contraction

миозина (алфа или бета) и състоянието на фосфорилиране на миозина. За практически цели инотропията се дефинира като „сила“ [88].

Фактори, определящи инотропното състояние (инотропията):

- **Дължина на мускула**, свързана с хетерометричната авторегулация (механизъм на Frank-Starling).

- **Хомеометрична авторегулация** (ефект на von Anrep – повишаване на миокардния контрактилитет, развиващо се до минути след покачване на следнатоварването) [10, 38, 114]. Без този ефект повишението на аортното налягане би водило до намаляване на ударния обем и компрометиране на органната перфузия.

- **Отношение „сила-честота“** (хронотропна инотропия, ефект на стълбата). В норма повишаването на честотата на съкращенията води до увеличаване на силата им вследствие на многократно повтарящо се навлизане на Ca^{2+} с всяка следваща деполяризация и натрупване на цитозолен калций [16]. При влошаване на сърдечната функция генната експресия се променя от нормалния тип при възрастни към този от феталния живот с резултат – инверсия на кривата сила-честота.

- **Автономна активност**. Вагусовото активиране потиска инотропията много бързо (в рамките на секунди, особено в предсърдията), като ефектът е фазово зависим от момента на стимулация в сърдечния цикъл, като отзвучаването му също е бързо [49, 82]. За разлика от това, симпатиковият (β -адренергичен) положителен инотропен ефект се развива по-бавно – в рамките на няколко до десетки секунди, тъй като механизмът му изисква посредници и фосфорилиране на таргетни молекули.

Контрактилитет – способност за развиване на напрежение и достигане на скорост на скъсяване на миоцитите при съкращението на миокарда при фиксирана сърдечна честота, независимо от пред- и следнатоварването [16]. Повишава се при симпатикова стимулация, въздействие на катехоламини, медикаменти, калциеви йони, хипертермия (положителен инотропен ефект). Повишаването на миокардния контрактилитет обикновено се представя като еднопосочна промяна на силата и скоростта на съкращението, представена с изместване на кривата сила-скорост [88]. Кривата на мощността се генерира от произведението на силата и скоростта във всяка точка от кривата сила-скорост [88].

ОСНОВНИ ПРИЧИНИ ЗА РАЗВИТИЕ НА СИСТОЛНА ДИСФУНКЦИЯ

Обемно обременяване и левокамерна дилатация

При хронично обемно обременяване, каквото е налице напр. при митрална и аортна регургитация,

type (alpha or beta), and myosin phosphorylation state. For practical purposes, inotropy is defined as “force” [88].

Determinants of the inotropic state (inotropy):

- **Muscle length**, related to heterometric autoregulation (the Frank–Starling mechanism).

- **Homeometric autoregulation** (von Anrep effect – an increase in myocardial contractility developing within minutes after an increase in afterload) [10,38,114]. Without this effect, an aortic pressure elevation would reduce stroke volume and compromise organ perfusion.

- **Force-frequency relation** (chronotropic inotropy, staircase effect). Typically, increasing heart rate leads to an increase in force due to repeated Ca^{2+} entry with each depolarization and accumulation of cytosolic calcium [16]. In depressed cardiac function, gene expression shifts from the normal adult pattern toward the fetal program, resulting in inversion of the force–frequency curve.

- **Autonomic activity**. Vagal activation suppresses inotropy very rapidly (within seconds, especially in the atria), and the effect depends on the timing of stimulation in the cardiac cycle and also dissipates quickly [49, 82]. In contrast, sympathetic (β -adrenergic) positive inotropic effect develops more slowly (over several to tens of seconds) because its mechanism requires second messengers and phosphorylation of target molecules.

Contractility – the ability to develop tension and a rate of myocyte shortening during myocardial contraction at a fixed heart rate, independent of preload and afterload [16]. It increases with sympathetic stimulation, the action of catecholamines, drugs, calcium ions, hyperthermia, etc. (positive inotropic effect). The increase in myocardial contractility is usually represented as a unidirectional change in the force and velocity of contraction, illustrated by a shift of the force–velocity curve [88]. The power curve is generated from the product of force and velocity at each point of the force–velocity curve [88].

LEADING CAUSES OF SYSTOLIC DYSFUNCTION

Volume overload and left ventricular dilatation

With chronic volume overload as in mitral and aortic regurgitation, ventricular septal defect, or

дефект на междукамерната преграда или проходим артериален проток, лявата камера се разширява, за да поеме увеличеният приток на кръв [63, 64, 96]. Първоначално в резултат от това по механизма на Frank-Starling настъпва компенсаторно увеличаване на ударния обем. С времето обаче прекомерното разтягане на камерните стени води до преразтягане на саркомерите, до нарушаване на геометрията на камерата, инфилтрация с възпалителни клетки, увреждане и реорганизация на екстрацелуларния матрикс, до изтъняване на стените, като същевременно все повече нараства стресът на камерната стена [28, 98]. След достигане на границата от около 2.2 μm дължина на саркомерите камерният ударен обем започва да намалява. Развива се енергиен дефицит в миоцитите и се активират сигнали за апоптоза и ремоделиране. Вследствие на това настъпва прогресивно намаляване на контрактилитета. Хроничното обемно обременяване също така води до активиране на ренин-ангиотензин-алдостероновата система (RAAS) и до развитие на фиброза. Ангиотензин II стимулира фибробластната пролиферация и синтеза на колаген, в следствие на което настъпва интерстициална фиброза и ремоделиране на миокарда, като блокирането на RAAS (ACE инхибитори, блокери на ангиотензиновите рецептори, минералкортикоидни антагонисти) значимо понижава ремоделирането и подобрява преживяемостта при пациентите със сърдечна недостатъчност (CH) [8, 57]. Резултатът от описаните промени при обемно ЛК обременяване е постепенно развиваща се систолна дисфункция.

Тензионно обременяване

При артериална хипертония, клапна аортна стеноза и други варианти на обструкция на изходящия кръвоток, ЛК функционира срещу повишено следнатоварване [63, 95]. Механизмът за адаптация към повишеното следнатоварване е концентричната ЛК хипертрофия, понижаваща стреса на стената и помагача за поддържане на помпената функция въпреки повишеното следнатоварване [62, 115, 127]. Увеличаването на дебелината на камерната стена не е придружено от съответно развитие на коронарното съдово русло (неадекватна ангиогенеза). Това прави субендокарда по-податлив на исхемия [23]. Хипертрофиралият миокард изисква повече енергия. При неадекватната коронарна перфузия това води до хроничен енергиен дефицит, исхемия и активиране на апоптозата [107]. Освен това в интерстициума се натрупва колаген – интерстициална фиброза, повишаваща ригидността на миокарда и допълнително нарушаваща контрактилитета [107]. В това фиброзно ремоделиране участват хормонални (напр. ангиотензин II, алдостерон) и възпалителни пътища, усилващи фиброзата и

patent ductus arteriosus, the left ventricle dilates to accommodate the increased inflow [63,64,96]. Initially, via the Frank–Starling mechanism, this results in compensatory augmentation of stroke volume. Over time, however, excessive wall stretch leads to sarcomere overstretching, distortion of ventricular geometry, inflammatory cell infiltration, injury and reorganization of the extracellular matrix, and wall thinning, while wall stress progressively rises [28, 98]. After reaching a limit of about 2.2 μm of sarcomere length, ventricular stroke volume begins to decrease. An energy deficit develops in myocytes and signals for apoptosis and remodeling are activated. As a result, a progressive decrease in contractility occurs. Chronic volume overload also leads to activation of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and the development of fibrosis. Angiotensin II stimulates fibroblast proliferation and collagen synthesis, resulting in interstitial fibrosis and myocardial remodeling, and RAAS blockade (ACEi, ARB, MRA) significantly reduces remodeling and improves survival in heart failure patients [8, 57]. The net effect of these changes in LV volume overload is a gradually developing systolic dysfunction.

Pressure overload

In arterial hypertension, valvular aortic stenosis, and other types of outflow obstruction, the left ventricle functions against increased afterload [63, 95]. The mechanism of adaptation to the increased afterload is concentric left ventricular hypertrophy, which reduces wall stress and helps maintain the pump function despite increased afterload [62, 115, 127]. The increase in ventricular wall thickness is not accompanied by a corresponding development of the coronary vascular bed (inadequate angiogenesis). This makes the subendocardium more prone to ischemia [23]. The hypertrophied myocardium requires more energy. In inadequate coronary perfusion, this leads to chronic energy deficiency, ischemia, and activation of apoptosis [107]. In addition, collagen accumulates in the interstitium, i.e. interstitial fibrosis develops that increases myocardial stiffness and further impairs contractility [107]. This fibrotic remodeling involves hormonal (e.g. angiotensin II, aldosterone) and inflammatory pathways,

ремоделирането чрез активиране на TGF- β , MAPK, NF- κ B и др. и ускоряващи преминаването към систолна дисфункция и клинично изявена СН [20, 91].

Развитието на СН значително влошава прогноза-та при пациентите с тензионно обременяване, като при болните със симптоматичната аортна клапна стеноза средната преживяемост е под 5 год. [100].

Миокардна исхемия

Намаленият коронарен кръвоток е причина за недостиг на кислород и енергия в кардиомиоцитите. Това е свързано с намалено образуване на АТФ при аеробния метаболизъм. Липсата на достатъчно енергийни субстрати нарушава активността на йонните помпи, вкл. SERCA2a (sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase 2a) и Na⁺/K⁺-АТФаза, което е причина за вътреклетъчен калциев дисбаланс със съответните последици.

При миокарден инфаркт некрозата на кардиомиоцитите води до загуба на контрактилен миокард. Това е пряка причина за влошаване на систолната функция, като камерното ремоделиране от своя страна допълнително задълбочава систолната дисфункция [35]. Освен това са налице и зони на исхемия без некроза. При миокардна исхемия се развиват промени като митохондриална дисфункция, повишено образуване на ROS и промяна на калциевата динамика, водещи до понижаване на контрактилитета. Допълнителен механизъм е хибернираният миокард при хронично понижена перфузия – състояние на метаболитна адаптация с нарушено митохондриално дишане и забавено изчерпване на АТФ с последващо потискане на контрактилитета с резултат запазване на клетъчната жизнеспособност, но за сметка на ефективността на помпената функция [60]. Налице е взаимодействие между тези процеси – остра загуба на тъкан, хронични структурни и функционални нарушения и метаболитна адаптация. В крайна сметка се достига до прогресивно влошаване на систолната функция на лявата камера.

Възпаление

Имунният отговор при миокардит води до инфилтрация от лимфоцити и макрофаги, освобождаване на цитокини (напр. TNF- α) и директно увреждане на кардиомиоцитите. Резултатът е клетъчна некроза, апоптоза и загуба на миокард. В някои случаи възпалителната реакция протича с т.нар. цитокинова буря, допълнително увреждаща миокарда и водеща до прогресия на заболяването. В допълнение, при възпаление е налице активиране на фибробластите и секреция на компоненти на ЕСМ (колаген I/III), както и образуване на цитокини и матриксни металопроотеинази, което е причина за раз-

enhancing fibrosis and remodeling through activation of TGF- β , MAPK, NF- κ B, etc. and accelerating the transition to systolic dysfunction and clinically manifest HF [20, 91].

The development of heart failure significantly worsens the prognosis in patients with pressure overload, and in patients with symptomatic aortic valve stenosis, the mean survival is less than 5 years [100].

Myocardial ischemia

Reduced coronary blood flow causes a lack of oxygen and energy in cardiomyocytes. This is associated with decreased ATP formation in aerobic metabolism. The lack of sufficient energy substrates disturbs the activity of ion pumps, including SERCA2a and Na⁺/K⁺-ATPase, which causes an intracellular calcium imbalance.

In myocardial infarction, cardiomyocyte necrosis leads to loss of contractile myocardium. This is a direct cause of deterioration of systolic function, with ventricular remodeling, in turn, further worsening systolic dysfunction [35]. In addition, there are also areas of ischemia without necrosis. In myocardial ischemia, changes such as mitochondrial dysfunction, increased ROS formation and altered calcium dynamics develop, leading to a decrease in contractility. An additional mechanism is the hibernated myocardium in chronically reduced perfusion – a state of metabolic adaptation with impaired mitochondrial respiration and delayed ATP depletion with subsequent suppression of contractility, with the result – preservation of cell viability, but at the expense of the efficiency of the pumping function [60]. There is an interaction between these processes – acute tissue loss, chronic structural and functional disorders, and metabolic adaptation. Ultimately, this leads to a progressive deterioration of left ventricular systolic function.

Inflammation

The immune response in myocarditis results in lymphocyte and macrophage infiltration, cytokine release (e.g., TNF- α), and direct cardiomyocyte damage. The result is cell necrosis, apoptosis, and loss of myocardium. In some cases, the inflammatory response develops with the so-called “cytokine storm,” further damaging the myocardium and leading to disease progression. In addition, inflammation involves activation of fibroblasts and secretion of ECM components (collagen I/III), as well as the production of cytokines and matrix metalloproteinases, which causes destruction

рушаване на нормалния екстрацелуларен матрикс, развитие на фиброза и патологично ремоделиране на миокарда [26, 79]. При част от пациентите възпалението е самоограничаващо се, но при други преминава в хронична фаза и води до прогресираща систолна дисфункция, като по такъв начин миокардитът е едновременно и остър, и хроничен етиологичен фактор за СН [128].

Оксидативен стрес и митохондриална дисфункция

Образуването на реактивни кислородни видове (ROS) е универсален механизъм за увреждане на миокарда. ROS въздействат върху липидите в клетъчните мембрани, модифицират белтъци и увреждат митохондриалната ДНК. Нарушава се електронотранспортната верига и продукцията на АТФ. Повишеният оксидативен стрес е съпроводен с изчерпване на антиоксидантните ензими и други молекули, регулиращи редокс-баланса [37]. По данни на Tsutsui и сътр. оксидативният стрес при СН се дължи основно на увеличено образуване на реактивни кислородни видове (ROS), а не толкова на отслабването на антиоксидантната защита в сърцето [129]. Увредените и неадекватно функциониращи митохондрии произвеждат големи количества ROS, които се натрупват в клетката и задълбочават увреждането на миокарда. Митохондриалната дисфункция води до калциево обременяване и активиране на проапоптозни сигнали [37]. Митохондриалните нарушения с нарушено производство на енергия и изчерпване на енергийните запаси, натрупване на Ca^{2+} , образуване на ROS и нарушено вътреклетъчно предаване на сигнали са свързани със сърдечна дисфункция в хода на развитието на редица сърдечни заболявания. Всичко това намалява енергийния резерв на клетките и ограничава способността им да генерират адекватна контрактилна сила. При хронични заболявания това е един от водещите механизми за прогресията към систолна дисфункция.

Заболявания с инфилтрация и натрупване в миокарда

Към тази група спадат заболявания, при които в миокарда се отлагат абнормни белтъци, липиди или въглехидрати, водещи до структурни и функционални нарушения в него.

Амилоидозата е класически пример за заболяване, при което абнормни белтъци се отлагат в интерстициума на миокарда [43]. Натрупването на амилоид между миоцитите води до повишаване на ригидността на миокарда и до постепенно нарушаване на камерното пълнене и контрактилитета. Тези промени са съпроводени от компресия и значителна редукция на лумена на интрамуралните съдове,

of the normal extracellular matrix, development of fibrosis, and pathological remodeling of the myocardium [26,79]. In some patients, the inflammation is self-limiting, but in others it progresses to a chronic phase and leads to progressive systolic dysfunction, thus making myocarditis both an acute and chronic etiological factor for heart failure [128].

Oxidative stress and mitochondrial dysfunction

The formation of reactive oxygen species (ROS) is a common mechanism of myocardial damage. ROS affect lipids in cell membranes, modify proteins, and damage mitochondrial DNA. The electron transport chain and ATP production are disturbed. Increased oxidative stress is accompanied by depletion of antioxidant enzymes and other molecules regulating redox balance [37]. According to Tsutsui et al., oxidative stress in heart failure is mainly due to increased formation of ROS, rather than to impaired antioxidant defense [129]. Damaged and inadequately functioning mitochondria produce large amounts of ROS, which accumulate in the cell and exacerbate myocardial damage. Mitochondrial dysfunction leads to calcium overload and activation of signals inducing apoptosis [37]. Mitochondrial disorders with impaired energy production and depletion of energy stores, Ca^{2+} accumulation, formation of reactive oxygen species, and impaired intracellular signaling are associated with cardiac dysfunction in the course of the development of a number of heart diseases. All of this reduces the energy reserve of cells and limits their ability to generate adequate contractile force. In chronic diseases, this is one of the leading mechanisms for the progression of systolic dysfunction.

Diseases with infiltration and depositions in the myocardium

This group includes diseases in which abnormal proteins, lipids or carbohydrates are deposited in the myocardium, leading to structural and functional disorders in the myocardium.

Amyloidosis is a classic example of a disease where abnormal proteins are deposited in the myocardial interstitium [43]. The accumulation of amyloid fibrils between myocytes leads to an increase in myocardial stiffness, and a gradual worsening of ventricular filling and contractility. These changes are accompanied by compression and a significant reduction of the lumen of intramural vessels, as well

както и намаляване на плътността на капиллярите [24]. Това води до влошаване на перфузията, което допълнително нарушава енергийния метаболизъм на кардиомиоцитите.

Подобни ефекти се наблюдават и при други болести с натрупване, например при болестта на Фабри (X-свързано лизозомно заболяване с дефицит на алфа-галактозидаза [6]), при която в лизозомите на кардиомиоцитите се натрупват сфинголипиди (основно globotriaosylceramide, Gb3), като следствието е лизозомна дисфункция, възпаление, оксидативен стрес [40]. Развиват се хипертрофия на миоцитите, нарушение на калциевата хомеостаза, апоптоза, некроза и фиброза [6].

При гликоgenoзи (напр. болест на Помпе) прекомерното лизозомно натрупване на гликоген в миокарда води до дезорганизация на саркомерите, хипертрофия, смущения в контрактилния апарат и прогресираща СН [84].

Ренин-ангиотензин-алдостеронова система

Хронично повишената активност на RAAS е характерна за редица сърдечносъдови заболявания и е един от основните механизми в прогресията на СН [48, 66]. Ангиотензин II стимулира хипертрофията и фиброзата чрез MAPK и TGF- β сигнални каскади, което води до ремоделиране на миокарда. Алдостеронът увеличава кръстосаното свързване на коллагена чрез LOX [106, 112]. В резултат на тези ефекти настъпват структурни промени, повлияващи неблагоприятно съкратимостта на миокарда. Освен това RAAS усилва оксидативния стрес и възпалителните процеси, увреждащи кардиомиоцитите и нарушаващи контрактилитета. Продължителното активиране на системата води до прогресираща систолна дисфункция, като блокирането ѝ (ACE инхибитори, ARB, минералокортикоидни антагонисти) е основен терапевтичен подход при пациентите със СН [66].

Хронична β -адренергична активация

При хронична СН се установяват повишени плазмени нива на катехоламините, следствие от персистираща симпатикоадренергична активация. В началните стадии това активира β -адренергичните рецептори в кардиомиоцитите, като увеличава цикличния АМФ, активира протеинкиназа А (PKA) и повишава контрактилитета чрез фосфорилиране на калциеви каналчета, фосфоламбан и тропонин I. Хроничната стимулация обаче води до намаляване на чувствителността и броя на β -рецепторите чрез механизми, включващи β -адренорецепторна киназа (β ARK) и интернализиране на рецепторите [74, 131, 132]. Това потиска отговора на миокарда към симпатиковите стимули. Намалената чувствителност и инхибирането на β -адренергичните рецептори могат

as by a decrease in capillary density [24]. This results in reduced perfusion that further disturbs cardiomyocyte energy metabolism.

Similar effects occur in other storage diseases, for example Fabry disease (X-linked lysosomal disorder due to α -galactosidase deficiency [6]), in which sphingolipids (mainly globotriaosylceramide, Gb3) accumulate in cardiomyocyte lysosomes, leading to lysosomal dysfunction, inflammation, and oxidative stress [40]. Myocyte hypertrophy, calcium homeostasis disorder, apoptosis, necrosis, and fibrosis develop [6].

In glycogenoses (e.g., Pompe disease), excessive lysosomal glycogen storage in the myocardium causes sarcomere disorganization, hypertrophy, disturbances in the contractile apparatus, and progressive HF [84].

Renin–angiotensin–aldosterone system

Chronically increased RAAS activity is found in a number of cardiovascular diseases and is one of the primary mechanisms in heart failure progression [48,66]. Angiotensin II stimulates hypertrophy and fibrosis via MAPK and TGF- β cascades, leading to myocardial remodeling. Aldosterone increases collagen cross-linking via LOX [106, 112]. These effects lead to structural changes that adversely affect myocardial contractility. In addition, the RAAS enhances oxidative stress and inflammatory processes that damage cardiomyocytes and impair contractility. Prolonged activation of this system leads to progressive systolic dysfunction, and its blockade (ACE inhibitors, ARBs, mineralocorticoid antagonists) is the main therapeutic approach in patients with heart failure [66].

Chronic β -adrenergic activation

In chronic heart failure, elevated plasma levels of catecholamines are found, as a consequence of persistent sympathoadrenergic activation. In the initial stages, this activates β -adrenergic receptors in cardiomyocytes, increasing cyclic AMP, activating protein kinase A (PKA), and increasing contractility by phosphorylation of calcium channels, phospholamban, and troponin I. Chronic stimulation, however, leads to a decrease in the sensitivity and number of β -receptors through mechanisms involving β -adrenergic receptor kinase (β ARK) and receptor internalization [74, 131, 132]. This inhibits the myocardial response to sympathetic stimuli. Beta-adrenergic receptor desensitization or down-regulation can be considered an adaptive pro-

да се разглеждат като адаптивен процес (действащ като β -адренергична блокада), предпазващ увреденото сърце от развитие на летални камерни аритмии при условия на повишена симпатикусова активност и повишени нива на катехоламините при СН [80]. Успоредно с това се наблюдават изчерпване на енергийните резерви, нарушена митохондриална функция и натрупване на Ca^{2+} в цитозола.

Важен компонент е активирането на Ca^{2+} /калмодулин-зависимата протеинкиназа II (CaMKII), която фосфорилира рианодиновите рецептори (RyR2) и калциевите каналчета, причина за спонтанен диастолен ефлукс на Ca^{2+} и повишен риск от развитие на ритъмни нарушения [130, 133, 138]. Хронично повишената β -адренергична активност също така води до активиране на пътища на апоптоза и некроза, допринасяйки за прогресивна загуба на функциониращи кардиомиоцити. Крайният резултат е постепенна редуция на контрактилната функция и развитие на изразена систолна дисфункция.

Ендокринни заболявания/нарушения

Хипо- и хипертиреозидизъм

Тиреоидните хормони регулират експресията на ключови сърдечни гени и повлияват инотропията, луситропията, сърдечната честота и периферната хемодинамика. Т3 индуцира транскрипцията на α -MHC и SERCA2a, докато потиска β -MHC, което е свързано с повишаване на контрактилната кинетика и релаксацията [32, 55, 139]. При хипертиреозидизъм сърцето функционира в условия на хиперметаболизъм, като са налице тахикардия, повишен контрактилитет, увеличен минутен обем, повишена кислородната консумация и риск от ритъмни нарушения [1, 90]. Хронично повишените тиреоидни хормони усилват оксидативния стрес (увеличено генериране на ROS и/или изчерпване на антиоксидантната защита), което води до митохондриално увреждане, Ca^{2+} -дисрегулация и електрическа нестабилност [42, 87].

При хипотиреозидизъм се установяват намалена експресия/активност на SERCA2a и изместване на миозиновия изоензимен профил към β -MHC (по-бавна изоформа), редуцирана β -адренергична чувствителност, намалена луситропия и понижаване на контрактилитета [32, 55, 59, 139]. Паралелно се развиват интерстициални промени (натрупване на гликозаминогликани и колаген), увеличена ригидност и нарушение както на диастолната, така и систолната функция [30, 41].

И при двата типа нарушение на тиреоидната функция комбинацията от генно препрограмизиране на контрактилния апарат, митохондриална дисфункция, ROS-медирано увреждане и ремоделиране на ECM води до структурно и функционално

process (acting as β -adrenergic blockade) that protects the damaged heart from developing lethal ventricular arrhythmias under conditions of increased sympathetic activity and elevated catecholamine levels in heart failure [80]. Depletion of energy reserves, impaired mitochondrial function, and accumulation of Ca^{2+} in the cytosol are also observed.

An important component is the activation of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII), which phosphorylates ryanodine receptors (RyR2) and calcium channels, causing spontaneous diastolic Ca^{2+} efflux and an increased risk of developing rhythm disorders [130, 133, 138]. Chronically elevated β -adrenergic activity also leads to activation of apoptosis and necrosis pathways, contributing to the progressive loss of functioning cardiomyocytes. The result is a gradual reduction in contractile function and the development of marked systolic dysfunction.

Endocrine diseases/disorders

Hypo- and hyperthyroidism

Thyroid hormones regulate the expression of key cardiac genes and influence inotropy, lusitropy, heart rate, and peripheral hemodynamics. T3 induces transcription of α -MHC and SERCA2a, and inhibits β -MHC, changes associated with enhanced contractile kinetics and relaxation [32, 55, 139]. In hyperthyroidism, the heart operates under hypermetabolic conditions with tachycardia, increased contractility and cardiac output, higher oxygen consumption, and increased risk of arrhythmias [1, 90]. Chronically increased thyroid hormones intensify oxidative stress (greater ROS generation and/or antioxidant depletion), leading to mitochondrial injury, Ca^{2+} dysregulation, and electrical instability [42, 87].

In hypothyroidism, SERCA2a expression/activity is reduced and the myosin isoenzyme profile shifts toward β -MHC (the slower isoform), β -adrenergic sensitivity is reduced, lusitropy is impaired, and contractility is decreased [32, 55, 59, 139]. In parallel, interstitial changes develop (accumulation of glycosaminoglycans and collagen), with increased rigidity, and impairment of both diastolic and systolic function [30, 41].

In both types of thyroid dysfunction, the combination of genetic reprogramming of the contractile apparatus, mitochondrial dysfunction, ROS-mediated damage, and ECM remodeling leads to structural and

ремоделиране на миокарда със склонност към развитие на систолна дисфункция и СН [87, 90, 143].

Захарен диабет

Диабетната кардиомиопатия представлява структурно и функционално увреждане на миокарда при лица с диабет (без връзка с коронарна болест или хипертония). При нея е възможно наличие както на систолна, така и на диастолна дисфункция [11]. Хроничната хипергликемия и натрупването на мастни киселини (с тяхната липотоксичност) водят до образуване на AGE (advanced glycation end products) и реактивни кислородни видове. Тези фактори, заедно с митохондриалната дисфункция, са причина за увреждане на сърдечния мускул и допринасят за патологично ремоделиране и фиброза [51, 109, 125]. Освен това, при захарен диабет SERCA2a е намалена или функционално потисната, което се отразява негативно върху калциевата регулация, релаксацията и контрактилната функция [146].

Акромегалия

Акромегалията е причина за развитие на концентрична хипертрофия на миокарда, която с времето може да прогресира до камерна дилатация, интерстициална фиброза и понижен контрактилитет [116]. Развитието на сърдечното засягане преминава през: (1) активен хиперкинетичен стадий, (2) стадий на хипертрофия и ремоделиране с интерстициална фиброза и (3) терминална фаза с дилатация на камерите, изразена систолна и диастолна дисфункция и застойна сърдечна недостатъчност. Неконтролираният GH/IGF-1 статус при акромегалия е свързан с повишен риск от аритмии, сърдечна недостатъчност и ранна смърт, макар че клинично изявената систолна дисфункция е сравнително рядка [29].

Феохромоцитом

Феохромоцитомът, чрез хроничната секреция на катехоламини, води до токсично увреждане на миокарда, което може да се изяви като обратима Takotsubo-подобна кардиомиопатия при остро въздействие (отзвучаваща след отстраняване на тумора) [67, 123, 141]. При продължителна експозиция ефектите включват митохондриално увреждане, калциев дисбаланс и активиране на апоптозата, допринасящо за развитието на фиброза и прогресираща систолна дисфункция [44, 67, 111, 123].

Хиперкортицизъм

Хиперкортицизмът може да бъде причина за концентрична ЛК хипертрофия и нарушена диастолна и систолна функция, често показващи подобрене след терапия [27]. С течение на времето в миокарда се развиват интерстициална фиброза и

functional remodeling of the myocardium with a tendency to develop systolic dysfunction and heart failure [87, 90, 143].

Diabetes mellitus

Diabetic cardiomyopathy is a structural and functional myocardial disease in people with diabetes (not caused by coronary artery disease or hypertension). It may present with systolic and diastolic dysfunction [11]. Chronic hyperglycemia and fatty acid accumulation (with their lipotoxicity) lead to the formation of AGEs (advanced glycation end products) and reactive oxygen species. These factors, together with mitochondrial dysfunction, are responsible for cardiac muscle damage and contribute to pathological remodeling and fibrosis [51, 109, 125, 146]. Furthermore, in diabetes SERCA2a is reduced or functionally suppressed, which negatively affects calcium regulation, relaxation, and contractile function [146].

Acromegaly

Acromegaly causes concentric myocardial hypertrophy that may progress to ventricular dilatation, interstitial fibrosis, and reduced contractility [116]. Cardiac involvement evolves through: (1) an active hyperkinetic stage, (2) a stage of hypertrophy and remodeling with interstitial fibrosis, and (3) a terminal phase with chamber dilatation, marked systolic and diastolic dysfunction, and congestive HF. In acromegaly, uncontrolled GH/IGF-1 status is associated with increased arrhythmia, HF, and premature death risk, although overt systolic dysfunction is relatively uncommon [29].

Pheochromocytoma

Pheochromocytoma, via chronic catecholamine secretion, causes toxic myocardial injury that may present as a reversible Takotsubo-like cardiomyopathy with acute exposure (resolving after tumor removal) [67, 123, 141]. In cases with prolonged exposure, effects include mitochondrial damage, calcium imbalance, and apoptosis, contributing to fibrosis and progressive systolic dysfunction [44, 67, 111, 123].

Hypercortisolism

Hypercortisolism can cause concentric LV hypertrophy and impaired diastolic and systolic function, often improving after treatment [27]. Over time, interstitial

миофибрилолиза, а сигналният път на атрогин-1 активира протеолиза [45]. Кортизолът предизвиква кардиомиоцитна хипертрофия чрез взаимодействие с глюкокортикоидния рецептор [70].

Хипогонадизъм

Хипогонадизмът и ниските нива на тестостерон при мъжете също се свързват с повишен риск от развитие на сърдечна недостатъчност [5]. Пониженото ниво на андрогените води до намалена експресия на калциевите каналчета, както и до повишен оксидативен стрес и загуба на мускулна маса – състояния, които компрометират миокардния контрактилитет и адаптацията към натоварване [39].

Хиперпаратиреоидизъм

При хиперпаратиреоидизъм повишените нива на паратиреоидния хормон (PTH) предизвикват калциево обременяване на кардиомиоцитите [19,46]. Това води до митохондриална дисфункция, активиране на сигнали за апоптоза и повишена склонност към ритъмни нарушения, като хроничната форма се свързва с развитие на левокамерна хипертрофия, интерстициални промени и постепенно влошаване на систолната функция [19, 121].

Нарушена автофагия

Автофагията е критичен процес за поддържане на клетъчната хомеостаза чрез разрушаване на увредени органели и протеини. Прекомерната или недостатъчната автофагия нарушава енергийния баланс и води до натрупване на токсични агрегати, което е причина за клетъчна смърт и ускорява прогресията към контрактилна дисфункция [52, 56, 77].

Микроваскуларна дисфункция и ендотелна сигнализация

Нарушеният ендотелен контрол върху вазодилатацията и ангиогенезата води до микроваскуларно обусловена исхемия, въпреки запазените епикардни коронарни артерии. Дефицитът на азотен оксид и повишената продукция на ендотелин-1 са причина за влошаване на миокардната перфузия и повишаване на следнатоварването [7]. Повишените нива на ET-1 не само предизвикват директна вазоконстрикция, но и потискат ендотелната NO синтаза (eNOS) (чрез PKC-зависим механизъм), намалявайки продукцията на азотен оксид [15]. Ендотелин-1 (ET-1) повишава и продукцията на супероксидни аниони (чрез NADPH оксидаза/PKC) [94].

КЛЕТЪЧНИ И МОЛЕКУЛНИ МЕХАНИЗМИ

Дефекти в SERCA2a

SERCA2a е основният транспортер, въвеждащ Ca^{2+} в саркоплазмения ретикулум по време на ре-

fibrosis and myofibrillolysis develop, and the atrogen-1 pathway activates proteolysis [45]. Cortisol induces cardiomyocyte hypertrophy via the glucocorticoid receptor [70].

Hypogonadism

Hypogonadism and low testosterone in men were also associated with a higher risk of HF [5]. Reduced androgen levels decrease the expression of calcium channels and increase oxidative stress while promoting muscle mass loss – conditions that compromise myocardial contractility and adaptation to workload [39].

Hyperparathyroidism

In hyperparathyroidism, elevated parathyroid hormone (PTH) causes cardiomyocyte calcium overload [19,46]. This leads to mitochondrial dysfunction, activation of apoptotic signals, and a higher probability of arrhythmias (chronic disease is associated with LV hypertrophy, interstitial changes, and gradual worsening of systolic function) [19, 121].

Impaired autophagy

Autophagy is critical for cellular homeostasis by degrading damaged organelles and proteins. Excessive or insufficient autophagy disturbs energy balance and leads to accumulation of toxic aggregates, causing cell death and accelerating progression to contractile dysfunction [52, 56, 77].

Microvascular dysfunction and endothelial signaling

Impaired endothelial control of vasodilation and angiogenesis leads to microvascular ischemia despite preserved epicardial coronary arteries. Deficiency of nitric oxide and increased production of endothelin-1 lead to worsening of myocardial perfusion and an increase in afterload [7]. Elevated ET-1 levels not only induce direct vasoconstriction but also suppress eNOS (via a PKC-dependent mechanism), thereby reducing nitric oxide production [15]. ET-1 also increases the production of superoxide anions (through NADPH oxidase/PKC) [94].

CELLULAR AND MOLECULAR MECHANISMS

SERCA2a defects

SERCA2a is the primary transporter responsible for moving Ca^{2+} into the sarcoplasmic reticulum

лаксията. В човешкия миокард този механизъм осигурява около 70% от реабсорбцията на калциеве йони в саркоплазмения ретикулум по време на диастола [71,104]. При понижена активност на SERCA2a калциевите йони се задържат в цитозола и не могат да бъдат използвани оптимално при следващото съкращение. Това повишение на цитоплазменото Ca^{2+} ниво води както до диастолна дисфункция, така и до потискане на съкратимостта на кардиомиоцитите. Нарушението може да се дължи на посттранслационни модификации, оксидативен стрес или понижена генна експресия [9]. Възстановяването на функцията на SERCA2a е потенциален терапевтичен таргет за лечение на сърдечната недостатъчност (генна терапия, фармакологични активатори) (фиг. 2).

Дисфункция на $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник (NCX) регулира калциевия баланс, като обикновено извежда Ca^{2+} от клетката. В патологични условия той може да работи в обратен режим и да въвежда Ca^{2+} в цитозола с резултат – калциево обременяване на клетките [99,101]. Дисфункцията на NCX е особено изразена при исхемия, сърдечна недостатъчност и нарушен електролитен баланс [89, 118].

Патологичен ефлукс на Ca^{2+} през RyR2

Рианодиновите рецептори освобождават Ca^{2+} от саркоплазмения ретикулум по време на процеса на възбуждение и съкращение – т. нар. калций-зависимо калциево освобождаване. При патологични състояния (фосфорилиране от CaMKII, окисление от ROS) те стават „пропускливи“ и позволяват неконтролиран ефлукс на Ca^{2+} от саркоплазмения ретикулум [17, 130]. Това изчерпва вътреклетъчните запаси и потиска съкращението. Успоредно с това повишеното цитозолно Ca^{2+} ниво повишава риска от поява на ритъмни нарушения [12]. Дисфункцията на RyR2 е ключова връзка между молекулните механизми и клинично изявената систолна недостатъчност.

Променено фосфорилиране на титина

Титинът е гигантски еластичен протеин, регулиращ пасивната ригидност на миокарда. Фосфорилирането му от PKA/PKG понижава ригидността, докато хипофосфорилирането я повишава [75]. Оксидативни модификации също могат да увредят титина и да повлияят силата на съкращението [75]. По такъв начин, титинът е молекулна връзка между метаболитни, сигнални и механични фактори, имащи отношение към силата на миокардното съкращение.

during relaxation. In the human myocardium, this mechanism accounts for approximately 70% of calcium ion reuptake into the sarcoplasmic reticulum during diastole [71,104]. With reduced SERCA2a activity, calcium ions are retained in the cytosol and cannot be used optimally in the next contraction. This increase in the cytoplasmic Ca^{2+} level leads to both diastolic dysfunction and depression of cardiomyocyte contractility. The disorder may be due to post-translational modifications, oxidative stress or decreased gene expression [9]. SERCA2a function restoration is a potential therapeutic target in the treatment of heart failure (e.g. gene therapy, pharmacological activators) (Fig. 2).

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger dysfunction

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX) regulates calcium balance, generally associated with Ca^{2+} extrusion out of the cell. Under pathological conditions, it can operate in reverse mode, importing Ca^{2+} into the cytosol and producing calcium overload [99, 101]. NCX dysfunction is particularly prominent in ischemia, HF, and electrolyte imbalance [89, 118].

Abnormal Ca^{2+} efflux through RyR2

Ryanodine receptors release Ca^{2+} from the sarcoplasmic reticulum during the process of excitation-contraction coupling, the so-called calcium-dependent calcium release. Under pathological conditions (phosphorylation by CaMKII, oxidation by ROS), they become 'leaky' and allow uncontrolled efflux of Ca^{2+} from the sarcoplasmic reticulum [17, 130]. This depletes intracellular stores and inhibits myocyte contraction. At the same time, the increased cytosolic Ca^{2+} level raises the risk of arrhythmias [12]. RyR2 dysfunction is a key link between molecular mechanisms and clinically manifested systolic heart failure.

Altered titin phosphorylation

Titin is a giant elastic protein that regulates the passive stiffness of the myocardium. Its phosphorylation by PKA/PKG decreases stiffness, whereas hypophosphorylation has an opposite effect [75]. Oxidative modifications may also damage titin and affect contractile force [75]. Thus, titin represents a molecular link

Промяна в миофиламентите и Ca^{2+} чувствителност

При посттранслационни модификации (фосфорилиране, окисление, протеолиза) протеините, изграждащи миофиламентите, като тропонин I/T и миозин-свързващия протеин C, търпят изменения във функцията си [14, 22, 81, 83, 108]. Нарушената регулация на взаимодействието актин–миозин и променената чувствителност към Ca^{2+} водят до намаляване на силата на съкращението и нарушаване на процеса на релаксация.

Дисфункция на убиквитин–протеазомната система

Убиквитин–протеазомната система (UPS) е основният механизъм за разрушаване на увредени и патологично нагънати протеини в кардиомиоцитите. При сърдечна недостатъчност се установява намалена протеазомна активност, което води до натрупване на нефункционални протеини, нарушаващи организацията на саркомерите и сигналните пътища [34, 50, 102].

МикроРНК и епигенетична регулация

МикроРНК (miRNA) и епигенетични модификации (метиране на ДНК, хистонни промени) регулират експресията на гени, свързани с калциевото предаване на сигнали, митохондриалната функция и структурните протеини [31, 78, 117]. Нарушената им регулация води до ремоделиране на миокарда, хипертрофия и фиброза.

Стрес на саркоплазмения ретикулум и UPR

Претоварването на саркоплазмения ретикулум с неправилно нагънати протеини активира UPR (unfolded protein response), чиято цел е възстановяване на протеостазата. Хроничното активиране на UPR обаче преминава в проапоптозна програма с участието на CHOP и каспаза-12, което води до загуба на кардиомиоцити и влошаване на контрактилитета [86, 124, 137].

Дисфункция на междуклетъчните връзки (gap junctions и десмосоми)

Цепковидните контакти (gap junctions) осигуряват електрическата проводимост, докато десмосомите поддържат механичната свързаност между миоцитите. Дефектите или ремоделирането на тези структури нарушават синхронността на съкращението и предразполагат към аритмии и нарушение на помпената функция [54, 58, 140].

between metabolic, signaling, and mechanical factors related to myocardial contractile strength.

Myofilament alterations and Ca^{2+} sensitivity

Post-translational modifications (phosphorylation, oxidation, proteolysis) of myofilament proteins such as troponin I/T and myosin-binding protein C alter their function [14, 22, 81, 83, 108]. Disturbed regulation of actin–myosin interaction and altered Ca^{2+} sensitivity reduce force generation and impair relaxation.

Ubiquitin–proteasome system dysfunction

The ubiquitin–proteasome system (UPS) is the main pathway for degrading damaged and misfolded proteins in cardiomyocytes. In HF, proteasome activity is reduced, leading to accumulation of nonfunctional proteins that disrupt sarcomere organization and signaling pathways [34, 50, 102].

MicroRNAs and epigenetic regulation

MicroRNAs (miRNAs) and epigenetic modifications (DNA methylation, histone changes) regulate the expression of genes related to calcium signaling, mitochondrial function, and structural proteins [31, 78, 117]. Their dysregulation drives myocardial remodeling, hypertrophy, and fibrosis.

Sarcoplasmic reticulum stress and UPR

Overloading the SR with misfolded proteins activates the UPR (unfolded protein response) to restore proteostasis. Chronic UPR activation, however, shifts to a pro-apoptotic program involving CHOP and caspase-12, leading to cardiomyocyte loss and impaired contractility [86, 124, 137].

Dysfunction of intercellular connections (gap junctions and desmosomes)

Gap junctions provide electrical coupling between myocardial cells, and desmosomes ensure a mechanical link. Defects or remodeling of these structures negatively affect the synchrony of contraction and predispose to arrhythmias and pump dysfunction [54, 58, 140].

ТЕРАПЕВТИЧНИ ТАРГЕТИ ПРИ СН, СВЪРЗАНИ С МОЛЕКУЛНИТЕ И КЛЕТЪЧНИ МЕХАНИЗМИ НА МИОКАРДНОТО СЪКРАЩЕНИЕ И РЕЛАКСАЦИЯ

Натриево-калиева АТФаза. Na^+/K^+ АТФаза (фиг. 2) е ензим, локализиран в клетъчната мембрана, транспортиращ Na^+ и K^+ срещу концентрационния им градиент [4]. За всяка консумирана молекула АТФ тя извежда 3 Na^+ йона извън клетката и въвежда 2 K^+ йона в нея, като по такъв начин допринася за отрицателния потенциал на покой в сърдечните клетки [97]. Повишаването на вътреклетъчната концентрация на Na^+ йони при потискането ѝ, от своя страна, води до размяна на Na^+ срещу Ca^{2+} посредством $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник (в съотношение 3:1) и съответно увеличаване на количеството на Ca^{2+} в клетката. Резултатът е положителен инотропен ефект. Освен своето помпено действие, Na^+/K^+ АТФаза взаимодейства със съседни протеини, което има за резултат активиране на клетъчни сигнални пътища, регулиращи клетъчния растеж [4].

Калциева сенситизация. Лекарствените средства калциеви сенситизатори увеличават чувствителността на контрактилните протеини към Ca^{2+} , без това да е свързано със значимо повишение на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [76]. Основни представители на тази група медикаменти са Levosimendan и Pimobendan. **Levosimendan** се свързва с тропонин С (фиг. 2), повишава чувствителността му към Ca^{2+} и повишава миокардния контрактилитет [105, 120]. Друг механизъм на действие на Levosimendan е отваряне на АТФ-зависимите K^+ канали на клетъчната мембрана на съдовите гладкомускулни клетки, ефлукс на K^+ извън клетката, хиперполяризация и релаксация на клетките с резултат – вазодилатация [21, 73, 144]. **Pimobendan** е калциев сенситизатор, свързващ се с тропонин С, както и инхибитор на фосфодиестераза III (инодилатор като Levosimendan), използван основно във ветеринарната медицина [18].

Образуване на актомиозиновите мостчета. Създаден е нов клас медикаменти – миозинови активатори, пряко подобряващи функцията на саркомерите и съответно миокардния контрактилитет чрез повлияване образуването на напречни мостчета между актина и миозина [69]. Първият медикамент от този клас е **Omecamtiv mecarbil**. Посредством своето действие той увеличава продължителността на систолното изтласкване, като в същото време не повишава кислородната консумация на миокарда [69]. Според резултатите от проучването COSMIC-HF (Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure) приложението на Omecamtiv mecarbil в продължение на 20 седмици е довело до удължаване на вре-

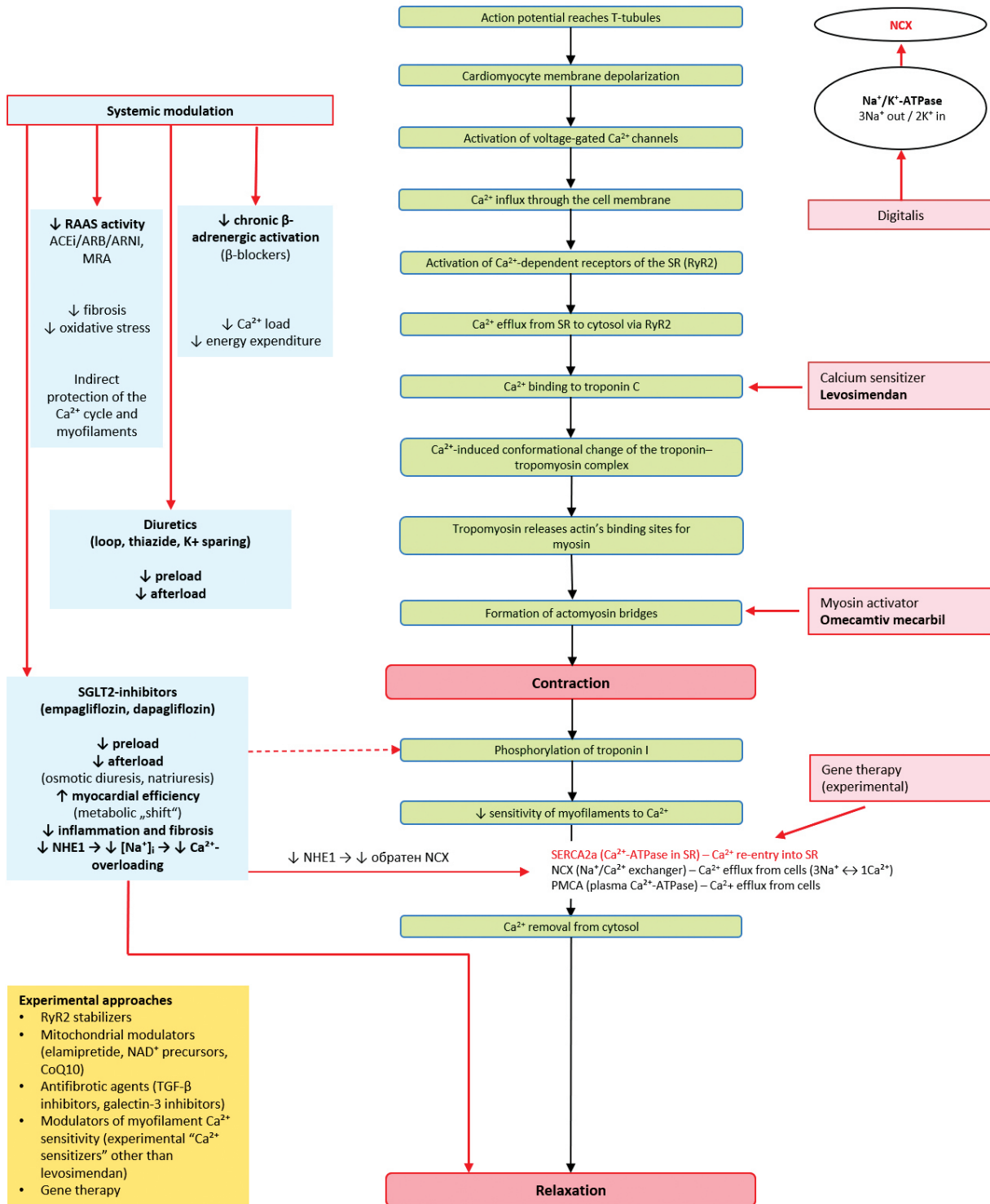
THERAPEUTIC TARGETS IN HF RELATED TO MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS OF MYOCARDIAL CONTRACTION AND RELAXATION

Sodium-potassium ATPase. Na^+/K^+ -ATPase (Figure 2) is an enzyme localized in the cell membrane that transports Na^+ and K^+ against their concentration gradients [4]. For each ATP molecule consumed, it removes 3 Na^+ ions from the cell and introduces 2 K^+ ions, thereby contributing to the negative resting membrane potential of cardiac cells [97]. The increase in the intracellular concentration of Na^+ ions in enzyme inhibition, in turn, leads to the exchange of Na^+ for Ca^{2+} through the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (in a ratio of 3:1) and, accordingly, to an increase in the amount of Ca^{2+} in the cell. The result is a positive inotropic effect. In addition to its pumping action, Na^+/K^+ -ATPase interacts with neighbouring proteins, resulting in activation of cell signaling pathways that regulate cell growth [4].

Calcium sensitization. Calcium-sensitizing drugs increase the sensitivity of contractile proteins to Ca^{2+} without a significant increase in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [76]. The main representatives of this group of drugs are levosimendan and pimobendan. **Levosimendan** binds to troponin C (Figure 2), increases its sensitivity to Ca^{2+} , and increases myocardial contractility [105, 120]. Another mechanism of action of levosimendan is the opening of ATP-dependent K^+ channels of the cell membrane of vascular smooth muscle cells, efflux of K^+ outside the cell, hyperpolarization and relaxation of the cells leading to vasodilation [21, 73, 144]. **Pimobendan** is a calcium sensitizer that binds to troponin C, as well as a phosphodiesterase III inhibitor (inodilator drug like levosimendan), used mainly in veterinary medicine [18].

Formation of actomyosin cross-bridges. A new class of drugs has been created – myosin activators, directly improving the function of sarcomeres and, accordingly, myocardial contractility by influencing the formation of cross-bridges between actin and myosin [69]. The first drug in this class is **omecmtiv mecarbil**. Through its action, it increases the duration of systolic ejection, while at the same time not increasing myocardial oxygen consumption [69]. In the COSMIC-HF study (Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure), the admin-

Therapeutic targets in the treatment of heart failure



Фиг. 2. Терапевтични таргети при лечението на сърдечната недостатъчност // Fig. 2. Therapeutic targets in the treatment of heart failure

мето на изтласкване с 25 ms, увеличаване на ударния обем с 3.6 ml, намаляване на левокамерния телесистолен диаметър с 1.8 mm и теледиастолния диаметър с 1.3 mm, понижаване на сърдечната честота с 3 удара/min, както и понижаване на нивото на

istration of omecamtiv mecarbil for 20 weeks led to a prolongation of ejection time by 25 ms, an increase in stroke volume by 3.6 ml, a decrease in left ventricular end-systolic diameter by 1.8 mm and end-diastolic diameter by 1.3 mm, a decrease in heart rate by 3 beats/

NT-proBNP с 970 pg/ml [126]. Според по-късно публикувани данни от това проучване при пациентите с хронична сърдечна недостатъчност Omecamtiv mecarbil повлиява благоприятно и левокамерната миокардна деформация [13].

Отстраняване на Ca^{2+} йони от цитозола (обратно поемане на Ca^{2+} в SR, Ca^{2+} ефлукс извън клетката) от значение за релаксацията на кардиомиоцита.

- **Инхибиране на NHE1 (Na^+/H^+ обменник 1)**, извеждащ H^+ въвеждащ Na^+ в клетката. Потискането на NHE1 има за резултат намаляване на активността на обратния режим на NCX – режим, причина за калциево обременяване на клетките [3]. Следствието от потискането на NHE1 и NCX е подобряване на диастолната функция, намаляване на склонността към развитие на ритъмни нарушения и редукция на свързаната с исхемия клетъчна смърт. Представители на медикаментите, инхибитори на NHE1, са Cariporide и Eniporide. По данни от проучването EXPEDITION **Cariporide** има кардиопротективен ефект срещу миокарден инфаркт при пациенти, подложени на коронарен байпас [85], но същото проучване показва по-висока честота на инсултите, дължаща се на парадоксален ефект върху тромбоцитната агрегация, с резултат по-висока обща смъртност [25], което е и причина за преждевременно прекратяване на проучването. **Eniporide** е по-ранен NHE1-инхибитор, показващ намалена инфарктна зона при експериментални модели. По данни на Zeumer и сътр. обаче приложението на Eniporide преди реперфузия не води до намаляване на големината на инфаркта, както и не подобрява изхода по отношение на смърт, кардиогенен шок, СН и животозастрашаващи аритмии (проучване ESCAMI, фаза 2) [147]. В същото време се установява понижаване на честотата на сърдечната недостатъчност при пациентите с по-късно начало на реперфузионната терапия (> 4 час) [147].

- **Подобряване на обратното поемане на Ca^{2+} в SR посредством SERCA2a.** Логиката за повлияване на SERCA2a при лечението на СН е в това, че при СН нейната активност е понижена, което е свързано както с намален контрактилитет, така и с диастолна дисфункция. Опитвано е въвеждане на нормални копия на SERCA2a гена с използване на аденоасоцииран вирус (AAV1) (проучване CUPID) [65]. Първоначалните данни от проучването са обнадеждаващи, но по-късно то е прекратено във фаза 2b поради липса на значим благоприятен ефект от тази терапия в сравнение с плацебо [53].

- **Потискане на $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник (NCX).** Както беше посочено по-горе, при хронична сърдечна недостатъчност активността NCX в обратен режим е повишена вследствие потискането на SERCA2a и активирането на NHE1 със съответните негативни

min, as well as a reduction of the level of NT-proBNP by 970 pg/ml [126]. According to later published data from this study in patients with chronic heart failure, omecamtiv mecarbil also has a beneficial effect on left ventricular myocardial deformation [13].

Removal of Ca^{2+} ions from the cytosol (reuptake of Ca^{2+} into the SR, Ca^{2+} efflux out of the cell), which is important for cardiomyocyte relaxation.

- **Inhibition of NHE1 (Na^+/H^+ exchanger 1)**, which removes H^+ and introduces Na^+ into the cell. Suppression of NHE1 reduces the activity of the reverse mode of NCX – a mechanism that causes calcium overload in cells [3]. The consequence of the suppression of NHE1 and NCX is an improvement in diastolic function, a decrease in the tendency to develop rhythm disorders, and a reduction in ischemia-related cell death. Representatives of the NHE1 inhibitor drugs include cariporide and eniporide. According to data from the EXPEDITION study, **Cariporide** has a cardioprotective effect against myocardial infarction in patients undergoing coronary bypass grafting [85], but the same study showed a higher incidence of stroke due to a paradoxical effect on platelet aggregation, resulting in higher overall mortality [25], which was also the reason for premature termination of the study. **Eniporide** is an earlier NHE1 inhibitor that showed reduced infarct area in experimental models. According to data from Zeumer et al., however, the administration of eniporide before reperfusion did not reduce infarct size, nor did it improve the outcome in terms of death, cardiogenic shock, heart failure, or life-threatening arrhythmias (ESCAMI study, phase 2) [147]. At the same time, a decrease in the incidence of heart failure was observed in patients with a later start of reperfusion therapy (> 4 hours) [147].

- **Improvement of Ca^{2+} reuptake in SR by SERCA2a.** The logic for targeting SERCA2a in the treatment of heart failure (HF) is that in HF its activity is reduced, which is associated with both reduced contractility and diastolic dysfunction. Gene transfer of SERCA2a using adeno-associated virus (AAV1) has been attempted (CUPID study) [65]. Initial survey data were encouraging, but the study was terminated in phase 2b due to a lack of a significant beneficial effect of this therapy compared to placebo [53].

- **Inhibition of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX).** As mentioned above, in chronic heart failure, NCX activity in the reverse mode is increased due to the suppression of SERCA2a and the activation of NHE1,

ефекти върху миокардната функция. В момента разработването на инхибитори на NCX (SEA-0400, SN-6, ORM-10103 и ORM-10962 и др.) е на експериментален етап [68, 72, 113, 136]. Засега няма одобрени за клинично приложение NCX-инхибитори. Според Sipido и сътр. фармакологичното блокиране на NCX при СН може да бъде от полза, но най-вероятно в специфични ситуации, като част от комбиниран подход [119]. Генетичният подход за инхибиране на NCX включва т.нар. antisense олигонуклеотиди (ASO) [103] и РНК интерференция (RNAi) [61].

• **Потискане на Ca²⁺ АТФаза на плазмалемата 4 (PMCA4).** Инхибирането ѝ редуцира калциевия ефлукс от клетките. При тензионно обременяване потискането на PMCA4 предотвратява хроничното ремоделиране и развитието на СН чрез медирано от фибробластите модулиране на Wnt сигналния път [122]. Инхибирането ѝ обаче не повлиява дългосрочния изход след миокарден инфаркт [122]. Към момента няма одобрени лекарствени средства, селективно потискащи PMCA4 при хора.

• **Други експериментални подходи.** Те включват разработването и/или оценката на терапевтичната ефективност и безопасност на RyR2 стабилизатори [2, 110], митохондриални модулатори (elamipretide [33], NAD⁺ прекурсори [36], коензим Q10 [142]), антифиброзни средства (TGF-β инхибитори [93], галектин-3 инхибитори [145]) и др.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Левокамерната систолна дисфункция е резултат от сложни и взаимосвързани процеси, включващи хемодинамични, метаболитни, възпалителни, неврохормонални и молекулни механизми. Обемното и тензионното обременяване, исхемията, възпалителните процеси, ендокринните нарушения и неврохормоналната активация водят до структурно и функционално ремоделиране на миокарда. На клетъчно и молекулно ниво калциевата дисрегулация, митохондриалната дисфункция, оксидативният стрес, натрупванията, нарушената автофагия и дефектите в сигналните пътища предизвикват прогресивна загуба на контрактилна способност. Фокусът върху молекулните механизми на калциевата дисрегулация и контрактилната дисфункция е съществен елемент в разработването на нови видове лечение на СН.

Не е деклариран конфликт на интереси

Библиография/References

1. Ahmad M, Reddy S, Barkhane Z, Elmadi J, Satish Kumar L, Pugalenth LS. Hyperthyroidism and the Risk of Cardiac Arrhythmias: A Narrative Review. *Cureus* 2022;14:e24378
2. Andersson DC, Marks AR. Fixing ryanodine receptor Ca leak – a novel therapeutic strategy for contractile failure

leading to adverse effects on myocardial function. Currently, the development of NCX inhibitors (SEA-0400, SN-6, ORM-10103, and ORM-10962, etc.) is at the experimental stage [68, 72, 113, 136]. There are currently no NCX inhibitors approved for clinical use. According to Sipido et al., pharmacological blockade of NCX in HF may be beneficial, but most likely in specific situations and as a part of a combination strategy [119]. Genetic approaches to inhibit NCX include antisense oligonucleotides (ASOs) [103] and RNA interference (RNAi) [61].

• **Inhibition of plasmalemma Ca²⁺ ATPase 4 (PMCA4).** Its inhibition reduces calcium efflux from the cells. In pressure overload, inhibition of PMCA4 prevents chronic remodeling and development of HF through fibroblast-mediated modulation of Wnt signaling [122]. However, its inhibition does not affect long-term outcome after myocardial infarction [122]. There are currently no approved drugs that selectively inhibit PMCA4 in humans.

• **Other experimental approaches.** These include the development or evaluation of the therapeutic efficacy and safety of RyR2 stabilizers [2,110], mitochondrial modulators (elamipretide [33], NAD⁺ precursors [36], coenzyme Q10 [142]), antifibrotic agents (TGF-β inhibitors [93], galectin-3 inhibitors [145]), etc.

CONCLUSION

Left ventricular systolic dysfunction results from complex, interconnected processes including hemodynamic, metabolic, inflammatory, neurohormonal, and molecular mechanisms. Volume and pressure overload, ischemia, inflammatory processes, endocrine disorders, and neurohumoral activation lead to structural and functional myocardial remodeling. At the cellular and molecular levels, calcium dysregulation, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, depositions, impaired autophagy, and defects in signaling pathways cause progressive loss of contractile capacity. Focusing on the molecular mechanisms of calcium dysregulation and contractile dysfunction is an essential element in the development of new treatments for heart failure.

No conflict of interest was declared

in heart and skeletal muscle. *Drug Discov Today Dis Mech* 2010;7:e151-e157

3. Anzawa R, Seki S, Nagoshi T et al. The role of Na⁺/H⁺ exchanger in Ca²⁺ overload and ischemic myocardial damage in hearts from type 2 diabetic db/db mice. *Cardiovasc Diabetol* 2012;11:33

4. Askari A. The sodium pump and digitalis drugs: Dogmas and fallacies. *Pharmacology Research & Perspectives* 2019;7:e00505.
5. Ayaz O, Howlett SE. Testosterone modulates cardiac contraction and calcium homeostasis: cellular and molecular mechanisms. *Biology of Sex Differences* 2015;6:9.
6. Azevedo O, Cordeiro F, Gago MF et al. Fabry Disease and the Heart: A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci* 2021;22.
7. Baaten C, Vondenhoff S, Noels H. Endothelial Cell Dysfunction and Increased Cardiovascular Risk in Patients With Chronic Kidney Disease. *Circ Res* 2023;132:970-992.
8. Bakogiannis C, Theofilogiannakos E, Papadopoulos C et al. A translational approach to the renin-angiotensin-aldosterone system in heart failure. *Annals of Research Hospitals* 2019;3.
9. Balderas-Villalobos J, Molina-Muñoz T, Mailloux-Salinas P et al. Oxidative stress in cardiomyocytes contributes to decreased SERCA2a activity in rats with metabolic syndrome. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2013;305:H1344-H1353.
10. Bansode OM, Miao JH, Sarao MS. *Physiology, Anrep Effect*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Copyright © 2025, StatPearls Publishing LLC., 2025.
11. Battiprolu PK, Gillette TG, Wang ZV, et al. Diabetic Cardiomyopathy: Mechanisms and Therapeutic Targets. *Drug Discov Today Dis Mech* 2010;7:e135-e143.
12. Belevych AE, Radwański PB, Carnes CA, Györke S. 'Ryanopathy': causes and manifestations of RyR2 dysfunction in heart failure. *Cardiovascular Research* 2013;98:240-247.
13. Biering-Sørensen T, Minamisawa M, Claggett B et al. Cardiac Myosin Activator Omecamtiv Mecarbil Improves Left Ventricular Myocardial Deformation in Chronic Heart Failure. *Circulation: Heart Failure* 2020;13:e008007.
14. Bodor GS, Oakeley AE, Allen PD et al. Troponin I Phosphorylation in the Normal and Failing Adult Human Heart. *Circulation* 1997;96:1495-1500.
15. Böhm F, Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovascular Research* 2007;76:8-18.
16. Bombardini T, Zoppè M, Ciampi Q et al. Myocardial contractility in the stress echo lab: from pathophysiological toy to clinical tool. *Cardiovasc Ultrasound* 2013;11:41.
17. Bovo E, Mazurek SR, Zima AV. The role of RyR2 oxidation in the blunted frequency-dependent facilitation of Ca(2+) transient amplitude in rabbit failing myocytes. *Pflugers Arch* 2018;470:959-968.
18. Boyle K, Leech E. A review of the pharmacology and clinical uses of pimobendan. *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex: 2001)* 2012;22:398-408.
19. Brown SJ, Ruppe MD, Tabatabai LS. The Parathyroid Gland and Heart Disease. *Methodist Debakey Cardiovasc J* 2017;13:49-54.
20. Burchfield JS, Xie M, Hill JA. Pathological Ventricular Remodeling. *Circulation* 2013;128:388-400.
21. Burkhoff D, Rich S, Pollesello P, Papp Z. Levosimendan-induced venodilation is mediated by opening of potassium channels. *ESC Heart Fail* 2021;8:4454-4464.
22. Canton M, Menazza S, Sheeran FL et al. Oxidation of Myofibrillar Proteins in Human Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2011;57:300-309.
23. Caturano A, Vetrano E, Galiero R et al. Cardiac Hypertrophy: From Pathophysiological Mechanisms to Heart Failure Development. *Rev Cardiovasc Med* 2022;23:165.
24. Chacko L, Kotecha T, Ioannou A et al. Myocardial perfusion in cardiac amyloidosis. *Eur J Heart Fail* 2024;26:598-609.
25. Chang HB, Gao X, Nepomuceno R, Hu S, Sun D. Na⁺/H⁺ exchanger in the regulation of platelet activation and paradoxical effects of cariporide. *Experimental Neurology* 2015;272:11-16.
26. Chen R, Zhang H, Tang B et al. Macrophages in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2024;9:130.
27. Clayton RN. Cardiovascular complications of Cushing's syndrome: Impact on morbidity and mortality. *J Neuroendocrinol* 2022;34:e13175.
28. Cohen L, Sagi I, Bigelman E et al. Cardiac remodeling secondary to chronic volume overload is attenuated by a novel MMP9/2 blocking antibody. *PLoS One* 2020;15:e0231202.
29. Colao A, Grasso LFS, Di Somma C, Pivonello R. Acromegaly and Heart Failure. *Heart Fail Clin* 2019;15:399-408.
30. Corona G, Croce L, Sparano C et al. Thyroid and heart, a clinically relevant relationship. *J Endocrinol Invest* 2021;44:2535-2544.
31. D'Amato A, Prosperi S, Severino P et al. MicroRNA and Heart Failure: A Novel Promising Diagnostic and Therapeutic Tool. *J Clin Med* 2024;13.
32. Danzi S, Klein I. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *Minerva Endocrinol* 2004;29:139-150.
33. Daubert MA, Yow E, Dunn G et al. Novel Mitochondria-Targeting Peptide in Heart Failure Treatment. *Circulation: Heart Failure* 2017;10:e004389.
34. Day SM, Divald A, Wang P et al. Impaired Assembly and Post-translational Regulation of 26S Proteasome in Human End-Stage Heart Failure. *Circulation: Heart Failure* 2013;6:544-549.
35. Del Buono MG, Moroni F, Montone RA et al. Ischemic Cardiomyopathy and Heart Failure After Acute Myocardial Infarction. *Curr Cardiol Rep* 2022;24:1505-1515.
36. Deng H, Ding D, Ma Y et al. Nicotinamide Mononucleotide: Research Process in Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci* 2024;25.
37. Dhalla NS, Ostadal P, Tappia PS. Involvement of Oxidative Stress in Mitochondrial Abnormalities During the Development of Heart Disease. *Biomedicines* 2025;13:1338.
38. Díaz RG, Pérez NG, Morgan PE et al. Myocardial mineralocorticoid receptor activation by stretching and its functional consequences. *Hypertension* 2014;63:112-118.
39. do Val Lima PR, Ronconi KS, Morra EA et al. Testosterone deficiency impairs cardiac inter-fibrillar mitochondrial function and myocardial contractility while inducing oxidative stress. *Frontiers in Endocrinology* 2023;Volume 14 - 2023.
40. Dougherty S, Germain DP, Oudit GY et al. Cardiac manifestations of Fabry disease. *npj Cardiovascular Health* 2025;2:40.
41. Drobnik J, Ciosek J, Slotwinska D et al. Experimental hypothyroidism increases content of collagen and glycosaminoglycans in the heart. *J Physiol Pharmacol* 2009;60:57-62.
42. Elnakish MT, Ahmed AA, Mohler PJ, Janssen PM. Role of Oxidative Stress in Thyroid Hormone-Induced Cardiomyocyte Hypertrophy and Associated Cardiac Dysfunction: An Undisclosed Story. *Oxid Med Cell Longev* 2015;2015:854265.
43. Falk RH, Alexander KM, Liao R, Dorbala S. AL (Light-Chain) Cardiac Amyloidosis: A Review of Diagnosis and Therapy. *Journal of the American College of Cardiology* 2016;68:1323-1341.
44. Ferreira VM, Marcelino M, Piechnik SK et al. Pheochromocytoma Is Characterized by Catecholamine-Mediated Myocarditis, Focal and Diffuse Myocardial Fibrosis, and Myocardial Dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology* 2016;67:2364-2374.
45. Frustaci A, Letizia C, Verardo R et al. Cushing Syndrome Cardiomyopathy. *Circulation: Cardiovascular Imaging* 2016;9:e004569.
46. Fujii H. Association between Parathyroid Hormone and Cardiovascular Disease. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2018;22:236-241.
47. Fukuda N, Granzier H, Ishiwata S, Morimoto S. Editorial: Recent Advances on Myocardium Physiology, Volume II. *Front Physiol* 2023;14:1170396.
48. Fyhrquist F, Saijonmaa O. Renin-angiotensin system revisited. *J Intern Med* 2008;264:224-36.

49. Giannino G, Braia V, Griffith Brookles C et al. The Intrinsic Cardiac Nervous System: From Pathophysiology to Therapeutic Implications. *Biology* 2024;13:105.
50. Gilda JE, Gomes AV. Proteasome dysfunction in cardiomyopathies. *J Physiol* 2017;595:4051-4071.
51. Gollmer J, Zirlik A, Bugger H. Established and Emerging Mechanisms of Diabetic Cardiomyopathy. *J Lipid Atheroscler* 2019;8:26-47.
52. Gottlieb RA, Mentzer RM. Autophagy: an affair of the heart. *Heart Failure Reviews* 2013;18:575-584.
53. Greenberg B, Butler J, Felker GM et al. Calcium upregulation by percutaneous administration of gene therapy in patients with cardiac disease (CUPID 2): a randomised, multinational, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet* 2016;387:1178-86.
54. Guo YH, Yang YQ. Atrial Fibrillation: Focus on Myocardial Connexins and Gap Junctions. *Biology (Basel)* 2022;11.
55. Gustafson TA, Bahl JJ, Markham BE, Roeske WR, Morkin E. Hormonal regulation of myosin heavy chain and alpha-actin gene expression in cultured fetal rat heart myocytes. *J Biol Chem* 1987;262:13316-13322.
56. Gustafsson AB, Gottlieb RA. Eat your heart out: Role of autophagy in myocardial ischemia/reperfusion. *Autophagy* 2008;4:416-21.
57. Hartupée J, Mann DL. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nat Rev Cardiol* 2017;14:30-38.
58. Higo S. Disease modeling of desmosome-related cardiomyopathy using induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *World J Stem Cells* 2023;15:71-82.
59. Hoit BD, Khoury SF, Shao Y, Gabel M, Liggett SB, Walsh RA. Effects of thyroid hormone on cardiac beta-adrenergic responsiveness in conscious baboons. *Circulation* 1997;96:592-8.
60. Hu Q, Suzuki G, Young RF, Page BJ, Fallavollita JA, Carty JM, Jr. Reductions in mitochondrial O₂ consumption and preservation of high-energy phosphate levels after simulated ischemia in chronic hibernating myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:H223-H232.
61. Hurtado C, Wigle JT, Dibrov E, Maddaford TG, Pierce GN. A comparison of adenovirally delivered molecular methods to inhibit Na⁺/Ca²⁺ exchange. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2007;43:49-53.
62. Ivanov A. [Heart failure.] In: Petrova D (Ed.), A. Ivanov (Exec. Ed.). *Propedeutics of internal diseases Patient review and examination*. Sofia: Medical University - Sofia, Central Medical Library, 2020:237-259.
63. Ivanov A. [Valvular Heart Disease.] Sofia: Medical University - Sofia, Central Medical Library, 2012.
64. Ivanov A, Levunlieva E. [Congenital heart malformations.] In: Grigorov M, editor *Cardiology* 2024. Sofia: Medical University - Sofia, Central Medical Library, 2024:574-615.
65. Jessup M, Greenberg B, Mancini D et al. Calcium Upregulation by Percutaneous Administration of Gene Therapy in Cardiac Disease (CUPID): a phase 2 trial of intracoronary gene therapy of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in patients with advanced heart failure. *Circulation* 2011;124:304-13.
66. Jia G, Aroor AR, Hill MA, Sowers JR. Role of Renin-Angiotensin-Aldosterone System Activation in Promoting Cardiovascular Fibrosis and Stiffness. *Hypertension* 2018;72:537-548.
67. Jiang X, Zhang W, Fang Q. Pheochromocytoma-related cardiomyopathy presenting as acute myocardial infarction: A case report. *Medicine (Baltimore)* 2021;100:e24984.
68. Jost N, Nagy N, Corici C et al. ORM-10103, a novel specific inhibitor of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger, decreases early and delayed afterdepolarizations in the canine heart. *Br J Pharmacol* 2013;170:768-78.
69. Kallash M, Frishman WH, Aronow WS. Omecamtiv mecarbil, a cardiac myosin activator with potential efficacy in heart failure. *Arch Med Sci Atheroscler Dis* 2025;10:e43-e47.
70. Kanzaki A, Kadoya M, Katayama S, Koyama H. Cardiac Hypertrophy and Related Dysfunctions in Cushing Syndrome Patients-Literature Review. *J Clin Med* 2022;11.
71. Kho C. Targeting calcium regulators as therapy for heart failure: focus on the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase pump. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 2023;Volume 10 - 2023.
72. Kohajda Z, Tóth N, Szlovák J et al. Novel Na⁽⁺⁾/Ca⁽²⁺⁾ Exchanger Inhibitor ORM-10962 Supports Coupled Function of Funny-Current and Na⁽⁺⁾/Ca⁽²⁺⁾ Exchanger in Pacemaking of Rabbit Sinus Node Tissue. *Front Pharmacol* 2019;10:1632.
73. Kopustinskiene DM, Pollesello P, Saris NE. Levosimendan is a mitochondrial K(ATP) channel opener. *Eur J Pharmacol* 2001;428:311-4.
74. Krasel C, Bünemann M, Lorenz K, Lohse MJ. Beta-arrestin binding to the beta2-adrenergic receptor requires both receptor phosphorylation and receptor activation. *J Biol Chem* 2005;280:9528-35.
75. Krüger M, Kötter S, Grützner A et al. Protein kinase G modulates human myocardial passive stiffness by phosphorylation of the titin springs. *Circ Res* 2009;104:87-94.
76. Lehmann A, Boldt J, Kirchner J. The role of Ca⁺⁺-sensitizers for the treatment of heart failure. *Curr Opin Crit Care* 2003;9:337-344.
77. Li L, Xi R, Gao B et al. Research progress of autophagy in heart failure. *Am J Transl Res* 2024;16:1991-2000.
78. Liu C-F, Tang WHW. Epigenetics in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *JACC: Basic to Translational Science* 2019;4:976-993.
79. Liu K, Han B. Role of immune cells in the pathogenesis of myocarditis. *Journal of Leukocyte Biology* 2023;115:253-275.
80. Mahmood A, Ahmed K, Zhang Y. β-Adrenergic Receptor Desensitization/Down-Regulation in Heart Failure: A Friend or Foe? *Front Cardiovasc Med* 2022;9:925692.
81. Marston SB, de Tombe PP. Troponin phosphorylation and myofilament Ca²⁺-sensitivity in heart failure: increased or decreased? *J Mol Cell Cardiol* 2008;45:603-7.
82. Martin PJ, Levy JR, Wexberg S, Levy MN. Phasic effects of repetitive vagal stimulation on atrial contraction. *Circ Res* 1983;52:657-663.
83. McConnell BK, Moravec CS, Bond M. Troponin I phosphorylation and myofilament calcium sensitivity during decompensated cardiac hypertrophy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 1998;274:H385-H396.
84. Meena NK, Raben N. Pompe Disease: New Developments in an Old Lysosomal Storage Disorder. *Biomolecules* 2020;10.
85. Mentzer RM, Jr., Bartels C, Bolli R et al. Sodium-hydrogen exchange inhibition by cariporide to reduce the risk of ischemic cardiac events in patients undergoing coronary artery bypass grafting: results of the EXPEDITION study. *Ann Thorac Surg* 2008;85:1261-70.
86. Minamino T, Komuro I, Kitakaze M. Endoplasmic Reticulum Stress As a Therapeutic Target in Cardiovascular Disease. *Circulation Research* 2010;107:1071-1082.
87. Mishra P, Samanta L. Oxidative stress and heart failure in altered thyroid States. *ScientificWorldJournal* 2012;2012:741861.
88. Muir WW, Hamlin RL. Myocardial Contractility: Historical and Contemporary Considerations. *Front Physiol* 2020;11:222.
89. Nagy N, Tóth N, Nánási PP. Antiarrhythmic and Inotropic Effects of Selective Na⁽⁺⁾/Ca⁽²⁺⁾ Exchanger Inhibition: What Can We Learn from the Pharmacological Studies? *Int J Mol Sci* 2022;23.
90. Navarro-Navajas A, Cruz JD, Ariza-Ordoñez N et al. Cardiac manifestations in hyperthyroidism. *Rev Cardiovasc Med* 2022;23:136.
91. Nemtsova V, Vischer AS, Burkard T. Hypertensive Heart Disease: A Narrative Review Series – Part 1: Pathophysiology and Microstructural Changes. *Journal of Clinical Medicine* 2023;12:2606.
92. Orzechowski M, Raunser S, Fischer S, Lehman W. Tropomyosin Movement on F-actin Analyzed by Energy Landscape Determination. *Biophysical Journal* 2012;102:17a.

93. Parichatikanond W, Luangmonkong T, Mangmool S, Kurose H. Therapeutic Targets for the Treatment of Cardiac Fibrosis and Cancer: Focusing on TGF- β Signaling. *Front Cardiovasc Med* 2020;7:34.
94. Pernow J, Shemyakin A, Böhm F. New perspectives on endothelin-1 in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Life Sciences* 2012;91:507-516.
95. Petrov I, Polomski P. [Specificities of Coronary Physiology in Aortic Valve Diseases. In: Gacov PM, editor *Coronary Physiology and Myocardial Ischemia.*] Sofia: Medical University – Sofia, Central Medical Library, 2021:84-94.
96. Petrov I, Polomski P, Stankov Z. [Hemodynamics in mitral regurgitation – before and after correction with MitraClip.] *Bulgarian Cardiology* 2021;27.
97. Pirahanchi Y, Jessu R, Aeddula NR. *Physiology, Sodium Potassium Pump.* StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025.
98. Pitoulis FG, Terracciano CM. Heart Plasticity in Response to Pressure- and Volume-Overload: A Review of Findings in Compensated and Decompensated Phenotypes. *Front Physiol* 2020;11:92.
99. Pogwizd SM. Increased Na⁺-Ca²⁺ Exchanger in the Failing Heart. *Circulation Research* 2000;87:641-643.
100. Polomski P, Stankov Z, Petrov I, Tasheva I, Dobrev G. Balloon aortic valvuloplasty in degenerative aortic stenosis. *Bulgarian Cardiology* 2022;28.
101. Pott C, Eckardt L, Goldhaber JI. Triple threat: the Na⁺/Ca²⁺ exchanger in the pathophysiology of cardiac arrhythmia, ischemia and heart failure. *Curr Drug Targets* 2011;12:737-47.
102. Predmore JM, Wang P, Davis F et al. Ubiquitin Proteasome Dysfunction in Human Hypertrophic and Dilated Cardiomyopathies. *Circulation* 2010;121:997-1004.
103. Ranciat-McComb NS, Bland KS, Huschenbett J et al. Antisense oligonucleotide suppression of Na⁺/Ca²⁺ exchanger activity in primary neurons from rat brain. *Neuroscience Letters* 2000;294:13-16.
104. Ren A-J, Wei C, Liu Y-J et al. ZBTB20 Regulates SERCA2a Activity and Myocardial Contractility Through Phospholamban. *Circulation Research* 2024;134:252-265.
105. Robertson IM, Pineda-Sanabria SE, Yan Z et al. Reversible Covalent Binding to Cardiac Troponin C by the Ca²⁺-Sensitizer Levosimendan. *Biochemistry* 2016;55:6032-6045.
106. Rodriguez C, Martínez-González J. The Role of Lysyl Oxidase Enzymes in Cardiac Function and Remodeling. *Cells* 2019;8.
107. Saheera S, Krishnamurthy P. Cardiovascular Changes Associated with Hypertensive Heart Disease and Aging. *Cell Transplant* 2020;29:963689720920830.
108. Salhi HE, Hassel NC, Siddiqui JK et al. Myofilament Calcium Sensitivity: Mechanistic Insight into Tnl Ser-23/24 and Ser-150 Phosphorylation Integration. *Frontiers in Physiology* 2016;Volume 7 - 2016.
109. Salvatore T, Pafundi PC, Galiero R et al. The Diabetic Cardiomyopathy: The Contributing Pathophysiological Mechanisms. *Front Med (Lausanne)* 2021;8:695792.
110. Santonastasi M, Wehrens XHT. Ryanodine receptors as pharmacological targets for heart disease. *Acta Pharmacologica Sinica* 2007;28:937-944.
111. Santos JRU, Brofferio A, Viana B, Pacak K. Catecholamine-Induced Cardiomyopathy in Pheochromocytoma: How to Manage a Rare Complication in a Rare Disease? *Horm Metab Res* 2019;51:458-469.
112. Schimmel K, Ichimura K, Reddy S, Haddad F, Spiekerkoetter E. Cardiac Fibrosis in the Pressure Overloaded Left and Right Ventricle as a Therapeutic Target. *Front Cardiovasc Med* 2022;9:886553.
113. Scognamiglio A, Corvino A, Caliendo G et al. Druggability of Sodium Calcium Exchanger (NCX): Challenges and Recent Development. *Int J Mol Sci* 2025;26.
114. Sequeira V, Maack C, Reil GH, Reil JC. Exploring the Connection Between Relaxed Myosin States and the Anrep Effect. *Circ Res* 2024;134:117-134.
115. Shabani R, Manov E. Modern echocardiography in questions and answers. Part I. Fundamental level. Sofia: CML, MU – Sofia, 2011.
116. Sharma MD, Nguyen AV, Brown S, Robbins RJ. Cardiovascular Disease in Acromegaly. *Methodist DeBakey Cardiovasc J* 2017;13:64-67.
117. Shi Y, Zhang H, Huang S et al. Epigenetic regulation in cardiovascular disease: mechanisms and advances in clinical trials. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022;7:200.
118. Shigekawa M, Iwamoto T. Cardiac Na⁺-Ca²⁺ Exchange. *Circulation Research* 2001;88:864-876.
119. Sipido KR, Volders PG, Vos MA, Verdonck F. Altered Na/Ca exchange activity in cardiac hypertrophy and heart failure: a new target for therapy? *Cardiovasc Res* 2002;53:782-805.
120. Sorsa T, Heikkinen S, Abbott MB et al. Binding of Levosimendan, a Calcium Sensitizer, to Cardiac Troponin C*. *Journal of Biological Chemistry* 2001;276:9337-9343.
121. Spoladore R, Ciampi CM, Ossola P et al. Heart Failure and Osteoporosis: Shared Challenges in the Aging Population. *J Cardiovasc Dev Dis* 2025;12.
122. Stafford N, Zi M, Baudoin F et al. PMCA4 inhibition does not affect cardiac remodelling following myocardial infarction, but may reduce susceptibility to arrhythmia. *Scientific Reports* 2021;11:1518.
123. Szatko A, Glinicki P, Gietka-Czernel M. Pheochromocytoma/paraganglioma-associated cardiomyopathy. *Frontiers in Endocrinology* 2023;Volume 14 - 2023.
124. Szegezdi E, Duffy A, O'Mahoney ME et al. ER stress contributes to ischemia-induced cardiomyocyte apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;349:1406-11.
125. Tan Y, Zhang Z, Zheng C, Wintergerst KA, Keller BB, Cai L. Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence. *Nat Rev Cardiol* 2020;17:585-607.
126. Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJ et al. Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure (COSMIC-HF): a phase 2, pharmacokinetic, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2016;388:2895-2903.
127. Tomov I. [Heart failure.] In: Maleev A, Ivanov S, editors. *Manual of internal medicine.* Sofia: Medicine and Physical Culture, 1986.
128. Tschöpe C, Ammirati E, Bozkurt B et al. Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions. *Nature Reviews Cardiology* 2021;18:169-193.
129. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;301:H2181-H2190.
130. Uchinoumi H, Yang Y, Oda T et al. CaMKII-dependent phosphorylation of RyR2 promotes targetable pathological RyR2 conformational shift. *J Mol Cell Cardiol* 2016;98:62-72.
131. Ungerer M, Böhm M, Elce JS, Erdmann E, Lohse MJ. Altered expression of beta-adrenergic receptor kinase and beta 1-adrenergic receptors in the failing human heart. *Circulation* 1993;87:454-463.
132. Ungerer M, Parruti G, Böhm M et al. Expression of beta-arrestins and beta-adrenergic receptor kinases in the failing human heart. *Circ Res* 1994;74:206-13.
133. van Oort RJ, McCauley MD, Dixit SS et al. Ryanodine receptor phosphorylation by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II promotes life-threatening ventricular arrhythmias in mice with heart failure. *Circulation* 2010;122:2669-79.
134. Vikhorev PG, Vikhoreva NN. Cardiomyopathies and Related Changes in Contractility of Human Heart Muscle. *Int J Mol Sci* 2018;19.

135. Wakabayashi T. Mechanism of the calcium-regulation of muscle contraction--in pursuit of its structural basis. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2015;91:321-350.
136. Wang J, Zhang Z, Hu Y et al. SEA0400, a novel Na⁺/Ca²⁺ exchanger inhibitor, reduces calcium overload induced by ischemia and reperfusion in mouse ventricular myocytes. *Physiol Res* 2007;56:17-23.
137. Wang S, Binder P, Fang Q et al. Endoplasmic reticulum stress in the heart: insights into mechanisms and drug targets. *Br J Pharmacol* 2018;175:1293-1304.
138. Wehrens XH. CaMKII regulation of the cardiac ryanodine receptor and sarcoplasmic reticulum calcium release. *Heart Rhythm* 2011;8:323-325.
139. Wiersinga WM. The role of thyroid hormone nuclear receptors in the heart: evidence from pharmacological approaches. *Heart Fail Rev* 2010;15:121-4.
140. Wit AL, Peters NS. The role of gap junctions in the arrhythmias of ischemia and infarction. *Heart Rhythm* 2012;9:308-311.
141. Wood R, Commerford PJ, Rose AG, Tooke A. Reversible catecholamine-induced cardiomyopathy. *American Heart Journal* 1991;121:610-613.
142. Xu J, Xiang L, Yin X et al. Efficacy and safety of coenzyme Q10 in heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Cardiovascular Disorders* 2024;24:592.
143. Yamakawa H, Kato TS, Noh JY et al. Thyroid Hormone Plays an Important Role in Cardiac Function: From Bench to Bedside. *Front Physiol* 2021;12:606931.
144. Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperelakis N. The Novel Calcium Sensitizer Levosimendan Activates the ATP-Sensitive K⁺ Channel in Rat Ventricular Cells¹. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1997;283:375-383.
145. Yu L, Ruifrok WP, Meissner M et al. Genetic and pharmacological inhibition of galectin-3 prevents cardiac remodeling by interfering with myocardial fibrogenesis. *Circ Heart Fail* 2013;6:107-17.
146. Zarain-Herzberg A, García-Rivas G, Estrada-Avilés R. Regulation of SERCA pumps expression in diabetes. *Cell Calcium* 2014;56:302-310.
147. Zeymer U, Suryapranata H, Monassier JP et al. The Na⁽⁺⁾/H⁽⁺⁾ exchange inhibitor eniporide as an adjunct to early reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Results of the evaluation of the safety and cardioprotective effects of eniporide in acute myocardial infarction (ESCAMI) trial. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1644-50.