



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**ΚΑΡΔΙΟΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗ ΑΝΑΖΩΟΓΟΗΣΗ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΘΕΜΑ**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗΣ-1 ΣΤΗΝ ΑΡΡΥΘΜΙΟΓΕΝΕΣΗ**

**ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ:**

**ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ:**

**ΚΟΥΣΤΑ ΜΑΡΙΑ**

**A.M. 20160188**

**ΑΘΗΝΑ**

**ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2019**

**ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΚΡΙΣΕΩΣ**

**ΤΗΣ ΣΥΝΕΔΡΙΑΣΗΣ ΤΗΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ  
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

**Τ.. Μεταπτυχιακ.. Φοιτητ.. .....**

**Εξεταστική Επιτροπή**

- ....., Επιβλέπων
- .....
- .....

Η Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή η οποία ορίσθηκε απο την ΓΣΕΣ της Ιατρικής Σχολής του Παν. Αθηνών Συνεδρίαση της ...../...../.....για την αξιολόγηση και εξέταση τ... υποψηφίου κ... ....., συνεδρίασε σήμερα .../.../....

Η Επιτροπή **διαπίστωσε** ότι η Διπλωματική Εργασία τ. Κ... ..... με τίτλο .....  
....., είναι πρωτότυπη, επιστημονικά και τεχνικά άρτια και η βιβλιογραφική πληροφορία ολοκληρωμένη και εμπειριστατωμένη.

Η εξεταστική επιτροπή αφού έλαβε υπ' όψιν το περιεχόμενο της εργασίας και τη συμβολή της στην επιστήμη, με ψήφους ..... προτείνει την απονομή στον παραπάνω Μεταπτυχιακό Φοιτητή την απονομή του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης (Master's).

Στην ψηφοφορία για την βαθμολογία ο υποψήφιος έλαβε για τον βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» ψήφους ..... για τον βαθμό «ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ» ψήφους ..... και για τον βαθμό «ΚΑΛΩΣ» ψήφους ..... Κατά συνέπεια, απονέμεται ο βαθμός «.....».

Τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής

- ....., Επιβλέπων (Υπογραφή) \_\_\_\_\_
- ....., (Υπογραφή) \_\_\_\_\_
- ....., (Υπογραφή) \_\_\_\_\_

**Στην οικογένειά μου**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία αποτελεί διπλωματική εργασία στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος «Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση» της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων της παρούσας διπλωματικής εργασίας, αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω ορισμένους από τους ανθρώπους που γνώρισα, συνεργάστηκα μαζί τους και έπαιξαν πολύ σημαντικό ρόλο στην πραγματοποίησή της.

Πρώτο από όλους θέλω να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της παρούσας διπλωματικής εργασίας Καθηγήτρια κ.Κουσκούνη Ε., για την πολύτιμη καθοδήγησή της και την εμπιστοσύνη και εκτίμηση που μου έδειξε. Τις ευχαριστίες μου εκφράζω και στους κ. Ιακωβίδου Ν. και κ. Χαλκιά Α. που δέχτηκαν να είναι μέλη της τριμελούς επιτροπής αξιολόγησης της μεταπτυχιακής εργασίας. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Εκμετζόγλου Κ. για την πολύτιμη βοήθειά του.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να απευθύνω στον Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Κωλέττη Θ. για τη σημαντική έρευνα που έχει διεξάγει πάνω στο θέμα της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς και για την έμπνευση που χαρίζει καθημερινά σε φοιτητές και ειδικευόμενους, με γνώμονα πάντα την αγάπη του για την επιστήμη της Καρδιολογίας.

Ακόμη, θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στη Γραμματέα του Μεταπτυχιακού Προγράμματος κ. Τέσση Ι., καθώς η βοήθειά της ήταν πολύτιμη καθ' όλη τη διάρκεια της φοίτησής μου.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, που με υπομονή και κουράγιο πρόσφεραν την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση για την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρακτικό κρίσιως.....	2
Αφιέρωση.....	3
Ευχαριστίες.....	4
Πρόλογος.....	7
1 <sup>ο</sup> μέρος-Γενικό Μέρος.....	8
1. Ενδοθηλίνη.....	9
1.1 Γενικά για την ενδοθηλίνη.....	9
1.2 Δομή ενδοθηλίνης.....	11
1.3 Γονιδιακή ρύθμιση.....	13
1.4. Μετα-μεταφραστική τροποποίηση.....	16
1.5 Μεταβολισμός της ενδοθηλίνης.....	17
1.6 Υποδοχείς ενδοθηλίνης.....	18
1.6.1 ETA υποδοχείς.....	21
1.6.2 ETB υποδοχείς.....	22
1.7 Φυσιολογικός ρόλος της ενδοθηλίνης.....	24
1.7.1 Ανταγωνιστές της ενδοθηλίνης.....	25
1.7.1.1 Ανταγωνιστές του μετατρεπτικού ενζύμου της ενδοθηλίνης.....	25
1.7.1.2 Ανταγωνιστές των υποδοχέων της ενδοθηλίνης-1.....	26
1.8 Παθοφυσιολογία της ενδοθηλίνης.....	27
1.8.1 Ενδοθηλίνη-1 και Στεφανιαία Νόσος.....	29
1.8.2 Ενδοθηλίνη-1 και Καρδιακή Ανεπάρκεια.....	30
1.8.3 Ενδοθηλίνη-1 και Πνευμονική Κυκλοφορία.....	33
1.8.4 Ενδοθηλίνη-1 και Αρτηριακή Υπέρταση.....	34
1.8.5 Ενδοθηλίνη-1 και Αγγεία.....	34
1.8.6 Ενδοθηλίνη-1 και Αναπνευστικό Σύστημα.....	35
1.8.7 Ενδοθηλίνη-1 και Νεφροί.....	36
1.8.8 Ενδοθηλίνη-1 και Νευρικό Σύστημα.....	37
1.8.9 Ενδοθηλίνη-1 και Ανοσολογικό σύστημα.....	38
1.8.10 Ενδοθηλίνη-1 και Αναπτυξιακές Διαταραχές.....	39

2. Αρρυθμιογένεση μετά από OEM.....	40
2.1 Ιοντικές συγκεντρώσεις.....	40
2.2 Παράγοντες αρρυθμιογένεσης.....	41
2.3 Η διαδικασία της αρρυθμιογένεσης.....	42
2.4 Αυτόνομο νευρικό σύστημα και αρρυθμιογένεση.....	43
<b>2<sup>ο</sup> μέρος-Ειδικό Μέρος.....</b>	<b>46</b>
1.Εισαγωγή.....	47
2.Σκοπός.....	50
3. Υλικό-Μέθοδος.....	51
4.Αποτελέσματα.....	58
5.Συζήτηση.....	71
6.Συμπεράσματα.....	77
<b>Περίληψη.....</b>	<b>78</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>80</b>
Βιβλιογραφία.....	82

## **ΠΡΟΛΟΓΟΣ**

Η Στεφανιαία Νόσος αποτελεί την κυριότερη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας κατά τον 21<sup>ο</sup> αιώνα στις αναπτυγμένες χώρες. Η έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο στην ορθή θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών αυτών. Μελέτες έχουν αποδείξει τον σημαντικό ρόλο της αρρυθμογένεσης κατά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και την αναγκαιότητα ανάπτυξης μηχανισμών για τη σωστή αντιμετώπιση και πρόληψη των κοιλιακών αρρυθμιών, ο οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε αιφνίδιο καρδιακό θάνατο. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως, με βάση πειραματικά μοντέλα, η πλειονότητα των κοιλιακών αρρυθμιών κατά τη φάση της οξείας ισχαιμίας συμβαίνουν κατά την πρώτη ώρα, χρονικό διάστημα που αντιστοιχεί στον χρόνο που ο ασθενής απέχει από την άμεση ιατρική φροντίδα. Σημαντικό ρόλο στην προαναφερθείσα διαδικασία διαδραματίζει η ενδοθηλίνη-1 καθώς οδηγεί άμεσα σε γένεση των κοιλιακών αρρυθμιών, αλλά και έμμεσα μέσω ενεργοποίησης του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Συνεπώς, καθίσταται σαφής η ένδειξη μελέτης και ανάπτυξης των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ενδοθηλίνης-1, με στόχο τη μείωση του αριθμού και της διάρκειας των κοιλιακών ταχυαρρυθμιών, του μεγέθους του εμφράγματος και της θνητότητας.

**1<sup>ο</sup> ΜΕΡΟΣ-**

**ΓΕΝΙΚΟ**

**ΜΕΡΟΣ**



## 1. Ενδοθηλίνη

### 1.1 Γενικά για την ενδοθηλίνη

Η ακριβής διερεύνηση του ρόλου του ενδοθηλίου στη ρύθμιση της δομής και της λειτουργίας των αιμοφόρων αγγείων χρονολογείται από το 1966, όταν ο Florey διατύπωσε την αντίληψη ότι το ενδοθήλιο «ήταν κάτι περισσότερο από ένα εμπύρνηνο περιτύλιγμα». Η ανακάλυψη στα τέλη της δεκαετίας του 1970, ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν και απελευθερώνουν τόσο αγγειοδιασταλτικές (την προστακυκλίνη και το μονοξείδιο του αζώτου, αρχικά αναφερόμενο ως αγγειοδιασταλτικό παράγοντα που προέρχεται από το ενδοθήλιο, EDRF) όσο και αγγειοσυσπαστικές ουσίες εισήγαγε ένα καινούριο μηχανισμό στη ρύθμιση του μυϊκού τόνου των αγγείων και άνοιξε νέα πεδία έρευνας στη βιολογία, την παθοφυσιολογία και την φαρμακολογία των αγγείων (1).

Τα γεγονότα-σταθμοί, που οδήγησαν στην ανακάλυψη του αγγειοσυσταλτικού παράγοντα που προέρχεται από το ενδοθήλιο (EDCF), ξεκίνησαν στα τέλη του 1982, έξι χρόνια μετά την ανακάλυψη της πρώτης αγγειοδραστικής ουσίας, την προστακυκλίνη και δύο χρόνια μετά τη δημοσίευση των Furchgott και Zawadzki ότι η παρουσία του ενδοθηλίου ήταν απαραίτητη για τη διασταλτική δράση της ακετυλοχολίνης. Αυτό το χρονικό διάστημα αποτέλεσε μία από τις πιο παραγωγικές και συναρπαστικές περιόδους στην ιστορία της βιολογίας των αγγείων, καθώς οδήγησε στην ανακάλυψη νέων μηχανισμών υπεύθυνων για τη ρύθμιση της λειτουργίας τους (Πίνακας 1) (1).

Το 1988 δημοσιεύθηκε για πρώτη φορά η χημική δομή ενός ισχυρά αγγειοσυσπαστικού παράγοντα, της ενδοθηλίνης-1 (ET-1), από την ομάδα του Yanagisawa (2).

Δύο χρόνια αργότερα αναγνωρίστηκαν δύο υποδοχείς για την ET-1 και αμέσως μετά η ομάδα του Clozel παρουσίασε τον πρώτο ανταγωνιστή των υποδοχέων

ενδοθηλίνης που χορηγούταν από το στόμα. Η ίδια ερευνητική ομάδα συνέχισε την μελέτη, μέχρι να κυκλοφορήσει τελικά το 2001 ο πρώτος ανταγωνιστής των υποδοχέων της ενδοθηλίνης, το Bosentan. (1)

<b>ΕΤΟΣ</b>	<b>ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ</b>	<b>ΤΙΤΛΟΣ</b>
<b>1982</b>	<i>Agricola και συν.</i>	Στην προσπάθεια βιο-προσδιορισμού του ενδοθηλιακού παράγοντα χάλασης από την καλλιέργεια ενδοθηλιακών κυττάρων ανακαλύφθηκε ο ενδοθηλιακός παράγοντας συστολής
<b>1983</b>	<i>DeMey &amp; Vanhoutte</i>	Πρώτη μελέτη της- εξαρτώμενης από το ενδοθήλιο μέσω υποξίας- αγγειοσύσπασης σε κύνους
<b>1983- 1984</b>	<i>Holden &amp; McCall</i>	Η αγγειοσύσπαση μέσω υποξίας του ενδοθηλίου σε πνευμονικές αρτηρίες χοίρων
<b>1984</b>	<i>Rubanyi &amp; Vanhoutte</i>	Πρώτη απόδειξη ότι μία μεταβιβάσιμη μέσω διάχυσης ουσία (ενδοθηλιακός παράγοντας σύσπασης) διαμεσολαβεί στην αγγειοσύσπαση μέσω υποξίας του ενδοθηλίου σε κύνους
<b>1985</b>	<i>Hickey και συν.</i>	Δημοσίευση για την ανακάλυψη του ενδοθηλιακού παράγοντα σύσπασης

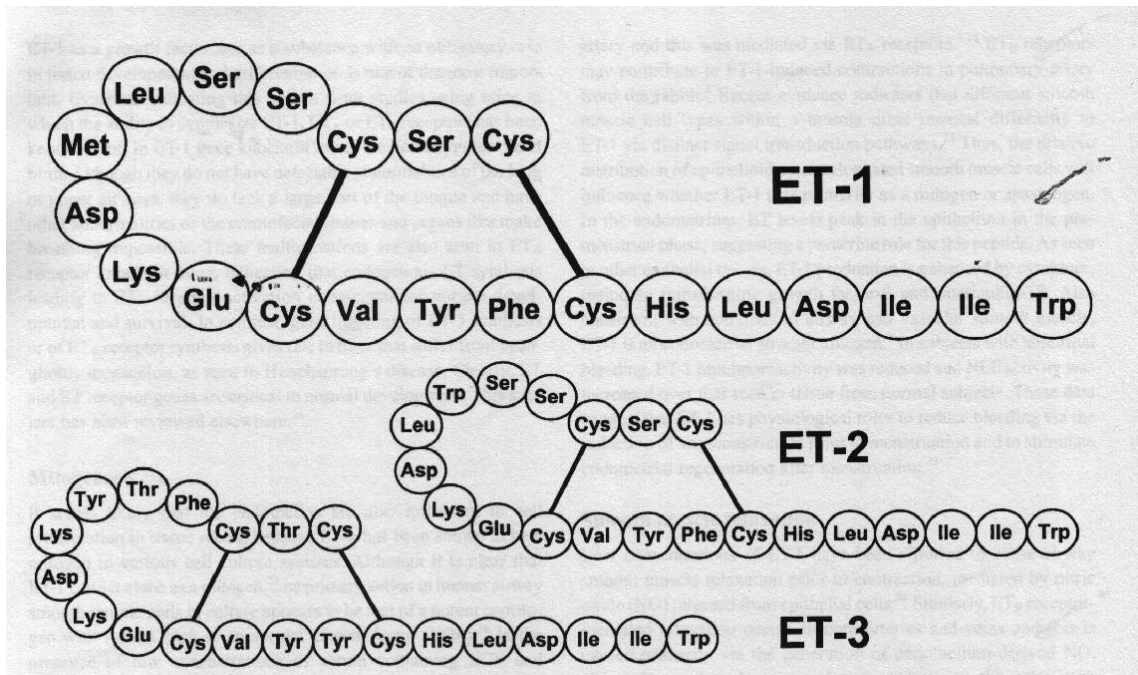
**Πίνακας 1:** Οι πρώτες μελέτες για τον ρόλο του ενδοθηλίου (1-3)

## 1.2 Η δομή της ενδοθηλίνης

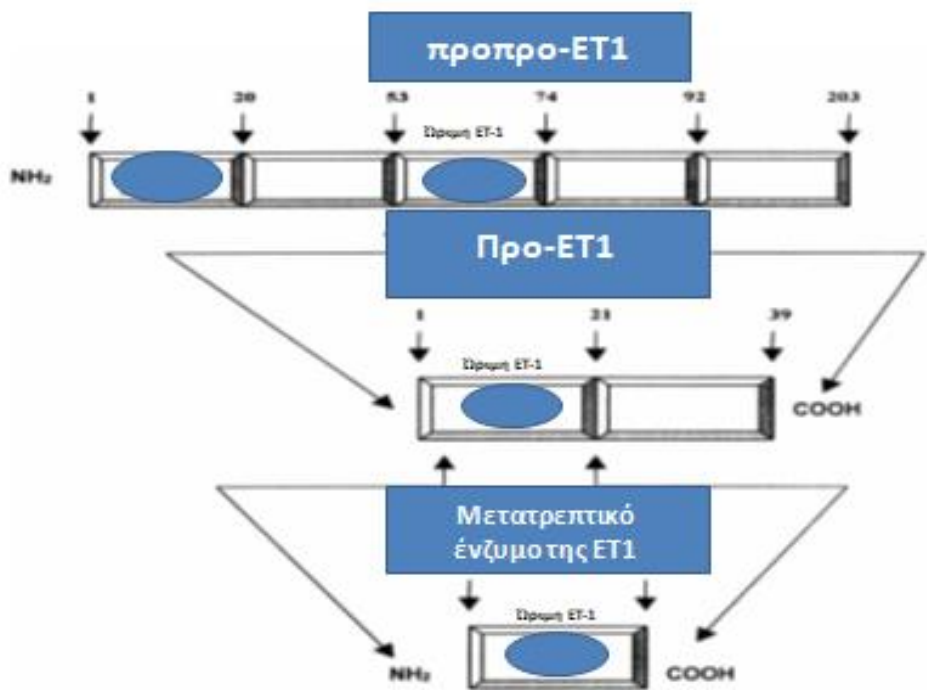
Η ενδοθηλίνη είναι ένα πεπτίδιο 21 αμινοξέων και διαθέτει την ισχυρότερη αγγειοσυσπαστική δράση από όλες τις γνωστές αγγειοσυσπαστικές ουσίες.

Στο μόριο της ενδοθηλίνης αναγνωρίζονται 2 διαφορετικές δομές: το υδροφοβικό C-τελικό άκρο, ή αλλιώς καρβοξυτελικό και το N-τελικό άκρο ή αμινοτελικό. Στο τελευταίο, παρατηρήθηκαν 2 δισουλφιδικές γέφυρες, οι οποίες ενώνουν την κυστεΐνη στις θέσεις 1-15 και 3-11 και δημιουργούν στο μόριο μία μορφή ομοιάζουσα με αυτήν την αγκύλης. Αξίζει να αναφερθεί, πως η δομή της ενδοθηλίνης παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες με αυτήν της σαραφατοξίνης. Η αλληλουχία των αμινοξέων ασπαραγίνη, γλουταμίνη και φαινυλοαλανίνη στις θέσεις 8, 10 και 14 αντίστοιχα είναι σημαντική για τη σύνδεση της ενδοθηλίνης με τους υποδοχείς της. (2)

Η ενδοθηλίνη εμφανίζει 3 ισομορφές, τις ET-1, ET-2 και ET-3, οι οποίες έχουν κοινό το C-τελικό τους άκρο, ενώ διαφέρουν στο N-τελικό άκρο (Εικόνα 1). Πιο συγκεκριμένα, τα μόρια της ET-1 και ET-2 διαφέρουν στο ότι η ET-1 στη θέση 1 περιέχει λευκίνη ενώ η ET-2 τρυπτοφάνη και στη θέση 7 η ET-1 εμφανίζει το αμινοξύ της μεθειονίνης και η ET-2 τη λευκίνη. Από την άλλη πλευρά, στο μόριο της ET-3 παρατηρούνται μεγαλύτερες διαφορές. Τα παραπάνω καταδεικνύουν και τον διαφορετικό τρόπο σύνδεσης των ισομορφών της ενδοθηλίνης με τους υποδοχείς της. Καθεμία από τις παραπάνω ισομορφές προκύπτει από τη διάσπαση ενός πρόδρομου μορίου, της προπροενδοθηλίνης σε 2 στάδια. Το μόριο της προπροενδοθηλίνης αποτελείται από 212 αμινοξέα και αποτελεί πρόδρομο της προενδοθηλίνης (ή μεγαλοενδοθηλίνης). Η διαδικασία μετατροπής γίνεται με διάσπαση στις θέσεις 52-53 και 91-92 μέσω της πρωτεολυτικής δράσης μίας ειδικής ενδοπεπτιδάσης. Οι προενδοθηλίνες (η προET-1 με 38 αμινοξέα, η προET-2 με 37 αμινοξέα και η προET-3 με 41 αμινοξέα) με τη δράση και των δύο τύπων των μετατρεπτικών ενζύμων της ενδοθηλίνης στα ζεύγη τρυπτοφάνη-βαλίνη για την προET-1 και προET-2 και τρυπτοφάνη-ισολευκίνη για την προET-3 μετατρέπονται στις ώριμες μορφές τους. (Εικόνα 2) (2).



Εικόνα 1: Οι 3 ισομορφές της ενδοθηλίνης (www.researchgate.net)



Εικόνα 2: Η σύνθεση της ET-1 (www.researchgate.net)

### 1.3 Γονιδιακή ρύθμιση

Συνολικά έχουν κλωνοποιηθεί 3 γονίδια για την ενδοθηλίνη, τα οποία εντοπίζονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα σε άνθρωπο, χοίρο και επίμυ. Καθένα κωδικοποιεί ένα πρόδρομο μόριο για κάθε μία από τις ισομορφές της ενδοθηλίνης. (3) Στο ανθρώπινο γονιδίωμα, το γονίδιο της προπροενδοθηλίνης-1 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6, της προπροενδοθηλίνης-2 στο 1 και για την προπροενδοθηλίνη-3 στο 20. Από τα γονίδια αυτά, περισσότερο έχει μελετηθεί αυτό της ισομορφής ET-1. Το γονίδιο για την προπροενδοθηλίνης-1 αποτελείται από 5 εξόνια και 4 ιντρόνια που διανέμονται σε 6.836 ζεύγη βάσεων. Ένα από τα εξόνια, και συγκεκριμένα το δεύτερο στη σειρά, κωδικοποιεί την ενδοθηλίνη-1. Το πρώτο εξόνιο περιέχει την 5' ακωδικοποιήτη αλληλουχία (268 νουκλεοτίδια ) και την κωδικοποιό αλληλουχία για τα πρώτα 21 αμινοξέα της προπρο-ET-1. Το τρίτο εξόνιο κωδικοποιεί ένα πεπτίδιο σχετιζόμενο με την ενδοθηλίνη. Το τέταρτο εξόνιο περιέχει αλληλουχία που κωδικοποιεί τα αμινοξέα 131-178 της προπρο-ET-1.

Το πέμπτο εξόνιο περιέχει την 3' ακωδικοποιήτη περιοχή και τα 34 αμινοξέα του καρβοξυλικού άκρου της προπρο-ET-1. Στην 3' ακωδικοποιήτη περιοχή υπάρχουν αλληλουχίες AU οι οποίες υπεισέρχονται στην εκλεκτική καθαίρεση του mRNA. Ο εκκινητής έχει τυπική αλληλουχία CAAT και TATA. Διαμέσου θέσεων του εκκινητού αυξητικοί παράγοντες ρυθμίζουν τη μεταγραφή του γονιδίου της ET-1. Η έκφραση του γονιδίου της ενδοθηλίνης, εκτός από το αγγειακό ενδοθήλιο, εντοπίζεται και σε άλλα όργανα, όπως εγκέφαλος, νωτιαίος μυελός, πνεύμονες, καρδιά, νεφρός, έντερο, οφθαλμοί, υπόφυση (Πίνακας 2). Στα προαναφερθέντα όργανα, το μόριο της ενδοθηλίνης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη φυσιολογική λειτουργία όσο και σε παθολογικές καταστάσεις. (4-7)

ET-1	ET-2	ET-3
Ενδοθηλιακά κύτταρα	Μυοκαρδιακά κύτταρα	Γλοιοκύτταρα, κύτταρα νευρώνων
Μυοκαρδιακά κύτταρα	Επιθηλιακά νεφρικά κύτταρα	Επινεφριδιακά κύτταρα
Αστροκύτταρα, νευρώνες	Επιθηλιακά κύτταρα πνεύμονα	Επιθηλιακά κύτταρα πνεύμονα
Λεία μυϊκά κύτταρα αορτής	Στρωματικά κύτταρα γαστρεντερικού	Επιθηλιακά κύτταρα εντέρου
Νευροεκκριτικές απολήξεις υπόφυσης	Τροφοβλάστες	Επιθηλιακά κύτταρα νεφρών
Κύτταρα Sertoli Κύτταρα ενδομητρίου	Αδενικά κύτταρα ενδομητρίου	
Επιθηλιακά κύτταρα χοληδόχου πόρου		

## Πίνακας 2: Κύτταρα παραγωγής ενδοθηλίνης

Η 5' περιοχή των γονιδίων αυτών έχει περιοχές στις οποίες εξωτερικοί παράγοντες επιδρούν, ρυθμίζοντας την έκφρασή τους είτε θετικά είτε αρνητικά.

Οι παράγοντες που προάγουν την σύνθεση της ET-1 διακρίνονται σε αγγειοσυσπαστικούς-θρομβωτικούς, φυσικούς και φλεγμονώδεις κυτοκίνες. (8,9)

Συγκεκριμένα, η θρομβίνη, η αγγειοτενσίνη II και η βαζοπρεσίνη αυξάνουν την απελευθέρωση της ET-1 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενεργοποιώντας την φωσφολιπάση C, την πρωτεϊνική κινάση C και την έκφραση των γονιδίων της οικογένειας των AP-1 πρωτεϊνών (*c-fos/c-jun*) που ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Ένας άλλος αγγειοσυσπαστικός παράγοντας που διεγείρει την ET-1 είναι η 8-επι-προσταγλανδίνη F<sub>2α</sub>, η οποία παράγεται από λιπιδική υπεροξειδωση και καταλυτική δράση ελεύθερων ριζών. Έτσι εξηγούνται οι αυξήσεις των επιπέδων της ET-1 σε καταστάσεις οξειδωτικής βλάβης. (10-12)

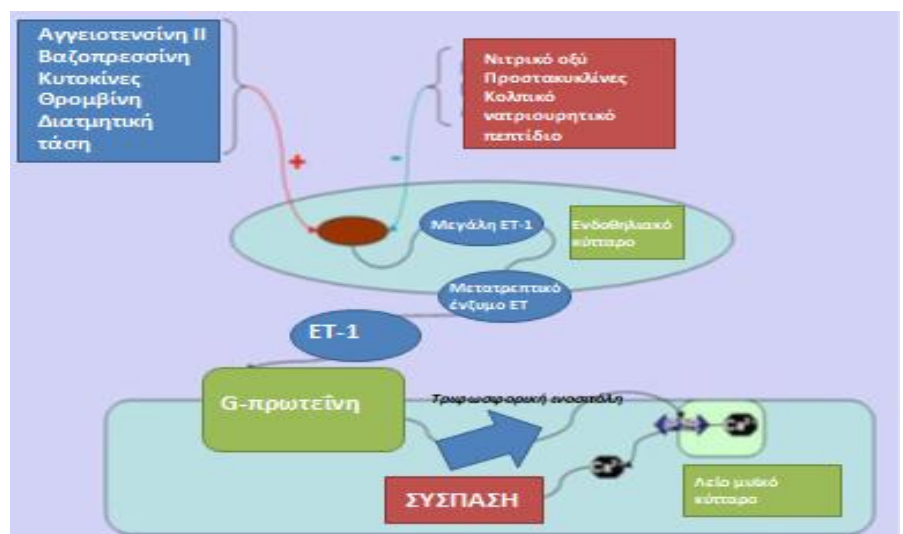
Επίσης, αρκετοί φυσικοί παράγοντες ενεργοποιώντας την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) αυξάνουν την απελευθέρωση της ET-1 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Μεταξύ αυτών, περιλαμβάνονται η μηχανική τάση του κυττάρου, η πίεση χωρίς κυτταρική παραμόρφωση, και τα χαμηλά επίπεδα διατμητικής τάσης (<2 dynes/cm<sup>2</sup>). Τέλος, οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως η ιντερλευκίνη-1 και ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF), αυξάνουν την παραγωγή της ET-1.

Αντίθετα, παράγοντες που αναστέλλουν την παραγωγή της ET-1 είναι ουσίες με αγγειοδιασταλτική- αντιθρομβωτική δράση, όπως η ηπαρίνη, η βραδυκίνηνη, η προσταγλανδίνη E2 και I2, η προστακυκλίνη, το μονοξείδιο του αζώτου, το κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο, καθώς και το υψηλό διατμητικό stress.

Όλοι αυτοί οι παράγοντες φαίνεται ότι δρουν διεγείροντας την παραγωγή του NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP), η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε μείωση της διαθεσιμότητας του ενδοκυττάρου ασβεστίου και, εν τέλει, σε μειωμένη έκφραση του γονιδίου της ενδοθηλίνης (10).

Ακόμη, εξαιρετο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως η ίδια η ενδοθηλίνη προάγει τη σύνθεσή της, δημιουργώντας ένα θετικό ανατροφοδοτικό μονοπάτι (Εικόνα 3) (7,13).

**Εικόνα 3:** Το μονοπάτι της ενδοθηλίνης-1  
([www.researchgate.net](http://www.researchgate.net))



#### 1.4 Μετα-μεταφραστική τροποποίηση

Το προϊόν έκφρασης των προαναφερθέντων γονιδίων είναι η προπροενδοθηλίνη, η οποία μέσω πρωτεολυτικής δράσης διασπάται σε 2 στάδια στην ενδοθηλίνη των 21 αμινοξέων. Αρχικά, η διάσπαση πραγματοποιείται σε 2 θέσεις από τη φουρίνη, μία ενδοπεπτιδάση ειδική για το σύμπλεγμα λυσίνη-αργινίνη (14). Με αυτόν τον τρόπο, προκύπτει ένα ενδιάμεσο πεπτίδιο 38 αμινοξέων, η προενδοθηλίνη ή μεγαλοενδοθηλίνη με μειωμένη βιολογική δράση (περίπου 1% της αγγειοσυσπαστικής δράσης της ενδοθηλίνης. Επομένως, η διάσπαση της ‘‘ασταθούς’’ προενδοθηλίνης στη δραστική ενδοθηλίνη μέσω του μετατρεπτικού ενζύμου της (ECE), αποτελεί μία βασική διεργασία. Έχουν περιγραφεί και άλλες πρωτεάσες που συμμετέχουν στην ενεργοποίηση της ενδοθηλίνης (πρωτεάση ασπαρτικού, πρωτεάση θειόλης), γεγονός που επιβεβαιώνεται από πειραματική μελέτη κατά την οποία σε knock-out ποντίκια για το γονίδιο των ECE-1 και ECE-2, τα επίπεδα των ET-1 και ET-2 δεν διέφεραν από τα φυσιολογικά (15-20).

Τουλάχιστον τρεις μορφές του ECE έχουν απομονωθεί (1, 2, 3). Το ECE ανήκει στην οικογένεια των μεταλλοπρωτεασών, περιέχει ψευδάργυρο και η δράση του αναστέλλεται από τη φωσφοραμιδόνη, έναν αναστολέα μεταλλοενδοπεπτιδασών (NEP). Τα συγκεκριμένα ένζυμα καταλύουν τη διάσπαση του πεπτιδικού δεσμού μεταξύ τρυπτοφάνης και βαλίνης στο καρβοξυτελικό άκρο της προενδοθηλίνης, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση της ενεργούς ώριμης ενδοθηλίνης (21,22).

Το ECE-1 είναι το πρώτο ένζυμο που απομονώθηκε, καθώς και το περισσότερο μελετημένο. Το γονίδιο που το κωδικοποιεί εδράζεται στο χρωμόσωμα 1, από το οποίο προκύπτουν τουλάχιστον 4 διαφορετικές ισομορφές του ενζύμου αυτού (ECE-1a, ECE-1b, ECE-1c, ECE-1d) μέσω της χρήσης διαφορετικών εκκινήτων ή διαφορετικών τρόπων εναλλακτικού ματίσματος. Το ECE-1c είναι το επικρατέστερο και μαζί με τα ECE-1a και ECE-1d παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της προενδοθηλίνης στην κυτταρική μεμβράνη. Αντίθετα, το ECE-1b ενεργεί ενδοκυττάρια στο σύμπλεγμα Golgi, λαμβάνοντας δράση στην ενεργοποίηση της ενδογενούς προενδοθηλίνης (17-19).



Συμπερασματικά, το μόριο της ενδοθηλίνης εκκρίνεται από το κύτταρο είτε με την ενεργό μορφή των 21 αμινοξέων είτε με τη μορφή της προενδοθηλίνης. Είναι πιθανό το γεγονός –χωρίς να επιβεβαιώνεται πειραματικά- το ECE να ρυθμίζει την παραγωγή ενδοθηλίνης τοπικά, καθορίζοντας το ποσό του ενεργού ενζύμου που θα εκκριθεί από το κύτταρο, αλλά και τον ρυθμό της ενεργοποίησης της προενδοθηλίνης. (17)

Συμπερασματικά, η παραγωγή της ET-1 περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- 1) Διέγερση του γονιδίου της ET-1, που βρίσκεται στον πυρήνα του ενδοθηλιακού κυττάρου.
- 2) Δημιουργία του αγγελιοφόρου ριβονουκλεϊκού οξέος (mRNA) της προπροET-1.
- 3) Σύνθεση της προπροET-1 στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου.
- 4) Μεταρτοπή της προπροET-1 σε προET-1.
- 5) Μετατροπή της προET-1 σε ET-1 μέσω του ECE-1.

### **1.5 Μεταβολισμός της ενδοθηλίνης**

Οι ενδοθηλίνες μεταβολίζονται γρήγορα από τους πνεύμονες (80-90%), τους νεφρούς, το ήπαρ, την καρδιά και τον σπλήνα. Έχουν περιγραφεί αρκετά ένζυμα κάθαρσης ενδοθηλίνης από τους νεφρούς, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται μία ουδέτερη ενδοπεπτιδάση, μία πρωτεάση συνδεδεμένη με εγκεφαλινάση, μεταλλοπρωτεάσες και μία πρωτεΐνη προστατευτική των λυσοσωμάτων. Η σημασία όλων αυτών των πρωτεασών παραμένει αδιευκρίνιστη, όμως, πιθανότατα, η ουδέτερη ενδοπεπτιδάση είναι αυτή που συνεισφέρει ουσιαστικά στην κάθαρση της ET-1 από τους νεφρούς. Επίσης, είναι αξιοσημείωτο ότι ελάχιστη ποσότητα από την κυκλοφορούσα ET-1 απεκκρίνεται στα ούρα, εύρημα που υποδηλώνει ότι η ET-1 των ούρων αποδίδεται στην ενδογενή σύνθεσή της από τους νεφρούς (1).

Αξίζει να αναφερθεί, πως η ενδοθηλίνη έχει αυτοκρινή και παρακρινή, αλλά όχι ενδοκρινή δράση. Γι αυτό τον λόγο, ο διαχωρισμός μεταξύ προET-1 και ET-1 χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή. Ιδιαίτερα τα ερεθίσματα που επιδρούν στην κάθαρση και λιγότερο στη σύνθεση του μορίου είναι από τους πιο σημαντικούς δείκτες της συγκέντρωσης του στο πλάσμα. Παρά το γεγονός ότι οι βιολογικές επιδράσεις της ET-1 διαρκούν για πολύ μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, ο χρόνος ημίσειας ζωής της είναι λιγότερο από δύο λεπτά. Αυτό οφείλεται στον μεταβολισμό και την απέκκρισή της από το πνευμονικό και νεφρικό αγγειακό δίκτυο.

Αυτή η απέκκριση περιλαμβάνει δέσμευση της ουσίας από ETB-υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια του κυττάρου, απορρόφηση και αποδόμησή της στα λυσοσώματα. Τα μόρια της ενδοθηλίνης αποδομούνται, επίσης, από ενδοπεπτιδάσες που βρίσκονται στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο στους νεφρούς (14,17).

### **1.6 Υποδοχείς ενδοθηλίνης**

Η ενδοθηλίνη αποτελεί ένα υδρόφιλο μόριο, το οποίο δεν δύναται να διαπεράσει την κυτταρική μεμβράνη. Επομένως, πρέπει να συνδεθεί με ειδικούς υποδοχείς, οι οποίοι ονομάζονται ETA και ETB, ανήκουν στην οικογένεια των υποδοχέων που δεσμεύονται με G-πρωτεΐνες και φέρουν 7 διαμεμβρανικές έλικες.

Η σύνδεση της ET-1 με τους υποδοχείς της οδηγεί σε ενεργοποίηση του μονοπατιού της φωσφατιδυλικής ινοσιτόλης και φωσφολιπάσης C, καθώς και στην πυροδότηση ενδοκυττάρων διεργασιών, με βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα αποτελέσματα. Τέτοια είναι η αύξηση των ενδοκυττάρων επιπέδων ασβεστίου, η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κίνησης C και πυρηνικοί μηχανισμοί σήμανσης.

Έτσι, σε φυσιολογικές συνθήκες, οι δράσεις της ET-1 οδηγούν σε διατήρηση του αγγειακού τόνου, σε διαφοροποίηση των ιστών και σε πολλαπλασιασμό των κυττάρων μέσω των ιδιοτήτων των υποδοχέων της. Οι ενδοθηλίνες ασκούν μια σειρά από φυσιολογικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας και της νευροδιαβίβασης. (19)

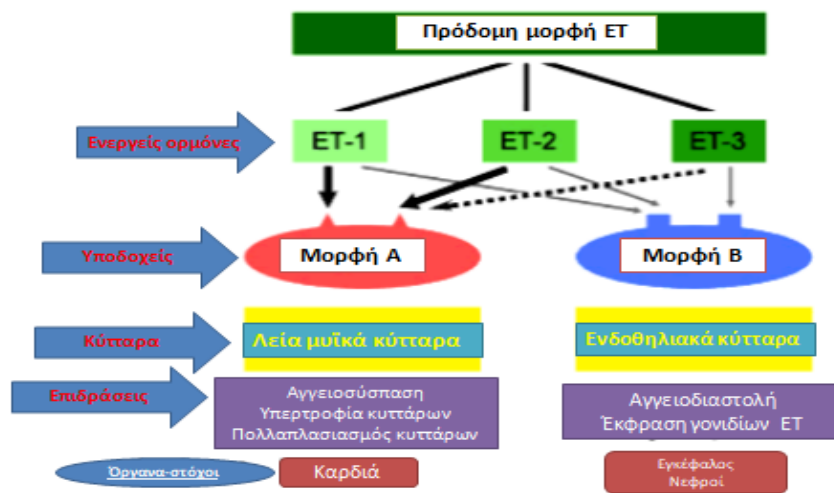
Από την άλλη πλευρά, ο υποδοχέας ETB αποτελείται από 442 αμινοξέα και είναι αποτέλεσμα έκφρασης του γονιδίου στο χρωμόσωμα 13. Διάφορες μελέτες υποστηρίζουν ότι μπορεί να υπάρχουν υποομάδες των υποδοχέων ETB, όμως δεν έχει αποσαφηνιστεί τυχόν διαφοροποίηση στη δομή τους. Τμήματα του υπεύθυνου RNA των ETB ελέγχουν την σύνθεση δύο υποδοχέων μεγέθους 10 αμινοξέων, χωρίς όμως να έχει αποδειχθεί και διαφορετική μεταξύ τους λειτουργία (18).

Η βιολογική δράση των ET είναι σε άμεση συνάρτηση με τον πληθυσμό του κάθε είδους υποδοχέα και είναι διαφορετική μεταξύ των διαφόρων ιστών και κυττάρων. Ο αριθμός των υποδοχέων μπορεί να αλλάζει, είναι ειδικός για τον κάθε υποδοχέα και τον κάθε είδους διαμορφωτή τους. Για παράδειγμα, η κυκλοσπορίνη δεν επηρεάζει τους ETA-υποδοχείς στα πειραματικά κύτταρα του μεσάγγειου, αλλά αυξάνει τους ETB-υποδοχείς. Αυτό φαίνεται να έχει λειτουργική συσχέτιση, μιας και οι ETB-υποδοχείς συνδέονται με την αυτο-επαγόμενη σύνθεση της ET- 1. Οι ETB-υποδοχείς προάγουν την μίτωση των νεφρικών σωληναριακών κυττάρων και αποτελούν ένα αυτοαναγεννητικό σύστημα αποκατάστασης της ακεραιότητας των σωληναρίων μετά από ιστική βλάβη (19-20).

Η κατανομή των υποδοχέων των ενδοθηλινών είναι εκτεταμένη και κύρια σχετίζεται με τους τόπους παραγωγής τους. Οι ETA-υποδοχείς επικρατούν στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων των περισσότερων ειδών, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπινου, ενώ δεν βρίσκονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι ETB-υποδοχείς βρίσκονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και κυρίως της αορτής, του εγκεφάλου και των πνευμόνων. Οι ETB είναι οι κυριότεροι υποδοχείς των κυττάρων των νεφρικών σωληναρίων.

Επιμέρους ανατομικά στοιχεία των νεφρών (αρτηριόλια, τριχοειδή των σπειραμάτων και σωληνάκια της μυελώδους μοίρας) διαθέτουν υποδοχείς και των δύο τύπων (20).

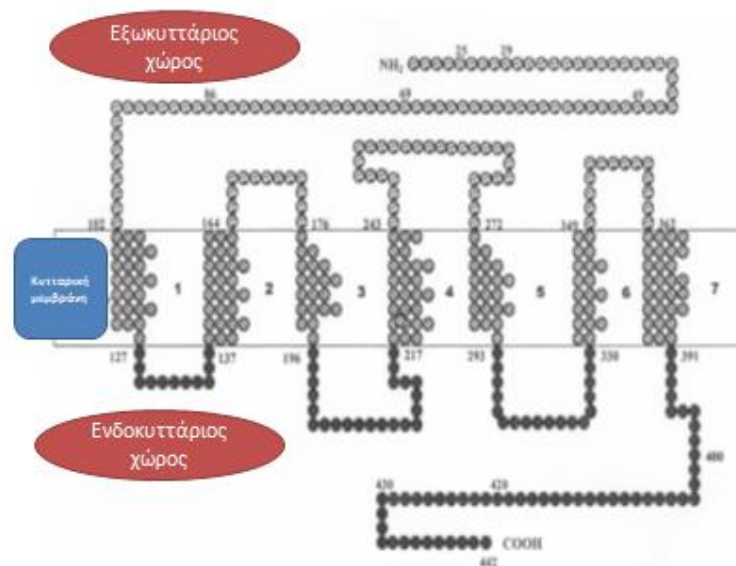
Οι ETA-υποδοχείς προκαλούν αγγειοσυστολή, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την εναπόθεση θεμέλιας ουσίας. Σε ότι αφορά τους υποδοχείς ETB, έχει διαπιστωθεί ότι συνδέονται με αγγειοδιαστολή, ενώ στα ενδοθηλιακά κύτταρα προκαλούν απελευθέρωση προσταγλανδινών (PGI2) και μονοξειδίου του αζώτου (NO) αντισταθμίζοντας έτσι την αγγειοσυσπαστική και πολλαπλασιαστική δράση της ET-1 μέσω των ETA-υποδοχέων. Τέλος, οι ETB-υποδοχείς επηρεάζουν την κάθαρση της ET-1. (Εικόνα 4) (19)



**Εικόνα 4:** Η ενδοθηλίνη και οι υποδοχείς της (www.matlab1.com)

### 1.6.1 Υποδοχείς Ενδοθηλίνης-A (ETA-υποδοχείς)

Ο υποδοχέας ETA αποτελείται από 427 αμινοξέα, κωδικοποιείται το χρωμόσωμα 4 και συνδέεται ισχυρά με τις ET-1 και ET-2 και ασθενέστερα με την ET-3 (Εικόνα 5). Η ET συνδέεται ισχυρά με τον υποδοχέα της, αλλά αποσυνδέεται πολύ αργά. Πιο συγκεκριμένα, με τη σύνδεση της ET-1 με τον ETA, το σύμπλεγμα μεταφέρεται ενδοκυττάρια και παραμένει συνδεδεμένο για περισσότερα από 90λεπτά, με αποτέλεσμα τη δημιουργία δευτερογενών μηνυμάτων. Αυτή η ιδιότητα της δράσης της ET-1 μέσω των ETA-υποδοχέων παρακωλύει την προσπάθεια αναστολής της δράσης της ET-1. Πρόσφατα όμως, έχει βρεθεί μία ομάδα ανταγωνιστών των υποδοχέων με μεγάλη εξειδίκευση, με τελικό αποτέλεσμα την μείωση της δράσης της ET-1. Όλη αυτή η ομάδα πρωτεϊνών και πεπτιδίων είναι πολλά υποσχόμενη στην θεραπεία νοσημάτων που σχετίζονται με αυξημένη παραγωγή της ET-1 (19).

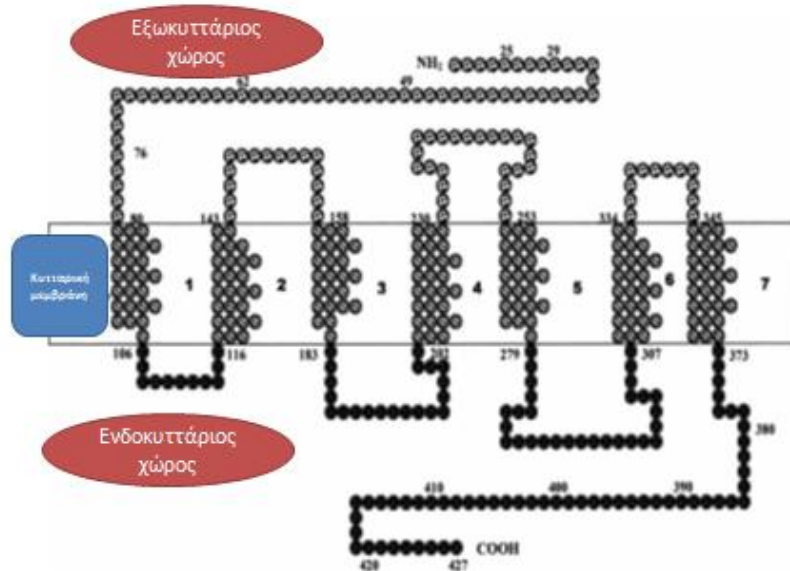


**Εικόνα 5:** Μοριακή δομή του ETA-υποδοχέα ([www.selleckchem.com](http://www.selleckchem.com))

Οι ETA-υποδοχείς της ενδοθηλίνης έχουν δέκα φορές μεγαλύτερη συνδυαστική ικανότητα για την ET-1 από ότι για την ET-3 και εκφράζονται σε πολύ μεγάλο βαθμό στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα, στο ενδοθήλιο των αγγείων, (ιδιαίτερα στα νεφρικά αγγεία και στα αγγεία της πνευμονικής κυκλοφορίας), καθώς και στα μυοκαρδιακά κύτταρα, κολπικά και κοιλιακά. Αυτοί οι υποδοχείς μεσολαβούν στην αγγειοσυσπαστική δράση της ET-1, στον αγγειακό πολλαπλασιασμό, στην υπερτροφία του μυοκαρδίου, ενώ έχουν και ταυτόχρονη αρρυθμογόνο δράση σ' αυτό. Ιδιαίτερα, επίσης, προκαλούν αγγειοσύσπαση στην πνευμονική κυκλοφορία, καθώς και αύξηση των αντιστάσεων των νεφρικών αγγείων. Η αγγειοσύσπαση συνδέεται με την ικανότητα των υποδοχέων, που είναι συνδεδεμένοι με την ενδοθηλίνη, να ενεργοποιούν την φωσφολιπάση-C η οποία οδηγεί στον σχηματισμό της 1,4,5 τριφωσφορικής ινοσιτόλης και της διακυλ-γλυκερόλης. Οι σχηματισμοί αυτοί αυξάνουν την συγκέντρωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου, το οποίο με τη σειρά του προκαλεί την αγγειοσύσπαση. Το NO βραχύνει την διάρκεια της αγγειοσύσπασης ενεργοποιώντας την επιστροφή του ενδοκυττάριου ασβεστίου στις βασικές του συγκεντρώσεις. Η διακυλ-γλυκερόλη και το ασβέστιο ενεργοποιούν την πρωτεϊνική κινάση C, η οποία είναι μεσολαβητής της μιτογόνου δράσεως της ET-1 (21).

### **1.6.2 Υποδοχείς Ενδοθηλίνης-B**

Οι υποδοχείς ενδοθηλίνης τύπου B εκφράζονται κυρίως στα ενδοθηλιακά, στα λεία μυϊκά κύτταρα των βρόγχων, στα αθροιστικά σωληνάκια των νεφρών και σε μικρότερο βαθμό στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα. Συνδέονται με την ET-1 και την ET-3 και μεσολαβούν στον αγγειακό πολλαπλασιασμό, στην κάθαρση της ET-1 από τους πνεύμονες, στην επαναρρόφηση ύδατος και νατρίου, καθώς και στην αγγειοδιαστολή. Επιπλέον, μπορεί να μεσολαβούν στην δραστηριοποίηση άλλων πεπτιδίων (Εικόνα 6).



**Εικόνα 6:** Μοριακή δομή του ETB-υποδοχέα ([www.selleckchem.com](http://www.selleckchem.com))

Τα αποτελέσματα αυτής της δραστηριοποίησης των ETB-υποδοχέων είναι όμοια με αυτά των ETA-υποδοχέων στην ενεργοποίηση της δραστηριότητας της φωσφολιπάσης-C, στην δημιουργία της 1,4,5 τριφωσφορικής ινοσιτόλης και διακυλγλυκερόλης και κινητοποίησης του ασβεστίου. Οι ETB-υποδοχείς ενεργοποιούν ανασταλτικές G-πρωτεΐνες, οι οποίες σε μερικά κύτταρα οδηγούν στην καταστολή της παραγωγής της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (c-AMP) και στη δραστηριοποίηση της αντλίας  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . Η σύνδεση της ET-3 στους ETB-υποδοχείς μπορεί να οδηγήσει σε αγγειοδιαστολή, η οποία οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή NO και προστακυκλίνης, καθώς και στη δραστηριοποίηση των διαύλων καλίου. Η δραστηριοποίηση των ETB-υποδοχέων από την ET-3 είναι κριτικής σημασίας για την φυσιολογική ανάπτυξη των κυττάρων που προέρχονται από πρόδρομα νευρικά κύτταρα. Τα επιδερμικά μελανοκύτταρα και οι γαγγλιακοί νευρώνες στο μεσεντέριο δεν λειτουργούν όταν οι ETB-υποδοχείς λειτουργούν υπολειμματικά ή όταν δεν παράγεται ET-3 (21-24).

## 1.7 Φυσιολογικός ρόλος της ενδοθηλίνης

Σε φυσιολογικές καταστάσεις η ενδοθηλίνη συμμετέχει στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και στην έκκριση νατρίου από τους νεφρούς. Και στις δύο αυτές λειτουργίες συνεργάζεται με άλλους παράγοντες για την πρόκληση του τελικού αποτελέσματος. (25) Η δράση της στα επίπεδα αρτηριακής πίεσης είναι δόσοεξαρτώμενη. Έτσι η χορήγηση χαμηλών δόσεων ενδοθηλίνης προκαλεί αγγειοδιαστολή και μείωση της αρτηριακής πίεσης, πιθανότατα μέσω απελευθέρωσης νιτρικού οξειδίου από τη διέγερση των Β υποδοχέων των ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, όμως, προκαλείται αύξηση της αρτηριακής πίεσης λόγω αγγειοσυσπασης προκαλούμενης από τη διέγερση των Α και Β υποδοχέων των λείων μυϊκών κυττάρων (26).

Στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης συμμετέχει και η προκαλούμενη από την ενδοθηλίνη αύξηση της καρδιακής παροχής. Η αύξηση αυτή φαίνεται ότι είναι άμεση καθώς δεν επηρεάζεται από τη χορήγηση β αδρενεργικών αναστολέων (27).

Η ενδοθηλίνη συμμετέχει στη ρύθμιση του εξωκυττάρου όγκου, μέσω επίδρασης στην έκκριση νατρίου, με σύνθετο τρόπο. Η κύρια λειτουργία της είναι η αύξηση της απέκκρισης νατρίου από τους νεφρούς. Αυτό επιτυγχάνεται τόσο άμεσα, μέσω αναστολής της επαναρρόφησης νατρίου από τα επιθηλιακά κύτταρα των άπω εσπειραμένων και των αθροιστικών σωληναρίων από τη σύνδεση της με τους Β υποδοχείς των κυττάρων αυτών, όσο και έμμεσα μέσω αύξησης της έκκρισης νατριουρητικού πεπτιδίου από τους κόλπους της καρδιάς (28). Συγχρόνως, όμως, η προκαλούμενη από την ενδοθηλίνη ενεργοποίηση του άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης (μέσω νεφρικής αγγειοσυστολής), καθώς και η άμεση αύξηση της απελευθέρωσης αλδοστερόνης από τα επινεφρίδια έχουν αρνητική επίδραση στην απέκκριση νατρίου από τα σωληνάκια (27).



Ο ρόλος της ενδοθηλίνης στην ομοιόσταση του νατρίου περιπλέκεται ακόμη περισσότερο από την παρατήρηση ότι η σύνδεσή της στους Β υποδοχείς των επιθηλιακών κυττάρων των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων προκαλεί αντινατριουρητική δράση (27-30).

Ο ρόλος της ET-1 στο καρδιαγγειακό σύστημα αφορά στην αγγειοσυσπασση μετά από σύνδεση με ETA-υποδοχείς, καθώς και στην αγγειοδιαστολή στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα μετά από ενεργοποίηση των ETB-υποδοχέων. Επιπροσθέτως, η ET-1 προκαλεί μείωση της αιματικής ροής στην στεφανιαία κυκλοφορία και μείωση του κορεσμού του οξυγόνου τον στεφανιαίο κόλπο (Εικόνα 7) (27).

### **1.7.1 Ανταγωνιστές ενδοθηλίνης**

Οι ανταγωνιστές της ET-1 χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: i) στους αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1 και ii) στους ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1.

#### **1.7.1.1 Αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της ενδοθηλίνης**

Η αναστολή του μετατρεπτικού ενζύμου της ET-1 (ECE) αποτρέπει τη μετατροπή της προET-1 σε ET-1 και προκαλεί αγγειοδιαστολή και υπόταση. Οι περισσότεροι αναστολείς του ECE, αναστέλλουν, επίσης, και τις ενδοπεπτιδάσες, ώστε να αναστέλλουν τόσο την παραγωγή ET-1 όσο και το μεταβολισμό των αγγειοδιασταλτικών μεσολαβητών που πιθανόν αποδομούνται από τις ενδοπεπτιδάσες. Τέτοιοι μεσολαβητές είναι το κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο και η βραδυκινίνη (16-18).

### **1.7.1.2 Ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1**

Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1 ταξινομούνται σε εκλεκτικούς των ETA-υποδοχέων ή εκλεκτικούς των ETB-υποδοχέων, ανάλογα με τη συγγένειά τους προς κάποιο τύπο υποδοχέα, ή τέλος σε μικτούς ανταγωνιστές, όταν δεν παρουσιάζουν κάποια ιδιαίτερη συγγένεια (28).

Οι δύο περισσότερο μελετημένοι ανταγωνιστές είναι το BQ-123 (εκλεκτικός ανταγωνιστής των ETA-υποδοχέων) και το BQ-788 (εκλεκτικός ανταγωνιστής των ETB-υποδοχέων). Όσον αφορά τους μικτούς ανταγωνιστές ένας μεγάλος αριθμός ουσιών έχει χρησιμοποιηθεί σε πειραματικές μελέτες, αλλά το Bosentan, ένας μη πεπτιδικός ανταγωνιστής που λαμβάνεται από του στόματος, ήταν το πρώτο της κατηγορίας αυτής που πήρε έγκριση για κλινική εφαρμογή από το Food and Drug Administration (FDA), καθώς και από την Europe's European Medicines Agency (EMA) για τη θεραπεία της πνευμονικής υπέρτασης (28).

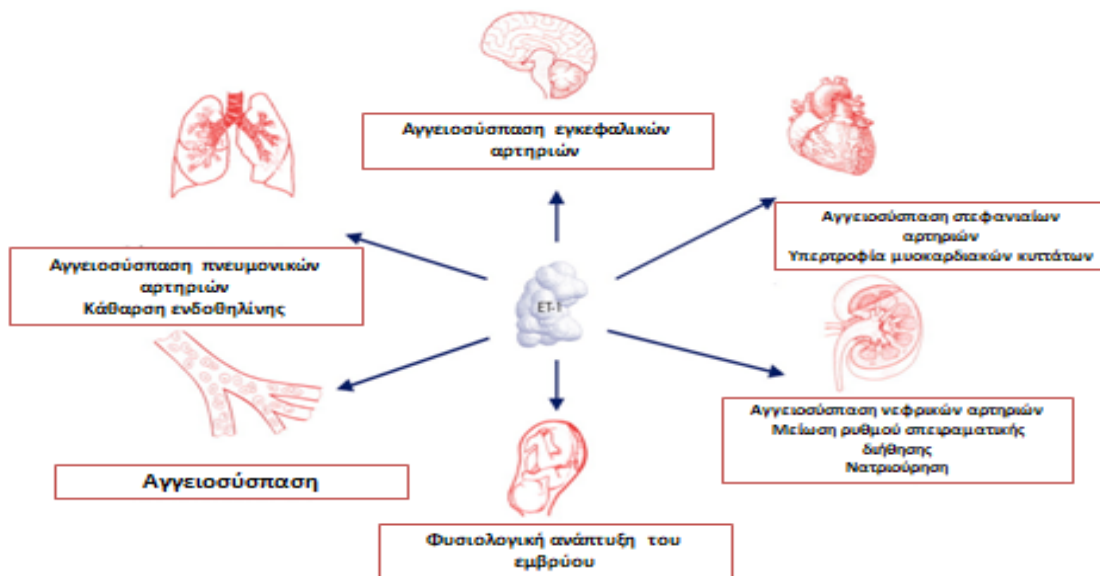
Η διάκριση μεταξύ εκλεκτικών και μικτών ανταγωνιστών δεν είναι καλά διευκρινισμένη, καθώς η εκλεκτικότητα είναι σχετική και δοσοεξαρτώμενη. Η χορήγηση ανταγωνιστών των ETA-υποδοχέων σε υγιείς εθελοντές προκαλεί αγγειοδιαστολή. Όταν χορηγήθηκε συστηματικά ο εκλεκτικός ανταγωνιστής των ETA-υποδοχέων BQ-123 προκάλεσε μια δοσοεξαρτώμενη μείωση της αρτηριακής πίεσης και των αγγειακών αντιστάσεων. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι η ET-1 συμβάλλει στη διατήρηση του αγγειακού τόνου και της αρτηριακής πίεσης μέσω των A υποδοχέων (28).

Η χορήγηση του εκλεκτικού ανταγωνιστή των ETB-υποδοχέων BQ-788 προκάλεσε μια ήπια αγγειοσύσπαση, καθώς και μικρή αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Τούτο υποδηλώνει ότι οι B-υποδοχείς, που σχετίζονται με τη σύνθεση NO, διαδραματίζουν φυσιολογικά κάποιο αντισταθμιστικό ρόλο στους A-υποδοχείς για τη διατήρηση του αγγειακού τόνου.

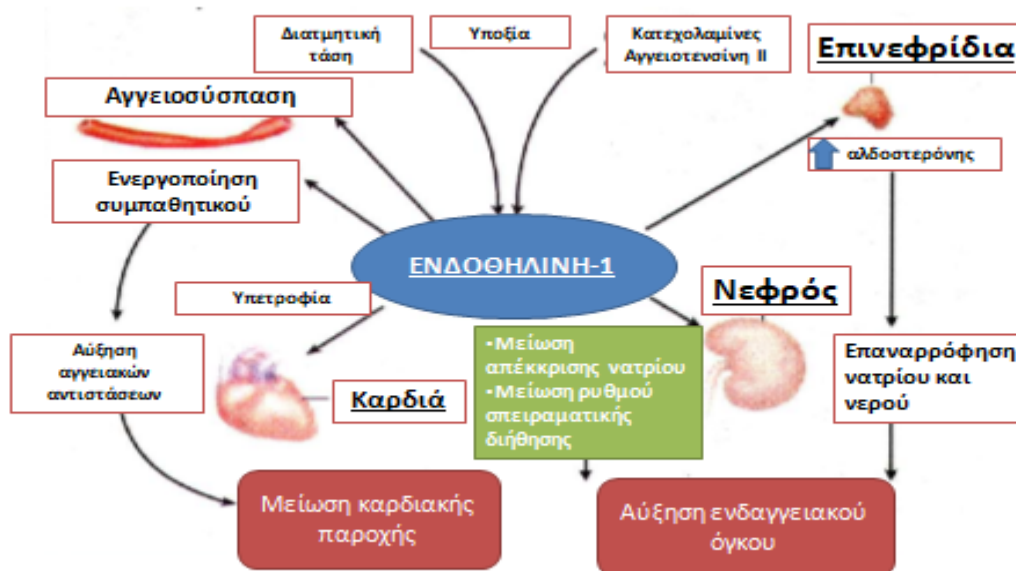
Έτσι, φαίνεται ότι η χορήγηση μικτού ανταγωνιστή των A και B υποδοχέων προκαλεί μικρότερη αγγειοδιαστολή και μικρότερη μείωση της αρτηριακής πίεσης. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι οι ανταγωνιστές των ETB-υποδοχέων αυξάνουν τη συγκέντρωση της ET-1 στο πλάσμα σε τρωκτικά και σε ανθρώπους, πιθανώς μειώνοντας την κάθαρσή της (21).

### **1.8 Παθοφυσιολογία της ενδοθηλίνης**

Όπως αναφέρθηκε η ενδοθηλίνη έχει σημαντική αγγειοσυσπαστική δράση, ενώ εμπλέκεται και σε διεργασίες υπερπλασίας και ίνωσης. Επίσης, σχετίζεται και με άλλους παράγοντες όπως η αγγειοτασίνη που παρουσιάζουν ανάλογη δραστηριότητα. Οι ικανότητες της αυτές οδήγησαν στη διερεύνηση του ρόλου της σε μια σειρά παθολογικών καταστάσεων που χαρακτηρίζονται από αγγειοσύσπαση, υπερπλασία ή ίνωση. Ενδείξεις για εμπλοκή της ενδοθηλίνης στην παθογένεια παθολογικών καταστάσεων υπάρχουν στην περίπτωση της υπέρτασης, της καρδιακής δυσλειτουργίας, της πνευμονικής υπέρτασης, της προεκλαμψίας και της οξείας και χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. Στις περιπτώσεις αυτές έχουν διαπιστωθεί αυξημένα επίπεδα ενδοθηλίνης. Σε ορισμένες περιπτώσεις μάλιστα τα επίπεδα αυτά συσχετίζονται θετικά με το βαθμό βλάβης των προσβεβλημένων οργάνων. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να σημειωθεί ότι αυξημένα επίπεδα ενδοθηλίνης στην κυκλοφορία δεν είναι απαραίτητη προϋπόθεση για εμπλοκή της ενδοθηλίνης καθώς, όπως αναφέρθηκε, η δράση της είναι κυρίως αυτοκρινής και παρακρινής. (Εικόνα 8) (2,6-7,27)



Εικόνα 7: Οι δράσεις της ET-1



Εικόνα 8: Ο ρόλος της ET-1 στα διάφορα συστήματα

### **1.8.1 Ενδοθηλίνη-1 και Στεφανιαία Νόσος**

Η ET-1 διαδραματίζει πιθανό ρόλο στην παθολογοανατομική διεργασία που ακολουθεί την οξεία απόφραξη των στεφανιαίων αγγείων και την επαναιμάτωση του μυοκαρδίου. Τα επίπεδα του πεπτιδίου στο πλάσμα αυξάνονται έπειτα από οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου (acute myocardial infarction-AMI) και έχει αποδειχθεί ότι έχουν αρρυθμογόνο δράση (28). Με την ενδοφλέβια χορήγηση ET-1 ελαττώνεται η αιματική ροή στα στεφανιαία αγγεία σε ποσοστό μεγαλύτερο από 90%. Ενδοστεφανιαία έγχυση του αντισώματος εναντίον της ET-1, προ του σημείου αποφράξεως, μειώνει την έκταση της μυοκαρδιακής βλάβης κατά 45%. Ομοίως στα σκυλιά η έγχυση του ανταγωνιστή του υποδοχέα A, BQ-123, μειώνει την έκταση του πειραματικά προκαλούμενου εμφράγματος του μυοκαρδίου κατά 40% (29).

Οι περισσότερες περιπτώσεις ισχαιμικής καρδιοπάθειας σχετίζονται με σοβαρή αρτηριοσκλήρυνση των στεφανιαίων αγγείων. Υπάρχει ωστόσο ένα μικρό ποσοστό ασθενών πασχόντων από στηθάγχη με ηλεκτροκαρδιογραφική (ΗΚΓ) απόδειξη ισχαιμίας, οι οποίοι έχουν φυσιολογική απεικόνιση στεφανιαίων αγγείων, φυσιολογική κοιλιακή λειτουργία και απουσία σπασμού των στεφανιαίων (κλινικό σύνδρομο X) (30).

Πρόσφατες μελέτες με τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET) έδειξαν ότι έπειτα από έγχυση διπυριδαμόλης η αιμάτωση του μυοκαρδίου δεν ήταν ομοιογενής στους ασθενείς με στηθάγχη και φυσιολογική στεφανιογραφία σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα της ομάδας ελέγχου. Δυναμικές διαταραχές της μικροκυκλοφορίας των στεφανιαίων έχουν αναγνωριστεί ως το αδύναμο στοιχείο του συνδρόμου αυτού που ονομάζεται μικροαγγειακή στηθάγχη. Πρόσφατα η ερευνητική ομάδα του Salomone και συν. έδειξε ότι στους ασθενείς με στηθάγχη, οι οποίοι είχαν θετική δοκιμασία κοπώσεως για ισχαιμία και φυσιολογική στεφανιογραφία, τα επίπεδα ET-1 πλάσματος ήταν σημαντικά υψηλότερα από εκείνα της ομάδας ασθενών χωρίς κλινικά ή εργαστηριακά ευρήματα ισχαιμίας (31). Παρόμοια αποτελέσματα ανακοινώθηκαν και από την ομάδα του Kaski και συν (32).

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η ET-1 μπορεί να συμβάλλει στην μικροαγγειακή στεφανιαία νόσο παραμένει άγνωστος. Πιθανώς να συμμετέχει στην τοπική ρύθμιση και μπορεί να δρα ενισχύοντας τη δράση άλλων αγγειοσυσπαστικών ουσιών όπως της νορεπινεφρίνης και της σεροτονίνης. Χαμηλές συγκεντρώσεις της ακετυλοχολίνης προκαλούν χάλαση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων μέσω απελευθέρωσης του χαλαρωτικού παράγοντα του προερχόμενου από το ενδοθήλιο (EDRF) με συνέπεια αγγειοδιαστολή, αλλά όταν είναι παρούσα ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αντίστοιχες συγκεντρώσεις ακετυλοχολίνης προκαλούν αγγειοσυστολή (30-31).

Όπως είναι γνωστό το ενδοθήλιο, μαζί με άλλους μεσολαβητές, αποτελεί πηγή ενδοθηλίνης. Υποστηρίζεται ισχυρά η υπόθεση ότι η ET-1 θα ήταν σημαντική στα πλαίσια φυσιολογίας και παθοφυσιολογίας στον έλεγχο του αγγειακού τόνου των στεφανιαίων αγγείων (32).

Τέλος αυξημένα επίπεδα ET-1 έχουν διαπιστωθεί κατά τη διάρκεια οξείας φάσης ασταθούς στηθάγχης προτείνοντας κατά αυτόν τον τρόπο ένα ρόλο της ET-1 στην παθοφυσιολογία του συνδρόμου των στεφανιαίων αρτηριών (30).

### **1.8.2 Ενδοθηλίνη-1 και Καρδιακή Ανεπάρκεια**

Η ET-1 φαίνεται ότι ασκεί διαφορετικές επιδράσεις στην φυσιολογική και στην ανεπαρκή καρδιά του ανθρώπου. Σε ασθενείς με μειωμένη λειτουργικότητα της αριστεράς κοιλίας, ενδοστεφανιαία έγχυση του εκλεκτικού ανταγωνιστή των υποδοχέων A, BQ-123, προκαλεί αύξηση της συσταλτικότητας, ενώ σε ασθενείς με φυσιολογικό κλάσμα εξωθήσεως προκαλεί ελάττωση αυτής. Η ενεργοποίηση του συστήματος της ET-1 είναι μερικώς υπεύθυνη για την αυξημένη περιφερική αγγειακή αντίσταση σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια (33).

Η ET-1 συμβάλλει ισχυρά στην αγγειοσυστολή είτε άμεσα είτε μέσω ενεργοποίησης άλλων νευροορμονικών συστημάτων. Σε μοντέλα ζώων με καρδιακή ανεπάρκεια η μυοκαρδιακή παραγωγή ET-1 είναι ιδιαίτερα αυξημένη, όπως, επίσης, και αυτή της κυκλοφορίας ιδιαίτερα της πνευμονικής. Ομοίως τα επίπεδα των υποδοχέων A είναι αυξημένα στην ανεπαρκούσα ανθρώπινη καρδιά. Αντίθετα, τα επίπεδα των υποδοχέων B φαίνεται να είναι μειωμένα (34).

Διάφοροι μηχανισμοί μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη παραγωγή της ET-1 στους ασθενείς με Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια (ΣΚΑ) (33). Στην ΣΚΑ, το πνευμονικό αγγειακό δίκτυο φαίνεται πως είναι η βασική πηγή της κυκλοφορούσης ET-1. Καθώς συσχετίζονται τα επίπεδα πλάσματος της ET-1 με τις πιέσεις καρδιακής πλήρωσης και την πνευμονική υπέρταση, η διάταση των αγγείων πιθανώς να αποτελεί ερέθισμα για αυξημένη παραγωγή ET-1. Επιπλέον, η μειωμένη τάση των αγγείων εξαιτίας χαμηλής καρδιακής παροχής πιθανώς να συμβάλλει και αυτή στην αυξημένη απελευθέρωση ET-1 σε ασθενείς με ΣΚΑ. Η μείωση των υποδοχέων B, οι οποίοι συμμετέχουν στην κάθαρση της ET-1, συμβάλλει περαιτέρω στα αυξημένα επίπεδα αυτής στην κυκλοφορία. Άλλα νευροορμονικά συστήματα τα οποία είναι ενεργοποιημένα στην ΣΚΑ, όπως η αγγειοτενσίνη II και οι κατεχολαμίνες, μπορεί να διεγείρουν την παραγωγή ET-1 (35).

Οι β-αναστολείς καθώς και οι α-MEA μειώνουν τα κυκλοφορούντα επίπεδα ET-1. Χρόνια ανοσολογική ενεργοποίηση πιθανώς να συμμετέχει στην ενεργοποίηση της ET-1, γιατί τα μονοπύρρηνα κύτταρα είναι ικανά να παράγουν την ορμόνη. Απομονωμένα λεμφοκύτταρα σε ασθενείς με ΣΚΑ, παρουσιάζουν μια στιγμιαία απελευθέρωση ET-1 (35).

Κατακράτηση  $\text{Na}^+$  και  $\text{H}_2\text{O}$ , τα οποία οδηγούν στην δημιουργία οιδήματος, είναι χαρακτηριστικό κλινικό σημείο της ΣΚΑ. Η περιορισμένη νεφρική λειτουργία, η οποία προκαλείται από υποάρδρευση των νεφρών ως συνέπεια της χαμηλής καρδιακής παροχής και της νευροορμονικής ενεργοποίησης, είναι ένα συχνό πρόβλημα κατά την θεραπεία ασθενών με ΣΚΑ. Η ET-1 συμβάλλει στην ρύθμιση της φυσιολογικής νεφρικής λειτουργίας.

Συστηματική έγχυση της ET-1 σε υγιείς εθελοντές οδηγεί σε ελάττωση της νεφρικής αιματικής ροής και του ρυθμού σπειραματικής διήθησης. Η απέκκριση  $\text{Na}^+$  στα ούρα μειώνεται μέσω αύξησης της επαναρρόφησης  $\text{Na}^+$  και  $\text{H}_2\text{O}$  από τα άπω σωληνάκια. Η νεφρική αγγειοσυσπαστική επίδραση που προκαλείται από την έγχυση ET-1 μπορεί να ανασταλεί μέσω ανταγωνιστού του υποδοχέα A γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι η δράση αυτή ολοκληρώνεται μέσω των υποδοχέων A σε υγιή άτομα (36).

Η Νταρουσεντάνη (Darusentan) είναι ένας εκλεκτικός ανταγωνιστής των υποδοχέων A που χορηγείται *per os* και έχει μελετηθεί τόσο σε σχέση με τις άμεσες όσο και με τις χρόνιες επιδράσεις σε ασθενείς με μετρίου βαθμού ΣΚΑ. Βρέθηκε ότι ο παραπάνω ανταγωνιστής περιόρισε την προοδευτική επιδείνωση της καρδιακής λειτουργίας και βελτίωσε τις αιμοδυναμικές παραμέτρους και την λειτουργία έπειτα από απομόνωση των στεφανιαίων αρτηριών. Παρόλο που παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση της πνευμονικής και συστηματικής αγγειακής αντίστασης, η καρδιακή παροχή βελτιώθηκε σημαντικά χωρίς να προκληθεί νευροορμονική διέγερση (36).

Με τη χορήγηση ενός περισσότερου εκλεκτικού ανταγωνιστή υποδοχέων A, του BMS19388414, συγκρίσιμες αιμοδυναμικές βελτιώσεις επετεύχθησαν και συσχετίστηκαν με βελτίωση των συμπτωμάτων της ΣΚΑ. Όπως με την νταρουσεντάνη, η ουσία ήταν καλώς ανεκτή και δεν προκαλούσε καμία αύξηση των τρανσαμινασών. Έγχυση του εκλεκτικού ανταγωνιστή υποδοχέων A FR139317 βελτίωσε την καρδιακή λειτουργία και την νεφρική αιμάτωση (36).

Τέλος οι εκλεκτικοί ανταγωνιστές υποδοχέων A BQ-123, A-127722 και PO156707, μετά από χρόνια χορήγηση, βελτίωσαν τις αιμοδυναμικές παραμέτρους, ελάττωσαν τα επίπεδα νατριουρητικού πεπτιδίου των κόλπων και βελτίωσαν την απέκκριση  $\text{Na}^+$ .



Η χορήγηση του ανταγωνιστή υποδοχέων Β, RES-701-114 ελάττωσε την καρδιακή παροχή και την νεφρική αιματική ροή. Το RES-701-1 μείωσε τα κυκλοφορούντα επίπεδα αλδοστερόνης ενώ το FR13931714 ελάττωσε τα επίπεδα νατριουρητικού πεπτιδίου των κόλπων, τα οποία είναι αυξημένα σε ασθενείς με ΣΚΑ.

Ο διπλός ανταγωνιστής TAK-04414 βελτίωσε τις αιμοδυναμικές παραμέτρους σε αντίστοιχο βαθμό με τους εκλεκτικούς ανταγωνιστές. Ωστόσο μείωσε επιπλέον τα επίπεδα αλδοστερόνης πλάσματος, γεγονός το οποίο μπορεί να εξηγηθεί μέσω ενός μηχανισμού απελευθέρωσης αλδοστερόνης που επηρεάζεται από τον υποδοχέα Α (33,36).

### **1.8.3 Ενδοθηλίνη –1 και Πνευμονική κυκλοφορία**

Στα πλαίσια πνευμονικής υπέρτασης, συμπτώματα δύσπνοιας κατά την άσκηση, χωρίς συνοδό απόφραξη των αεραγωγών, είναι συνήθη. Η φυσιολογική πνευμονική κυκλοφορία αποτελεί κύκλωμα χαμηλής πίεσης και χαμηλής αντίστασης. Στην πνευμονική υπέρταση η βασική αγγειακή αντίσταση είναι αυξημένη και η απελευθέρωση παραγόντων που ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο και την αντιδραστικότητα μπορεί να μεταβάλλεται (37).

Τα επίπεδα ενδοθηλινών στο πλάσμα φλεβικού αίματος ήταν σημαντικά αυξημένα στους περισσότερους ασθενείς με πνευμονική υπέρταση, πρωτοπαθή ή δευτεροπαθή. Σε άτομα με πρωτοπαθή πνευμονική υπέρταση τα επίπεδα ET-1 στο πλάσμα αρτηριακού αίματος ήταν πολύ υψηλότερα σε σχέση με τα αντίστοιχα στο φλεβικό αίμα. Στα πλαίσια δευτεροπαθούς πνευμονικής υπέρτασης η διαφορά αυτή ήταν μικρότερη, αλλά μεγαλύτερη συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου.

Η ισχυρή συσπαστική και μιτογόνος δράση που η ET-1 εμφανίζει στις λείες μυϊκές ίνες της πνευμονικής αρτηρίας, υποδηλώνει ότι η ET-1 μπορεί να μιμηθεί δύο από τα χαρακτηριστικά – κλειδιά της πνευμονικής υπέρτασης (38).

#### **1.8.4 Ενδοθηλίνη-1 και Αρτηριακή Υπέρταση**

Δεν υφίστανται πολλές αποδείξεις οι οποίες να συνηγορούν υπέρ πιθανού ρόλου των ενδοθηλινών στην ανάπτυξη υπέρτασης στους ανθρώπους ή στα ζώα (39,40). Τα επίπεδα της ET-1 στο πλάσμα είναι φυσιολογικά στους περισσότερους υπερτασικούς ασθενείς. Ωστόσο είναι αυξημένα σε γυναίκες με προεκλαμψία καθώς είναι γνωστό ότι η ET-1 παράγεται από αμνιακά και ενδομητριακά κύτταρα (41). Σε συνδυασμό με την μειωμένη σύνθεση προστακυκλίνης και NO, η ET-1 μπορεί να συμβάλλει στην υπέρταση που χαρακτηρίζει την προεκλαμψία (42).

#### **1.8.5 Ενδοθηλίνη και αγγεία**

Η ET-1 και υποδοχείς τύπου A διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση του βασικού αγγειακού τόνου (1). Η έγχυση BQ-123, ενός εκλεκτικού ανταγωνιστή των υποδοχέων A, στην βραχιόνιο αρτηρία υγιών ανθρώπων προκάλεσε προοδευτική αγγειοδιαστολή και αύξηση κατά 64% της αιματικής ροής στο αντιβράχιο έπειτα από 1 ώρα. Ενώ όλοι οι τύποι ενδοθηλινών μπορούν να προκαλέσουν αγγειοσύσπαση, η ET-1 έχει την πιο ισχυρή αγγειοσυσπαστική δράση. Για παράδειγμα είναι 100 φορές περισσότερο ισχυρή από την νορεπινεφρίνη σε μοριακό επίπεδο. Όπως σημειώθηκε η δράση αυτή ολοκληρώνεται διαμέσου των υποδοχέων A στα λεία μυϊκά κύτταρα αλλά και η ενεργοποίηση των υποδοχέων B, που εκφράζονται στα στεφανιαία αγγεία και σε άλλα μυϊκά κύτταρα, πιθανώς συμβάλλει και αυτή στην αγγειοσύσπαση. Η ET-1 ακόμη ενισχύει την αγγειοσυσπαστική δράση της νοραδρεναλίνης ενώ οι κατεχολαμίνες ενισχύουν την δράση των ενδοθηλινών (2,27).

Οι αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες της ET-1 ενισχύονται ιδιαίτερα στα αθηροσκληρωτικά αγγεία, λόγω έλλειψης της δράσης του NO. Η ET-1 μπορεί ακόμα να προάγει την παραγωγή νατριουρητικής ορμόνης των κόλπων από την καρδιά πιθανώς ώστε να εξισορροπήσει την αγγειοσυσπαστική της δράση.

### **1.8.6 Ενδοθηλίνη και Αναπνευστικό Σύστημα**

Η ET-1 προκαλεί βρογχόσπασμο *in vivo*, γεγονός που μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης. Ο βρογχόσπασμος πιθανώς να οφείλεται στη διέγερση παραγωγής θρομβοξάνης με επακόλουθη ενεργοποίηση των υποδοχέων της θρομβοξάνης που βρίσκονται στα λεία μυϊκά κύτταρα των βρογχιολίων. Καλλιεργημένα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα βρογχιολίων εκκρίνουν ET-1 και το πεπτίδιο μπορεί να δεσμευτεί από γειτονικά λεία μυϊκά κύτταρα (37).

Ασθενείς με άσθμα έχουν υψηλά επίπεδα ET-1 στο αίμα, στη σίελο και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, σε σύγκριση με υγιή άτομα και ασθενείς με βρογχίτιδα. Σε ασθενείς με άσθμα που βρίσκονται σε ύφεση έπειτα από θεραπεία με από του στόματος γλυκοκορτικοειδή ή εισπνεόμενους β2-αγωνιστές, η συγκέντρωση της ET-1 στο βρογχικό έκπλυμα είναι μειωμένη κατά 75% (38).

Το ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome) αφορά σε μια ποικιλία οξέων βλαβών του πνεύμονα, τα οποία έχουν ως αποτέλεσμα τον περιορισμό της ανταλλαγής αερίων, την διαταραχή της μηχανικής των πνευμόνων και πολύ συχνά την πρόκληση πνευμονικής υπέρτασης. Η κλινική επιδείνωση του ARDS σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα ET-1 στο αρτηριακό και φλεβικό αίμα. Η βλάβη του πνεύμονα τις περισσότερες φορές οφείλεται σε σήψη, αλλά μπορεί να προκληθεί από καταστάσεις όπως ανεύρυσμα αορτής, τραύμα στο στήθος και πνευμονία. Σε μοντέλα ζώων με βλάβη του πνεύμονα διαπιστώθηκε ότι η σήψη – μέσω ενδοτοξίνης που απελευθερώνεται κατά την διάρκεια αυτής - προκαλεί αύξηση των επιπέδων ET-1 στο πλάσμα. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι παρουσία BQ-123 αναστέλλεται η διαταραχή των αερίων αίματος και των δεικτών πνευμονικού οιδήματος οι οποίοι παρατηρούνται στα μοντέλα αυτά (37).

Η ET-1 ανιχνεύτηκε, επίσης, στο ενδοθήλιο των πνευμονικών αγγείων με σοβαρές μορφολογικές μεταβολές. Πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν ότι η ET-1 και το μετατρεπτικό ένζυμο της ET-1 ήταν αυξημένα σε ασθενείς με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση και ότι αυτά εντοπίζονται σε θέσεις στο επιθήλιο των αεραγωγών, σε πολλαπλασιαζόμενα τύπου II πνευμονοκύτταρα και σε λείες μυϊκές ίνες των αεραγωγών. Έχουν ανιχνευθεί υψηλά επίπεδα ενδοθηλινών και mRNA αυτών σε όγκους του αναπνευστικού συστήματος. Από τους διαφόρους όγκους που μελετήθηκαν, ET-1 ανιχνεύθηκε στο Ca πνεύμονος εκ πλακωδών κυττάρων και στα αδενοκαρκινώματα και όχι τόσο στα μικροκυτταρικά ή μεγαλοκυτταρικά καρκινώματα. Η ET-1 απελευθερώνεται από τις ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές HeLa και Hep-2 (37).

### **1.8.7 Ενδοθηλίνη και νεφροί**

Η ET-1 μπορεί να συμμετέχει σε διάφορες νόσους των νεφρών σχετιζόμενες με τα αγγεία. Η νεφροτοξικότητα της κυκλοσπορίνης πιθανώς να οφείλεται εν μέρει στην αυξημένη παραγωγή ET-1 (42). Η αναστολή της δράσης της ET-1 εμποδίζει την αγγειοσυσπαστική δράση του παραπάνω φαρμάκου σε απομονωμένες νεφρικές αρτηρίες επίμυων και προστατεύει από την νεφροτοξικότητά του *in vivo*. Αντίστοιχα η νεφρική ανεπάρκεια η οφειλόμενη σε ισχαιμία στα ζώα, έχει συσχετιστεί με την απελευθέρωση και τη δράση της ET-1. Ορισμένες μορφές πειραματικής προκαλούμενης μεταϊσχαιμικής νεφρικής ανεπάρκειας μπορούν να προληφθούν με τη χορήγηση ενός ανταγωνιστή του υποδοχέα της ενδοθηλίνης (43).

### 1.8.8 Ενδοθηλίνη και Νευρικό Σύστημα

Η ET-1, ET-3 και οι υποδοχείς των ενδοθηλινών βρίσκονται σε όλη την έκταση του εγκεφάλου, παρόλο που η ET-3 είναι παρούσα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Τα πεπτίδια και οι υποδοχείς τους παράγονται από νευρώνες και αστροκύτταρα σε αρχικά στάδια της εμβρυϊκής ζωής των επίμυων (14<sup>η</sup> μέρα) και γι' αυτό πιθανώς να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη του εγκεφάλου. Οι υποδοχείς B επικρατούν στα αστροκύτταρα, όπου μεσολαβούν στη δυνατότητα των ενδοθηλινών να διεγείρουν την σύνθεση του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) και να αναστέλλουν την παραγωγή ενδιάμεσων μεσολαβητών από άλλους νευροδιαβιβαστές. Οι ET-1 και ET-3 είναι τα μόνα γνωστά πεπτίδια τα οποία γνωρίζουμε ότι ενεργοποιούν την αντλία  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{Cl}^-$  στα τριχοειδικά ενδοθηλιακά κύτταρα του εγκεφάλου. Η σημαντική αυτή λειτουργία των παραπάνω κυττάρων, τα οποία αποτελούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, οδηγεί στη διατήρηση ενός περιβάλλοντος στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), στο οποίο η συγκέντρωση  $\text{K}^+$  είναι χαμηλή. Το γεγονός αυτό επιτρέπει την εκπόλωση των νευρώνων και τη μεταφορά ηλεκτρικών ερεθισμάτων μεταξύ αυτών (43).

Δρώντας σε συγκεκριμένους πυρήνες του στελέχους, η ET-1 προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πίεσης μέσω διέγερσης του κεντρικού συμπαθητικού νευρικού συστήματος και της κεντρικής παραγωγής και δράσης της αργινίνης-βασοπρεσίνης. Η ET-1 απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια έλλειψης  $\text{H}_2\text{O}$  και παρουσιάζει δράση εναντίον της δίψας ανταγωνιζόμενη τη δράση της αγγειοτενσίνης, η οποία οδηγεί στην αναζήτηση  $\text{H}_2\text{O}$ . Ακόμη διεγείρει την έκκριση αργινίνης – βασοπρεσίνης από τον υποθάλαμο *in vitro*. Διεγείρει την έκκριση αυξητικής ορμόνης, θυρεοτροπίνης, ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) και αναστέλλει την έκκριση προλακτίνης σε καλλιέργειες κυττάρων υποφύσεως (44).

Τα επίπεδα της ET-1 στο πλάσμα αυξάνουν ιδιαίτερα έπειτα από οξύ ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και η τοπική εφαρμογή ET-1 σε εγκεφαλικά αγγεία *in vitro* προκαλεί αγγειόσπασμο. Η ET-1 θα μπορούσε να συμβάλλει στην ισχαιμία κατά την απελευθέρωση της από το κατεστραμμένο, υποξικό ενδοθήλιο των εγκεφαλικών αγγείων, έπειτα από θρόμβωση εγκεφαλικού αγγείου και εγκεφαλικό έμφρακτο. Αυτό θα προκαλούσε περαιτέρω βλάβη στο παρέγχυμα του εγκεφάλου ανάλογη της βλάβης που προκαλείται στην καρδιά και στον νεφρό, όπως αναφέρθηκε στα ανωτέρω κεφάλαια.

Η ET-1 συμβάλλει στον αγγειόσπασμο που σχετίζεται με υπαραχνοειδή αιμορραγία. Σε ασθενείς με αγγειόσπασμο, τα επίπεδα της ET-1 στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) είναι ιδιαίτερα αυξημένα και αυξάνονται κατά την έναρξη του σπασμού των αγγείων. Σε κονίκλους, ενδοκοιλιακή έγχυση ET-1 προκαλεί υπαραχνοειδή αιμορραγία ακολουθούμενη από αγγειόσπασμο. Όταν επίμυες υπόκεινται σε πειραματική υπαραχνοειδή αιμορραγία, ο αναμενόμενος αγγειόσπασμος εμποδίζεται σχεδόν ολοκληρωτικά, εφόσον έχουν χορηγηθεί προηγουμένως ανταγωνιστές του υποδοχέα της ενδοθηλίνης. Αυτά τα ευρήματα είναι πολύ σημαντικά διότι η έκταση της εγκεφαλικής βλάβης έπειτα από υπαραχνοειδή αιμορραγία σχετίζεται σημαντικά με το βαθμό αγγειόσπασμου (43-44).

### **1.8.9 Ενδοθηλίνη και Ανοσολογικό Σύστημα**

Έχει αποδειχτεί από κλινικές μελέτες επί ανθρώπων ότι η ενδοθηλίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση πολλών ρευματικών παθήσεων. Αυτές περιλαμβάνουν συστηματικό Σκληρόδερμα (SSc) -γενικευμένο ή σύνδρομο CREST-, πρωτοπαθές και δευτεροπαθές φαινόμενο Raynaud, Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (SLE), νόσο Buerger, αρτηρίτιδα Takayasu και Πολυμυοσίτιδα (45).

### **1.8.10 Ενδοθηλίνη και Αναπτυξιακές Διαταραχές**

Τοπική παραγωγή ET-1 έχει συσχετιστεί με το κλείσιμο του αρτηριακού πόρου κατά τη γέννηση. Αναστολή της παραγωγής και της δράσης της ET-1 από την προστακυκλίνη - ιδιαίτερα από την προσταγλανδίνη - E2 μπορεί να εμποδίσει το πρόωρο κλείσιμο του αρτηριακού πόρου στο έμβρυο. Παραμονή ανοικτού αρτηριακού πόρου σε νεογνά μπορεί να αντιμετωπισθεί αποτελεσματικά με τη χορήγηση ινδομεθακίνης, πιθανώς γιατί αντιστρέφει τους περιορισμούς για την παραγωγή ET-1 και τη δράση των ενδογενών προσταγλανδινών. Επίμυες ομόζυγοι για την έλλειψη ET-1 έχουν σοβαρές ανωμαλίες ανάπτυξης εγκεφαλικού και σπλαχνικού κρανίου που προέρχονται από το πρώτο φαρυγγιακό τόξο. Ο θάνατος των εμβρύων επέρχεται από αναπνευστική ανεπάρκεια κατά τη γέννηση.

Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν υπέρ του σημαντικού ρόλου της ET-1 στην διαφοροποίηση και ανάπτυξη ιστών που προέρχονται από εμβρυϊκά κύτταρα. Ακόμη έχει συζητηθεί ο ρόλος της ET-3 και των υποδοχέων B στην ανάπτυξη των γαγγλιονικών νευρώνων του εντέρου και των μελανοκυττάρων (43-44).

## 2. Αρρυθμιογένεση μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου

### 2.1 Ιοντικές συγκεντρώσεις

Η ισχαιμία του μυοκαρδίου διαταράσσει την λειτουργία των διαύλων και αντλιών, που ελέγχουν την διακίνηση ιόντων διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης. Έτσι, η αναστολή της λειτουργίας της αντλίας  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , αλλά και των διαύλων  $\text{K}^+$  εξαρτώμενων από την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) μειώνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων  $\text{K}^+$ , με αντίστοιχη αύξηση της εξωκυττάριας συγκέντρωσής τους. Η στροφή προς αναερόβια γλυκόλυση, λόγω ένδειας ενδοκυττάριας ATP, προκαλεί συσσώρευση γαλακτικού οξέος και οξέωση. Η (μερική) αντιρρόπηση μέσω της αντλίας  $\text{Na}^+\text{-H}^+$ , αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων  $\text{Na}^+$ , προστιθέμενη στην επίδραση του όψιμου ρεύματος νατρίου. Τα ιόντα  $\text{Na}^+$  ανταλλάσσονται με ιόντα  $\text{Ca}^{2+}$ , μέσω ανάστροφης λειτουργίας του ανταλλαγέα (μεταφορέα)  $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ . Το πλεονάζον ενδοκυττάρια  $\text{Ca}^{2+}$  προκαλεί πρώιμες και καθυστερημένες μετεκπολώσεις του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης, που συμβάλλουν στην αρρυθμιογένεση (46,47).

Μέσα σε λίγα λεπτά από την έναρξη της ισχαιμίας, η παθολογική ιοντική συγκέντρωση ιόντων (κυρίως  $\text{K}^+$ ) προκαλεί αύξηση του δυναμικού ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης στην ισχαιμική περιοχή, σύμφωνα την εξίσωση του Nernst. Με τον μηχανισμό αυτόν, προκύπτει διαφορά δυναμικού κατά την διαστολή μεταξύ της ισχαιμικής περιοχής και της υγιούς περιοχής, που προκαλεί ηλεκτρική ροή, γνωστή ως ρεύμα βλάβης. Το κύμα αυτό της διαστολικής εκπόλωσης έχει κατεύθυνση από το ισχαιμικό μυοκάρδιο (υψηλότερο δυναμικό) προς το φυσιολογικό (χαμηλότερο δυναμικό) (46).



Μετά από μία αρχική παράταση, το δυναμικό ενέργειας τελικά βραχύνεται, κυρίως ως αποτέλεσμα των ενδοκυττάρων και εξωκυττάρων συγκεντρώσεων  $K^+$ . Η διαστολική εκπόλωση της ισχαιμικής περιοχής απενεργοποιεί μέρος των ιοντικών διαύλων  $Na^+$ , μειώνοντας, έτσι, την ταχύτητα αγωγής. Επιπλέον, η (μερική) απενεργοποίηση των ιοντικών διαύλων  $Na^+$  παρατείνει την ανερέθιστη περίοδο, η οποία επεκτείνεται μετά το τέλος του δυναμικού ενέργειας, φαινόμενο γνωστό ως μετα-επαναπολωτική ανερεθιστότητα (46,48-49).

## **2.2 Παράγοντες αρρυθμιογένεσης**

Κατά την διάρκεια της ισχαιμίας συντίθεται και απελευθερώνονται πολλοί παράγοντες, που μεταβάλλουν τις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες του μυοκαρδίου. Από αυτές, καλύτερα μελετημένοι είναι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, η θρομβίνη και η ενδοθηλίνη.

### **Ελεύθερα λιπαρά οξέα**

Η παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων αυξάνεται κατά την ισχαιμία, λόγω καταβολισμού των φωσφολιποειδών της κυτταρικής μεμβράνης, αλλά και λόγω λιπόλυσης υπό την επίδραση της συμπαθητικής διέγερσης. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα παρεμβαίνουν στον οξειδωτικό μεταβολισμό, προκαλούν μικροαγγειακή δυσλειτουργία, και αναστέλλουν την αντλία  $Na^+/K^+$ . Ως αποτέλεσμα των δράσεων αυτών, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα μειώνουν την ενδοκυττάρια συγκέντρωση  $K^+$  και αυξάνουν την αντίσταση των χασματικών συνάψεων. Οι δράσεις αυτές είναι αρρυθμιογόνες, αν και ευρίσκονται ακόμη υπό διερεύνηση (50).

### **Θρομβίνη**

Η θρομβίνη, που παράγεται κατά την διάβρωση ή ρήξη της αθηρωματικής πλάκας, ενεργοποιεί την φωσφολιπάση-A2 στα μυοκαρδιακά κύτταρα της ισχαιμικής περιοχής, αυξάνοντας τελικά την ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων  $\text{Na}^+$  (51). Μετά την οξεία απόφραξη στεφανιαίας αρτηρίας, η παραγωγή ενδοθηλίνης αυξάνεται, προκαλώντας αγγειοσυστολή στα στεφανιαία αγγεία. Επιπλέον, η ενδοθηλίνη αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων  $\text{Ca}^{2+}$  στα μυοκαρδιακά κύτταρα, και, μέσω του μηχανισμού αυτού, μπορεί να προκαλέσει πυροδοτούμενη δραστηριότητα. Τέλος, μέσω των υποδοχέων ETA, η ενδοθηλίνη αλληλεπιδρά με το αυτόνομο νευρικό σύστημα σε πολλαπλά επίπεδα, επιτείνοντας την συμπαθητική διέγερση.

### **2.3 Η διαδικασία της αρρυθμιογένεσης**

Οι μεταβολές της ηλεκτρικής δραστηριότητας του μυοκαρδίου, ως αποτέλεσμα της ισχαιμίας, δημιουργούν το (λειτουργικό) υπόστρωμα για την εμφάνιση κοιλιακών αρρυθμιών. Πολύμορφη κοιλιακή ταχυκαρδία ή κοιλιακή μαρμαρυγή επιπλέκει το 10% (περίπου) των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων, αποτελώντας την συχνότερη αιτία αιφνίδιου θανάτου στον γενικό πληθυσμό. Μία εμμένουσα κοιλιακή ταχυαρρυθμία πυροδοτείται από την εκπόλωση ενός ή περισσότερων έκτοπων κέντρων, και διατηρείται στο λειτουργικό υπόστρωμα που προκαλείται από την ισχαιμική περιοχή (52).

### **Έκτοπα κέντρα**

Οι περισσότερες εστίες έκτοπης ηλεκτρικής δραστηριότητας εντοπίζονται στην ενδιάμεση περιοχή, μεταξύ ισχαιμικού και φυσιολογικού μυοκαρδίου. Οι ίνες του Purkinje είναι ανθεκτικότερες στην ισχαιμία από το υπόλοιπο μυοκάρδιο και εμφανίζουν παθολογικό αυτοματισμό σε όψιμα, κυρίως, στάδια ισχαιμίας. Συνηθέστερα, διαστολική εκπόλωση προκαλείται από το ρεύμα βλάβης προερχόμενο από την ισχαιμική περιοχή (52).

### Πυροδοτούμενη δραστηριότητα

Η αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση  $Ca^{2+}$  στα ισχαιμικά μυοκαρδιακά κύτταρα προκαλεί συχνά πρώιμες ή όψιμες μετεκπολώσεις. Μέσω πυροδοτούμενης δραστηριότητας, εμφανίζεται συχνά μη εμμένουσα πολύμορφη κοιλιακή ταχυκαρδία. Στην εμμένουσα μορφή της, η κοιλιακή ταχυκαρδία εκφυλίζεται σε κοιλιακή μαρμαρυγή, που αποκαλείται και εστιακή, λόγω της προέλευσης της από σχετικά μικρής έκτασης μυοκαρδιακή περιοχή (52).

### Επανείσοδος

Η επανείσοδος αποτελεί τον συνηθέστερο μηχανισμό αρρυθμιογένεσης κατά την διάρκεια της ισχαιμίας, σε έδαφος λειτουργικού υποστρώματος, που προκύπτει από την ανομοιογένεια της ταχύτητας αγωγής και ανερέθιστης περιόδου. Τα λειτουργικά κυκλώματα επανεισόδου σε ισχαιμία έχουν ποικίλη μορφολογία, ενώ η κατάτμησή τους σε μικρότερα συμβάλλει στη διατήρηση της ταχυκαρδίας (52).

## **2.4 Αυτόνομο Νευρικό Σύστημα και Αρρυθμιογένεση**

Η αυτόνομη νεύρωση της καρδιάς αποτελείται από τη συμπαθητική και την παρασυμπαθητική, και εμφανίζει ασύμμετρη κατανομή. Τα δεξιά συμπαθητικά και παρασυμπαθητικά νεύρα επηρεάζουν περισσότερο το φλεβόκομβο, ενώ τα αριστερά περισσότερο τον κολποκοιλιακό κόμβο (53).

### Συμπαθητική νεύρωση

Οι συμπαθητικές προγαγγλιακές ίνες που νευρώνουν την καρδιά ξεκινούν από τη θωρακική μοίρα του συμπαθητικού στελέχους και καταλήγουν στα αυχενικά γάγγλια και στο θωρακοαυχενικό γάγγλιο. Από τα γάγγλια αυτά εκπορεύονται νευρικές ίνες που ενώνονται με τις ίνες του πνευμονογαστρικού, και σχηματίζουν τα καρδιακά πλέγματα, τα οποία παρέχουν τις νευρικές απολήξεις της καρδιάς.

Το συμπαθητικό νευρικό σύστημα αυξάνει την συχνότητα εκπόλωσης του φλεβόκομβου, όπως και τον αυτοματισμό των κολπικών και κοιλιακών μυοκαρδιακών κυττάρων. Επίσης, αυξάνει την ισχύ της μηχανικής συστολής και την ταχύτητα αγωγής στον κολποκοιλιακό κόμβο, μειώνοντας την ανερέθιστη περίοδο των κυττάρων του. Η επίδραση της διέγερσης του συμπαθητικού ασκείται μέσω της ενεργοποίησης των διαύλων  $Ca^{2+}$  τύπου L. Η ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος προάγει την φωσφορυλίωση πολλών ενδοκυττάρων πρωτεϊνών. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω τόσο της πρωτεϊνικής κινάσης όσο και της καλμοδουλίνης. Οι υποδοχείς μέσω των οποίων ασκεί τη δράση του το συμπαθητικό σύστημα καλούνται αδρενεργικοί υποδοχείς, και ενεργοποιούνται από την επινεφρίνη και την νορεπινεφρίνη. Οι αδρενεργικοί υποδοχείς βρίσκονται παντού στην καρδιά. Στο ενδοθήλιο των αγγείων, οι  $\alpha_1$ -αδρενεργικοί υποδοχείς προκαλούν αγγειοσύσπαση. Στο μυοκάρδιο των κοιλιών, οι  $\alpha_1$ -αδρενεργικοί υποδοχείς συνδέονται με τις Gq-πρωτεΐνες, οι οποίες, μόλις ενεργοποιηθούν, διασπούν την 4-5 διφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη σε διακυγλυκερόλη και τριφωσφορική ινοσιτόλη (54).

Οι  $\beta$ -αδρενεργικοί υποδοχείς αποτελούν τους κύριους υποδοχείς του συμπαθητικού νευρικού συστήματος στη καρδιά. Στο φυσιολογικό μυοκάρδιο, επικρατούν οι τύπου  $\beta_1$ - αδρενεργικοί υποδοχείς, ενώ, σε παθολογικές καταστάσεις, αυξάνεται η έκφραση των  $\beta_2$ - αδρενεργικών υποδοχέων. Οι  $\beta_2$ -αδρενεργικοί υποδοχείς συνδέονται είτε με τις ενδοκυττάρια πρωτεΐνες Gs είτε με τις Gi. Με αυτό τον τρόπο, ενεργοποιείται η αδενυλική κυκλάση και αυξάνονται τα επίπεδα της cAMP, η οποία, με τη σειρά της, ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση A. Η τελευταία τροποποιεί τη διακίνηση του  $Ca^{2+}$ .

Το συμπαθητικό νευρικό σύστημα επιταχύνει την ενεργητική χάλαση του μυοκαρδίου, μειώνοντας την ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων  $Ca^{2+}$  μετά την ολοκλήρωση της μηχανικής συστολής. Η επιτάχυνση της ενεργητικής χάλασης προκαλείται από την φωσφορυλίωση της τροπονίνης I, επιταχύνοντας έτσι την αποδέσμευση του  $Ca^{2+}$  από το σύμπλεγμα των τροπονινών.

Κυρίως όμως, η φωσφορυλίωση της φωσφολαμβάνης επιταχύνει την επαναπρόσληψη  $Ca^{2+}$  στο σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο, αυξάνοντας το  $Ca^{2+}$  που είναι διαθέσιμο για την επόμενη συστολή.

Ο ρόλος του συμπαθητικού νευρικού συστήματος στην αρρυθμογένεση κατά την οξεία ισχαιμία έχει περιγραφεί από πολλά χρόνια. Η αυξημένη έκκριση νορεπινεφρίνης, και κυρίως επινεφρίνης, από τον μυελό των επινεφριδίων προκαλεί αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης  $Ca^{2+}$ , και αρρυθμίες από πυροδοτούμενη δραστηριότητα λόγω πρώιμων και όψιμων μετεκπολώσεων. Επίσης, κατά την ισχαιμία, προκαλούνται σημαντικές μεταβολές στην απέκκριση της νορεπινεφρίνης από τις νευρικές απολήξεις του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Η παρατεταμένη ισχαιμία προκαλεί αναστολή της επαναπρόσληψης νορεπινεφρίνης, με αποτέλεσμα την τεράστια αύξηση της εξωκυττάριας συγκέντρωσης της νορεπινεφρίνης (55).

### Παρασυμπαθητική νεύρωση

Η παρασυμπαθητική νεύρωση της καρδιάς προέρχεται από το πνευμονογαστρικό νεύρο. Οι προγαγγλιακές καρδιακές ίνες του πνευμονογαστρικού καταλήγουν στο καρδιακό πλέγμα, από όπου εκπορεύεται η παρασυμπαθητική καρδιακή νεύρωση. Η διέγερση του δεξιού πνευμονογαστρικού νεύρου επιβραδύνει τη συχνότητα εκπόλωσης του φλεβοκόμβου, προκαλώντας φλεβοκομβική βραδυκαρδία ή και φλεβοκομβική παύση. Η διέγερση του αριστερού πνευμονογαστρικού νεύρου, κυρίως, μειώνει την ταχύτητα αγωγής και αυξάνει την ανερέθιστη περίοδο του κολποκοιλιακού κόμβου. Οι υποδοχείς μέσω των οποίων ασκεί τη δράση του το παρασυμπαθητικό καλούνται μουσκαρινικοί υποδοχείς, οι οποίοι ενώνονται με την ακετυλχολίνη. Έχουν περιγραφεί τρεις τύποι μουσκαρινικών υποδοχέων. Ο πρώτος τύπος, M1, βρίσκεται στις νευρικές απολήξεις, ο δεύτερος τύπος, M2, στη καρδιά, και ο τρίτος, M3, στο αγγειακό ενδοθήλιο. Το κοιλιακό μυοκάρδιο έχει πολύ λίγους μουσκαρινικούς υποδοχείς. Οι μουσκαρινικοί υποδοχείς ενώνονται με τις πρωτεΐνες  $G_i$ , η ενεργοποίηση των οποίων αναστέλλει την αδενυλική κυκλάση (55,56).

**2<sup>ο</sup> ΜΕΡΟΣ-**

**ΕΙΔΙΚΟ**

**ΜΕΡΟΣ**

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο αιφνίδιος καρδιαγγειακός θάνατος (sudden cardiac death-SCD) αποτελεί περίπου το 10% όλων των θανάτων από φυσικά αίτια και είναι ένα μείζον πρόβλημα για την παγκόσμια υγεία (57). Περίπου το 80% των SCD είναι αποτέλεσμα πολύμορφης κοιλιακής ταχυκαρδίας (ventricular tachycardia-VT) και κοιλιακής μαρμαρυγής (ventricular fibrillation-VF) λόγω οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου (57). Εξαιτίας του υψηλού επιπολασμού της στεφανιαίας νόσου, ο ετήσιος αριθμός SCD στον γενικό πληθυσμό είναι 250/1000000, με τα ποσά να παραμένουν σταθερά κατά την τελευταία δεκαετία (58).

Η αρρυθμιογένεση μετά από AMI συχνά ακολουθεί ένα διφασικό πρότυπο (59), με την εμφάνιση των κοιλιακών αρρυθμιών (ventricular arrhythmias-VAs) πρώιμα, γεγονός που ενοχοποιείται για τις περισσότερες περιπτώσεις θανάτων, λόγω της έλλειψης ιατρικής φροντίδας κατά τη χρονική αυτή περίοδο (57,58).

Η μυοκαρδιακή ισχαιμία εισάγει διφασικές αλλαγές σε ηλεκτροφυσιολογικό επίπεδο, οι οποίες επηρεάζουν τόσο το φυσιολογικό όσο και το ισχαιμικό μυοκάρδιο (60). Σύντομα μετά από την οξεία απόφραξη της στεφανιαίας κυκλοφορίας, αυξάνεται η εξωκυττάρια συγκέντρωση  $K^+$ , δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο μία περιοχή βλάβης στον φυσιολογικό μυοκαρδιακό ιστό, με αποτέλεσμα την εκπόλωση των μυοκαρδιακών κυττάρων.

Ακόμη, κατά τη φάση της ισχαιμίας μειώνεται η αγωγιμότητα των διαύλων  $Na^+$  και ως εκ τούτου επηρεάζεται το δυναμικό ενέργειας των κυτταρικών μεμβρανών με μείωση του εύρους και της κλίσης κατά την φάση 0. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μείωση στη συσπαστικότητα του μυοκαρδίου, καθώς και την επιβράδυνση της αγωγής του ερεθίσματος (60).

Επιπρόσθετα, κατά την οξεία φάση της απόφραξης μίας ή περισσότερων στεφανιαίων αρτηριών, επιτελούνται αλλαγές που αφορούν στη διάρκεια του δυναμικού ενεργείας στην ισχαιμική μυοκαρδιακή ζώνη και με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ετερογένεια ως προς την επαναπόλωση των μυοκαρδιακών κυττάρων (61), με επακόλουθο της ενεργοποίηση μηχανισμών παθολογικού αυτοματισμού και πυροδοτούμενης δραστηριότητας και την εισαγωγή εμμενουσών μορφών VAs μέσω μηχανισμών επανεισόδου μεταξύ φυσιολογικού και ισχαιμικού μυοκαρδιακού ιστού.

Η αναγνώριση και μελέτη των παραγόντων που προδιαθέτουν σε VAs κατά τη διάρκεια του AMI έχουν γίνει αντικείμενα έρευνας για πολλές 10ετίες (58). Συγκεκριμένα, το θετικό οικογενειακό ιστορικό SCD είναι πολύ συχνό σε αυτούς τους ασθενείς (62), γεγονός που μαρτυρά το γενετικό υπόβαθρο που επικρατεί (63). Η επίπτωση των VAs φαίνεται να αυξάνεται σε περιπτώσεις αυξημένου μεγέθους εμφράγματος (infarct size-IS) (64), όπως αποδεικνύουν αγγειογραφικές μελέτες, που δείχνουν ότι ασθενείς που υπέστησαν καρδιακή ανακοπή (cardiac arrest-CA) μετά από AMI είναι πολύ πιθανό να εμφανίζουν βλάβες (στενώσεις ή αποφράξεις) σε εγγύς παρά σε άπω τμήματα των στεφανιαίων αρτηριών (65). Ως IS ορίζεται το ηλικίο επί της % της εμφραγματικής περιοχής προς της περιοχής της αριστερής κοιλίας, η οποία βρίσκεται σε κίνδυνο.

Πολύ σύντομα μετά την πρώτη αναφορά στο μόριο της ενδοθηλίνης-1 (endothelin-1 – ET-1), προσδιορίστηκαν ποσοτικά τα επίπεδα αυτής σε ασθενείς με AMI, τα οποία φάνηκαν αυξημένα (66). Μετά την οξεία φάση της απόφραξης παρατηρείται το peak των επιπέδων της ET-1, η οποία επανέρχεται σε φυσιολογικές τιμές περίπου στις 24ώρες, με εξαίρεση ορισμένες περιπτώσεις ασθενών με συνεχή ισχαιμία ή οξεία ανεπάρκεια της αριστερής κοιλίας, όπου αυτά παραμένουν σε υψηλά επίπεδα για μεγαλύτερες χρονικά περιόδους (58).



Μελέτες έχουν αποδείξει τις άμεσες ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες της ET-1 μέσω ενεργοποίησης των διαύλων  $Ca^{2+}$  (68). Κατά τη φάση της οξείας ισχαιμίας αναφέρονται διφορούμενα αποτελέσματα σχετικά με τη δράση της ET-1 και, επίσης, μελέτες περιγράφουν τις αρρυθμιολογικές ιδιότητες της ET-1, ανεξάρτητα από τον αγγειοσυσπαστικό μηχανισμό. Συγκεκριμένα, σε *in vivo* μοντέλα κύνων, μικρή δόση χορηγούμενης εξωγενούς ET-1 οδήγησε σε σοβαρές VAs, χωρίς να παρατηρούνται διαταραχές στη στεφανιαία ροή ή σημεία μυοκαρδιακής ισχαιμίας (69). Επίσης, χαμηλή δόση ET-1 χορηγούμενη ενδοστεφανιαία (70) ή περικαρδιακά (71) σε *in vivo* μελέτες, φάνηκε πως πυροδοτεί τις VAs μέσω φλεγμονωδών διαδικασιών λόγω παράτασης του δυναμικού ενεργείας. Τέλος, τα διαφορετικά χαρακτηριστικά της διαδικασίας της κοιλιακής αρρυθμογένεσης μελετήθηκαν μετά από εξωγενή χορήγηση ET-1 και επαγωγή της μυοκαρδιακής ισχαιμίας και έτσι χαρακτηρίστηκαν τα διαφορετικά πρότυπα ενεργοποίησης τόσο στο φυσιολογικό όσο και στο ισχαιμικό μυοκάρδιο (72).

Το ερώτημα που προκύπτει από τα παραπάνω είναι αν οι ανταγωνιστές των υποδοχέων της ET-1 μπορούν να προσφέρουν αντιαρρυθμικές ιδιότητες κατά τη φάση του AMI (73). Αυτό έχει εξετασθεί σε πληθώρα μελετών (74), αλλά τα συμπεράσματα είναι αντιφατικά, εξαιτίας διαφορετικών πειραματικών πρωτοκόλλων και ιδιοτήτων, καθώς και λόγω των διαφορετικών μηχανισμών της ενδογενούς από την εξωγενή χορήγηση ET-1. Ακόμη πιο σημαντικό είναι το γεγονός πως αυτές οι μελέτες αφορούν σε μικρές περιόδους καταγραφής. Ακόμη, μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί τονίζουν τον πολύπλοκο μηχανισμό αλληλεπίδρασης μεταξύ ET-1 και συμπαθητικού νευρικού συστήματος.

Τα αποτελέσματα της δράσης των υποδοχέων της ET-1 περιγράφηκαν σε μοντέλο επιμύων (75). Πιο συγκεκριμένα, ο προστατευτικός ρόλος των ETB-υποδοχέων ασκείται μέσω αναστολής αυτών. Μία ακόμα μελέτη (76), απέδειξε πως η αναστολή των ETA-υποδοχέων μειώνει την απελευθέρωση νοραδρεναλίνης, ενώ από την άλλη πλευρά ένα λιγότερο δραστικό αποτέλεσμα φάνηκε όσον αφορά την ταυτόχρονη αναστολή των ETA- και ETB-υποδοχέων.

Μετά την φάση της οξείας ισχαιμίας, κατά την παρατεταμένη απόφραξη των στεφανιαίων παρατηρείται προοδευτική νέκρωση του μυοκαρδίου (77). Η χρονική περίοδος του εμφράγματος του μυοκαρδίου αποτελεί τη δεύτερη αρρυθμιογόνο φάση που έχει περιγραφεί σε πειραματικά μοντέλα ζώων (58). Ένα παρόμοιο μοτίβο πρόκλησης της κοιλιακής αρρυθμιογένεσης επικρατεί και στο ανθρώπινο είδος. Επίσης, η καθυστερημένη εμφάνιση VAs μετά από AMI είναι σημαντική, καθώς αφορά όχι μόνο ασθενείς που προσέρχονται στα νοσοκομεία καθυστερημένα, αλλά και νοσηλευόμενους, οι οποίοι εμφανίζουν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας και θνητότητας παρά την παρέλευση της οξείας φάσης των πρώτων 24ωρών (62).

Συμπερασματικά, η κοιλιακή αρρυθμιογένεση που εμφανίζεται κατά το AMI αποτελεί έναν πολύ σημαντικό στόχο της ιατρικής φροντίδας και παρέμβασης, ο οποίος ακόμα δεν έχει πλήρως διερευνηθεί.

## **2. ΣΚΟΠΟΣ**

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας, η οποία έχει τη μορφή της συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης είναι να μελετήσει και να αναλύσει το ρόλο της ET-1 στην κοιλιακή αρρυθμιογένεση κατά τη διάρκεια AMI. Πιο συγκεκριμένα, μελετώνται 3 κατηγορίες αποτελεσμάτων σχετικά με την παρουσία ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1: η συνολική διάρκεια των VAs, όπως αυτές καταγράφονται, το μέγεθος του εμφράγματος και η συνολική θνητότητα που οφείλεται σε ταχυαρρυθμιογένεση.

### **3. ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ**

Η επιστημονική μέθοδος η οποία εφαρμόστηκε για την εκτέλεση της παρούσας έρευνας είναι η συστηματική ανασκόπηση της επιστημονικής βιβλιογραφίας και η εκτεταμένη και λεπτομερής αναζήτηση των δικτυακών τόπων. Παρακάτω αναφέρονται διάφοροι ορισμοί που έχουν δοθεί για την συστηματική ανασκόπηση.

Ο ορισμός της συστηματικής ανασκόπησης που έχει αποδοθεί από τον Chalmers and Altman το 1995 είναι ο εξής: Η ανασκόπηση που έχει πραγματοποιηθεί με συστηματικό τρόπο στοχεύοντας στην ελαχιστοποίηση των προκαταλήψεων και των τυχαίων σφαλμάτων που τεκμηριώνεται στο τμήμα της μεθοδολογίας. Ενώ ένας ακόμη ορισμός για τη διαδικασία της συστηματικής ανασκόπησης είναι ο κάτωθι: συνοπτικές περιλήψεις των καλύτερα διαθέσιμων αποδεικτικών στοιχείων που απευθύνονται σε ευκρινείς ερευνητικές ερωτήσεις. Ακόμη, με τον όρο συστηματική ανασκόπηση εννοούμε την ανασκόπηση της υπάρχουσας έρευνας που αφορά σαφώς διατυπωμένα ερωτήματα και χρησιμοποιεί συστηματικά και ρητά κριτήρια για τον εντοπισμό, την επιλογή και την κριτική αποτίμηση των σχετικών ερευνών, και για την συλλογή και ανάλυση των δεδομένων των μελετών που περιλαμβάνονται στην ανασκόπηση. (78)

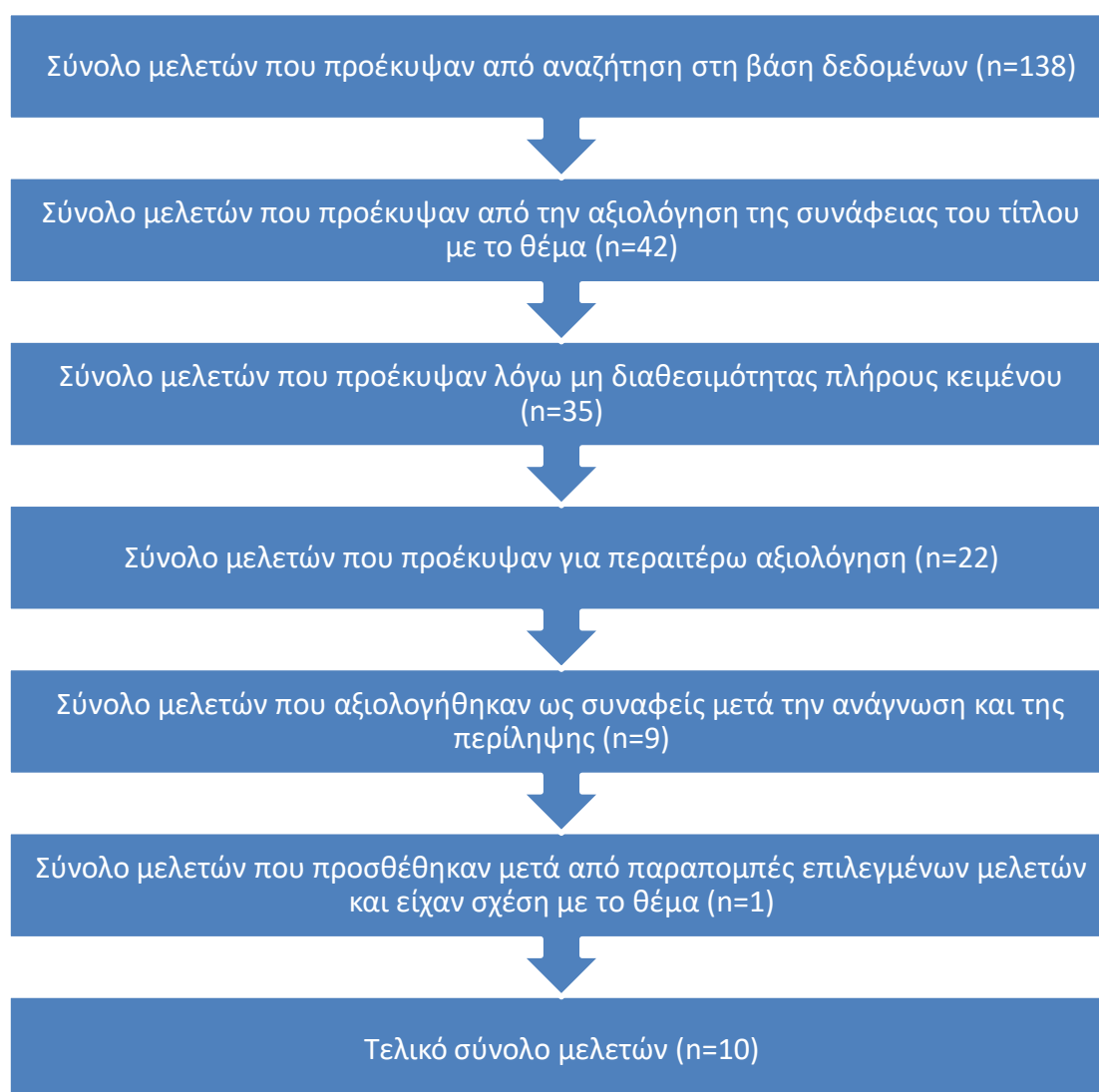
Συνοψίζοντας με τον όρο συστηματική ανασκόπηση εννοούμε την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας με προκαθορισμένα κριτήρια σχετικά με την ερευνητική υπόθεση, στοχεύοντας στην αναγνώριση, επιλογή, εκτίμηση, σύνθεση και κριτική ανάλυση των πρωτογενών μελετών και των καλύτερα μεθοδολογικά σχεδιασμένων μελετών, στοχεύοντας στην αποσαφήνιση συγκεκριμένων θεμάτων και στην αναζήτηση νέων κατευθύνσεων στην έρευνα.

Η μεθοδολογία που ακολουθήσαμε για την εφαρμογή της συστηματικής ανασκόπησης (79) ήταν η κάτωθι:

- Προσδιορισμός ερευνητικού ερωτήματος με σαφήνεια.
- Καθορισμός κριτηρίων εισαγωγής και αποκλεισμού (συμμετέχοντες και χαρακτηριστικά συμμετεχόντων, είδος παρέμβασης, κλινικά κριτήρια).
- Αναζήτηση και εντοπισμός της βιβλιογραφίας με συστηματικό τρόπο.
- Χρησιμοποίηση αλγορίθμου αναζήτησης (στρατηγική αναζήτησης) και διερεύνηση της κατάλληλης βιβλιογραφίας σε συγκεκριμένες ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων.
- Επιλογή των κατάλληλων μελετών που προέκυψαν από την αναζήτηση της βιβλιογραφίας και αιτιολόγηση των μελετών που αποκλείστηκαν, βασιζόμενοι στα κριτήρια εισαγωγής και αποκλεισμού
- Αποτίμηση της μεθοδολογικής ποιότητας των πρωτογενών μελετών.
- Καταγραφή των δεδομένων (άντληση των απαραίτητων στοιχείων και χαρακτηριστικών από τις μελέτες που προέκυψαν με συστηματικό τρόπο).
- Ανάλυση των δεδομένων (περιγραφική ανάλυση των αποτελεσμάτων από τη διαδικασία της συστηματικής ανασκόπησης της βιβλιογραφίας).
- Παρουσίαση των αποτελεσμάτων (Σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων)
- Ερμηνεία των αποτελεσμάτων (Συζήτηση των αποτελεσμάτων, εξαγωγή συμπερασμάτων).

Για την αναζήτηση της σχετικής βιβλιογραφίας χρησιμοποιήθηκαν βάσεις δεδομένων όπως η PubMed και η Google Scholar καθώς και βιβλία και άρθρα επιστημονικών περιοδικών. Το ενδιαφέρον εντοπίστηκε σε διεθνείς δημοσιευμένες έρευνες 1991-2019 χρησιμοποιώντας κάποιους από τους ακόλουθους όρους αναζήτησης «endothelin», «endothelin receptor», «endothelin receptor antagonist», «endothelin receptor blockage», «arrhythmias», «arrhythmogenesis» or «myocardial infarction».

Αναγκαία προϋπόθεση για τη συστηματική αναζήτηση σχετικών και κατάλληλων δημοσιεύσεων είναι ο καθορισμός των όρων ευρετηριασμού. Συνεπώς έπρεπε να χρησιμοποιηθούν λέξεις κλειδιά (mesh terms) και τηρήθηκε αναλυτικός αλγόριθμος αναζήτησης και απεικόνισης των βημάτων της ανασκόπησης της βιβλιογραφίας (search strategy- flowchart) (Διάγραμμα 1). Για να αυξηθούν τα πιθανά αποτελέσματα της αναζήτησης και ο αριθμός των υπό αξιολόγηση άρθρων χρησιμοποιήθηκαν και συνώνυμες φράσεις ή και συνδυασμός λέξεων με τη χρήση των όρων «and», «or».



**Διάγραμμα 1:** Μεθοδολογία της συστηματικής ανασκόπησης

### **Κριτήρια ένταξης**

Τα άρθρα τα οποία συμπεριλήφθηκαν στην εργασία έπρεπε να πληρούν τα παρακάτω κριτήρια:

1. Δημοσιευμένα άρθρα σε επιστημονικά περιοδικά ή εφημερίδες ή στο Διαδίκτυο από διεθνείς ή διακυβερνητικούς οργανισμούς από το 1991 μέχρι το 2019, τα οποία περιγράφουν και αναλύουν δεδομένα σχετικά με το ρόλο της ενδοθηλίνης στην κοιλιακή αρρυθμιογένεση μετά από AMI, καθώς και τον ρόλο των ανταγωνιστών των υποδοχέων αυτής στην προσπάθεια πρόληψης και αντιμετώπισης των VAs.
2. Αποδεκτή γλώσσα αναζήτησης των άρθρων ήταν η Αγγλική.
3. Άρθρα που αναφέρονται απαραίτητα στον ρόλο των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 ως προς τη διάρκεια των VAs, το μέγεθος της εμφραγματικής περιοχής και τη συνολική θνητότητα έγιναν αποδεκτά.
4. Άρθρα που κάνουν αναφορά στη διάρκεια των VAs στα επιμέρους χρονικά διαστήματα έγιναν αποδεκτά.
5. Άρθρα που συμπεριλαμβάνουν τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες σε πειραματόζωα και συγκεκριμένα σε επιμύες, λόγω την συνάφειας των μηχανισμών αρρυθμιογένεσης με αυτών του ανθρώπου.

### **Κριτήρια αποκλεισμού**

Τα κριτήρια αποκλεισμού των μη αποδεκτών μελετών ήταν τα κάτωθι:

1. Άρθρα των οποίων το πλήρες κείμενο δεν ήταν διαθέσιμο στα Αγγλικά αποκλείστηκαν.
2. Άρθρα τα οποία δεν κάλυπταν το αποδεκτό εύρος χρονικής περιόδου (1991-2019) αποκλείστηκαν επίσης από την μελέτη.

3. Μελέτες των οποίων ο πληθυσμός αναφοράς δεν αφορούσε επιμύες αποκλείστηκαν από τη συστηματική ανασκόπηση και τη μετα-ανάλυση, όπως για παράδειγμα κλινικές δοκιμές στο ανθρώπινο είδος, με σκοπό τη μείωση της ετερογένειας των μελετών.

Η δεύτερη μέθοδος η οποία χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία είναι η μετα-ανάλυση των δεδομένων. Πιο συγκεκριμένα ο τύπος της μετα-ανάλυσης ήταν η προγραμματισμένη μετα-ανάλυση δεδομένων από δημοσιευμένες μελέτες που αποτελούσε μέρος του πρωτοκόλλου (79).

Ο ορισμός που έχει αποδοθεί για την μετα-ανάλυση είναι ο εξής: μια ποσοτική ανασκόπηση και σύνθεση αποτελεσμάτων, ομοίων αλλά ανεξάρτητων μελετών, δηλαδή μια ποσοτική προσέγγιση για την συστηματική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων προηγούμενης έρευνας, με στόχο να φτάσει σε συμπεράσματα για το σύνολο της έρευνας. Η μετα-ανάλυση ορίζεται, επίσης, ως μια ποσοτική και επίσημη επιδημιολογική μελέτη σχεδιασμού, η οποία χρησιμοποιείται για την συστηματική αξιολόγηση των προηγούμενων ερευνών, ώστε να οδηγήσουν σε ένα συνολικό αποτέλεσμα, με στόχο την εξαγωγή συμπερασμάτων (80).

Ειδικότερα στην στατιστική, με τον όρο μετα-ανάλυση εννοούμε μια μαθηματική διαδικασία, η οποία συνδυάζει με στατιστικό τρόπο τα αποτελέσματα των μεμονωμένων μελετών που επιλέχθηκαν από την διαδικασία της συστηματικής ανασκόπησης, για να ελέγξει τα συγκεντρωτικά στοιχεία ως προς την στατιστική σημαντικότητα (80).

Η μεθοδολογία η οποία ακολουθήθηκε για την εφαρμογή της μετα-ανάλυσης (81) ήταν η εξής:

- Προσδιορισμός ερωτημάτων (υπάρχει ήδη από την συστηματική ανασκόπηση)
- Έλεγχος πλήρωσης των κριτηρίων για την μετα-ανάλυση (εκπλήρωση κριτηρίων εισαγωγής και αποκλεισμού που εφαρμόστηκαν στην ανασκόπηση, διαθεσιμότητα των εξαγόμενων δεδομένων ή αποτελεσμάτων).
- Δημιουργία στατιστικών δεικτών για την μέτρηση συνολικών αποτελεσμάτων.
- Έλεγχος σφάλματος δημοσίευσης (publication bias). Παρουσίαση διαγράμματος χοάνης (funnel plot). Το σφάλμα δημοσίευσης οφείλεται, συνήθως, στο γεγονός ότι οι μελέτες που περιέχουν θετικά ευρήματα είναι πιο πιθανό να δημοσιευτούν από εκείνες με αρνητικά ευρήματα
- Ανάλυση δεδομένων. Έλεγχος ομοιογένειας ή ετερογένειας των μελετών. Η διαπίστωση της ομοιογένειας πραγματοποιήθηκε με βάση:
  1. Εξέταση του forest plot
  2.  $I^2$  statistic,  $I^2 = (Q - n + 1) / Q \times 100\%$  (Αν  $I^2 > 50\%$ : αυξημένη ετερογένεια).

### **Γραφική διερεύνηση της ετερογένειας**

Η παρουσίαση των αποτελεσμάτων της μετα-ανάλυσης πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του forest plot. Στο γράφημα αυτό, απεικονίζονται τα διαστήματα εμπιστοσύνης της επίδρασης του μελετώμενου δείκτη σε κάθε μελέτη με μια οριζόντια γραμμή. Σε κάθε διάστημα εμπιστοσύνης, το σημείο στο οποίο αντιστοιχεί η τιμή του κάθε δείκτη της μελέτης, συμβολίζεται με έναν κύκλο, ενώ η διάμετρος του είναι ανάλογη με το αντίστοιχο βάρος της μελέτης. Όσο πιο μεγάλος είναι ο κύκλος στο κέντρο του διαστήματος της μελέτης, τόσο μεγαλύτερη ακρίβεια υπάρχει.



Το σφάλμα μεροληψίας δημοσίευσης ελέγχθηκε με τη δοκιμασία του Egger (82,83). Η παρουσία ετερογένειας μελετήθηκε με το δείκτη  $I^2$ . Για τιμές του  $I^2$  πάνω από 50% θεωρήθηκε σημαντική η ετερογένεια (84). Ο μέσος σταθμισμένος σχετικός κίνδυνος υπολογίστηκε με τη χρήση μοντέλων σταθερών επιδράσεων (αν δεν υπήρχε σημαντική ετερογένεια στις μελέτες) ή τυχαίων επιδράσεων (αν υπήρχε σημαντική ετερογένεια στις μελέτες) (85). Υπολογίστηκαν σχετικοί λόγοι (Odds ratio) με τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης τους (95% ΔΕ). Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα και η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0,05. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα STATA 11.0.

#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην μετα-ανάλυση περιλήφθηκαν 10 μελέτες οι οποίες πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής και για τις οποίες υπήρχαν στοιχεία για τον υπολογισμό των τελικών σημείων της μελέτης.

Στον Πίνακα 3 περιγράφονται οι εργασίες που συμμετείχαν στην μετα-ανάλυση:

<b>Συγγραφείς</b>	<b>Χρόνος δημοσίευσης</b>	<b>Ομάδα Ελέγχου N</b>	<b>Ομάδα Φαρμάκου N</b>	<b>Σύνολο N</b>
Oikonomidis et al 2010	2010	63	61	124
Kolettis et al 2017	2017	32	24	56
Watanabe et al 1991	1991	13	9	24
Richard et al 1994	1994	10	8	18
Kolettis et al 2015	2015	20	20	40
Kolettis et al 2007	2007	23	24	47
Hong et al 2003	2003	7	7	14
Kolettis et al 2014	2014	15	15	30
Baltogiannis et al 2005	2005	18	17	35
Geshi et al 1999	1999	5	56	10

**Πίνακας 3:** Μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στην μετα-ανάλυση (53, 86-94)

Οι 10 μελέτες συμπεριλαμβάνουν συνολικά 398 επίμυες.

Η περίοδος παρακολούθησης για κάθε μελέτη φαίνεται ακολούθως στον Πίνακα 4:

<b>Μελέτη</b>	<b>Περίοδος παρακολούθησης</b>
Oikonomidis et al 2010	24 h
Kolettis et al 2017	24h
Watanabe et al 1991	24h
Richard et al 1994	Not reported
Kolettis et al 2015	24h
Kolettis et al 2007	24h
Hong et al 2003	60min
Kolettis et al 2014	24h
Baltogiannis et al 2005	24h
Geshi et al 1999	60min

**Πίνακας 4:** Περίοδος παρακολούθησης μελετών (53, 86-94)

Τα καταληκτικά σημεία που βρέθηκαν να αναφέρονται σε αρκετό αριθμό εργασιών και αναλύθηκαν στην παρούσα μελέτη είναι

- *η διάρκεια VT/VF επεισοδίων (από όλες τις φάσεις),*
- *το μέγεθος του εμφράγματος*
- *η θνητότητα που οφείλεται σε κοιλιακές ταχυαρρυθμίες.*

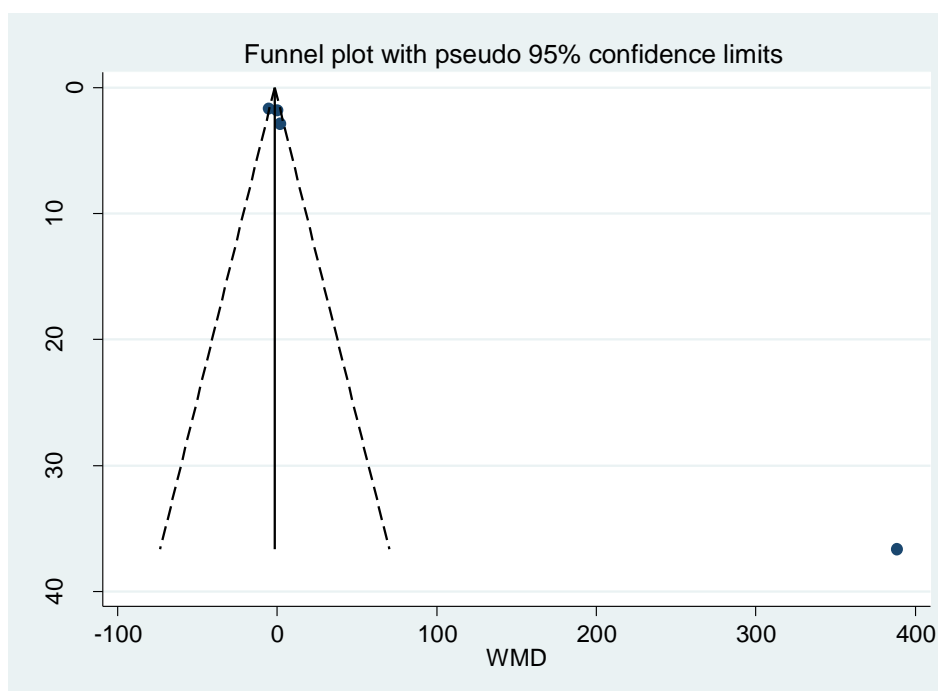
▪ Διάρκεια VT/VF επεισοδίων

Στο Πίνακα 5 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι για τη διάρκεια VT/VF επεισοδίων από 4 μελέτες όπου ήταν διαθέσιμοι:

Μελέτη	Ομάδα ελέγχου		Ομάδα φαρμάκου	
	Μέση Τιμή (mean)	Τυπική Απόκλιση (SD)	Μέση Τιμή (mean)	Τυπική Απόκλιση (SD)
Kolettis et al 2015	26,1	18,9	414,6	162,8
Kolettis et al 2007	14,1	4,8	14,1	7,6
Hong et al 2003	21	3	23	7
Baltogiannis et al 2005	7,4	7,16	2,3	1,37

**Πίνακας 5:** Μέσοι όροι συνολικής διάρκειας των επεισοδίων VAs (53, 90, 91, 93)

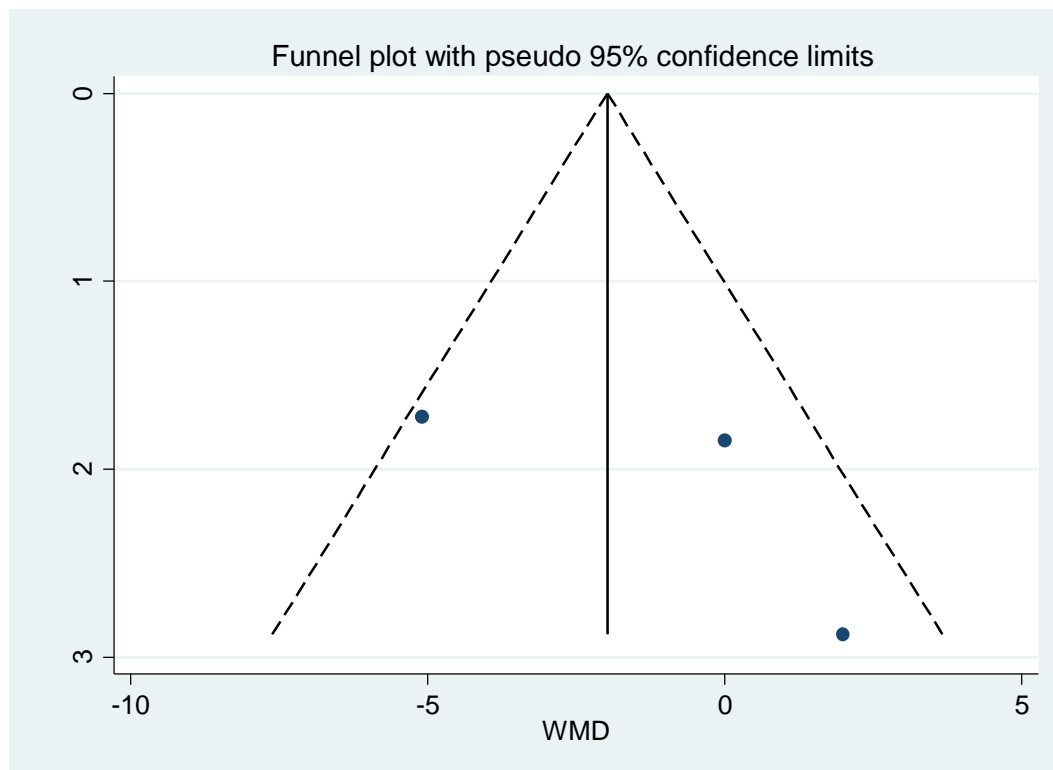
Ακολουθεί στο Διάγραμμα 2 το διάγραμμα του ανεστραμμένου χωνιού (funnel plot) για το σφάλμα δημοσίευσης (publication bias) των 4 μελετών που αναφέρονται στη διάρκεια VT/VF επεισοδίων:



**Διάγραμμα 2:** Funnel plot για το σφάλμα δημοσίευσης των 4 μελετών

Από το ανωτέρω γράφημα φαίνεται να υπάρχει κάποιο σφάλμα το οποίο είναι στατιστικά σημαντικό σύμφωνα με το Egger' s test (bias coefficient=-10,49, SE=1,91,  $p=0.032$ ) για αυτό και αποφασίστηκε να αφαιρεθεί η μελέτη των Kolettis και συν. του 2015 που εμφανίζει ιδιαίτερες αποκλίσεις στις τιμές.

Ακολουθεί στο Διάγραμμα 3 το funnel plot για το σφάλμα δημοσίευσης (publication bias) των 3 μελετών που αναφέρονται στη διάρκεια VT/VF επεισοδίων:

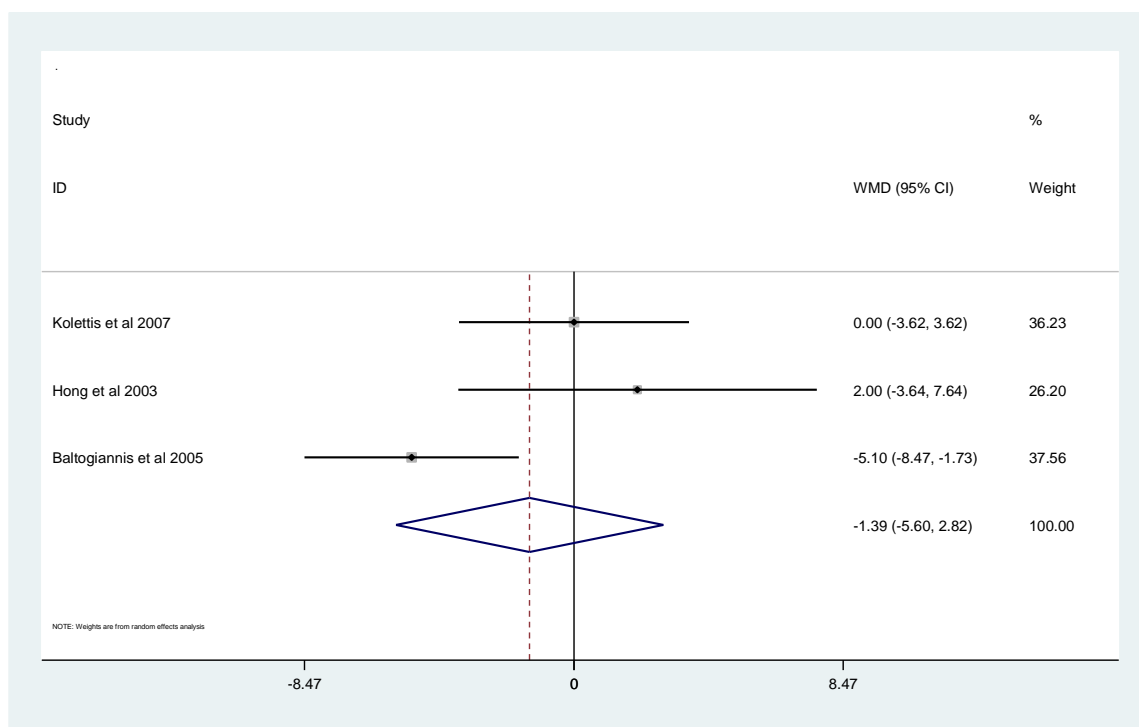


**Διάγραμμα 3:** Funnel plot για το σφάλμα δημοσίευσης των 3 μελετών

Από το ανωτέρω γράφημα δεν φαίνεται να υπάρχει κάποιο σφάλμα και, επίσης, δεν είναι στατιστικά σημαντικό σύμφωνα με το Egger' s test (bias coefficient=5,02, SE=5,05,  $p=0.502$ )

Έγινε έλεγχος ετερογένειας η οποία αναδείχτηκε ως στατιστικά σημαντική (Test for heterogeneity:  $Q = 6,35$ ,  $p=0.042$ ,  $I^2 = 68,5\%$ ) και για αυτό επιλέχθηκε μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random) για τον υπολογισμό της συνδυασμένης μέσης διαφοράς (Mean Difference=MD).

Η μέση διαφορά μεταξύ ομάδας του φαρμάκου και ομάδας ελέγχου στη διάρκεια των επεισοδίων, από κάθε μελέτη καθώς και η συνδυασμένη μέση διαφορά (pooled) φαίνονται στο Διάγραμμα 4.



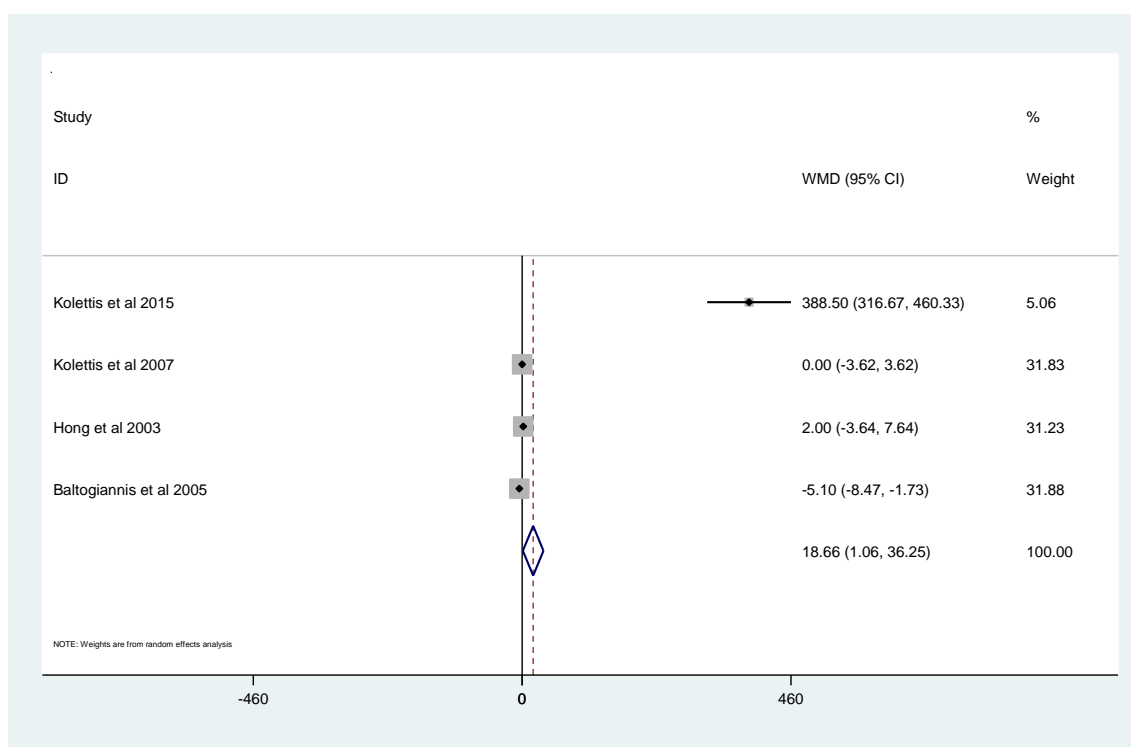
**Διάγραμμα 4:** Μέση διαφορά και συνδυασμένη μέση διαφορά της διάρκειας VAs

Η συνδυασμένη μέση διαφορά για τη διάρκεια των επεισοδίων βρέθηκε ίση με -1,39 (95% ΔΕ:-5,6; 2,82,  $p=0.517$ ) που σημαίνει ότι η διάρκεια των επεισοδίων δεν ήταν διαφορετική στην ομάδα του φαρμάκου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, όπως προέκυψε από την μετανάλυση των τριών μελετών.

Μεταναλύθηκαν και όλες οι 4 αρχικές μελέτες που αναφέρονται στη διάρκεια VT/VF επεισοδίων και βρέθηκαν τα ακόλουθα:

Έγινε έλεγχος ετερογένειας η οποία αναδείχτηκε ως στατιστικά σημαντική (Test for heterogeneity:  $Q = 119,76$ ,  $p < 0.001$ ,  $I^2 = 97,5\%$ ) και για αυτό επιλέχθηκε μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random) για τον υπολογισμό της συνδυασμένης μέσης διαφοράς (Mean Difference=MD).

Η μέση διαφορά μεταξύ ομάδας του φαρμάκου και ομάδας ελέγχου στη διάρκεια των επεισοδίων, από κάθε μελέτη καθώς και η συνδυασμένη μέση διαφορά (pooled) φαίνονται στο Διάγραμμα 5:



**Διάγραμμα 5:** Μέση διαφορά και συνδυασμένη μέση διαφορά της διάρκειας VAs

Η συνδυασμένη μέση διαφορά για τη διάρκεια των επεισοδίων βρέθηκε ίση με 18,65 (95% ΔΕ:1,06; 36,25,  $p=0.038$ ) που σημαίνει ότι η διάρκεια των επεισοδίων ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα του φαρμάκου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, όπως προέκυψε από την μετανάλυση των 4 μελετών.

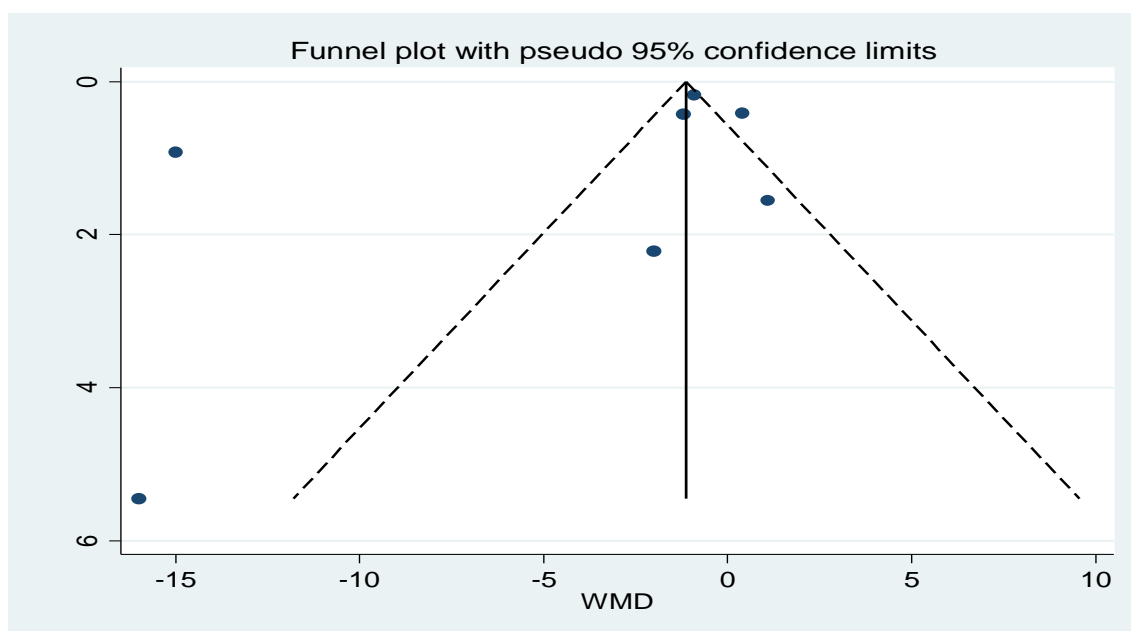
▪ **Μέγεθος εμφράγματος**

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι για το μέγεθος του εμφράγματος από 7 μελέτες όπου ήταν διαθέσιμες:

Μελέτη	Ομάδα ελέγχου		Ομάδα φαρμάκου	
	Μέση Τιμή (mean)	Τυπική Απόκλιση (SD)	Μέση Τιμή (mean)	Τυπική Απόκλιση (SD)
	Oikonomidis et al 2010	32,4	1,1	31,5
Kolettis et al 2017	30,8	1,7	31,2	1,4
Watanabe et al 1991	35	3	20	1,2
Richard et al 1994	51	2	49	6
Kolettis et al 2007	39,1	1,4	37,9	1,5
Baltogiannis et al 2005	38,6	5	39,7	4,2
Geshi et al 1999	52	12	36	7

**Πίνακας 6:** Μέσοι όροι μεγέθους εμφράγματος (86-90, 93, 94)

Ακολουθεί το funnel plot για το σφάλμα δημοσίευσης (publication bias) των 7 μελετών που αναφέρονται στο μέγεθος του εμφράγματος:



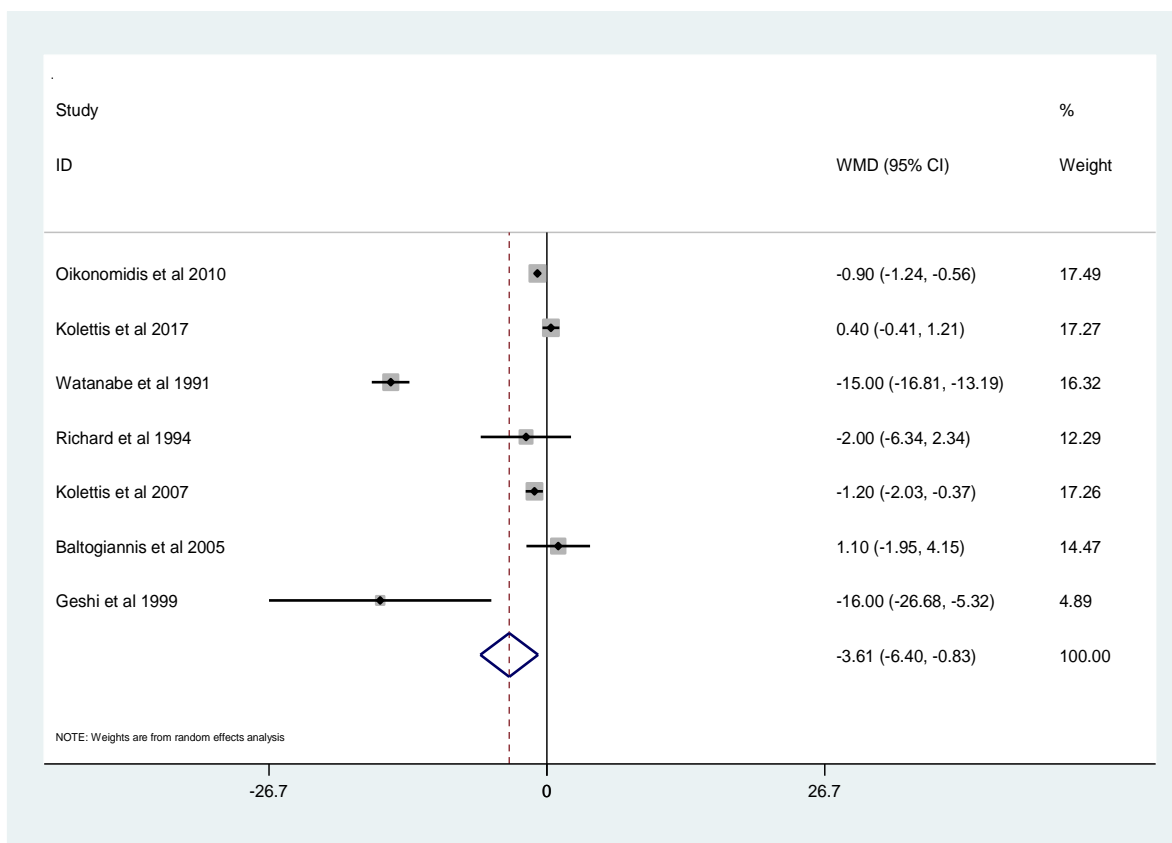
**Διάγραμμα 6:** Funnel plot για το σφάλμα δημοσίευσης των 7 μελετών



Από το ανωτέρω γράφημα φαίνεται να υπάρχει κάποιο σφάλμα το οποίο όμως δεν είναι στατιστικά σημαντικό σύμφωνα με το Egger's test (bias coefficient=-3,47, SE=3,49, p=0.366).

Έγινε έλεγχος ετερογένειας η οποία αναδείχτηκε ως στατιστικά σημαντική (Test for heterogeneity:  $Q = 250,8$ ,  $p < 0.001$ ,  $I^2 = 97,6\%$ ) και για αυτό επιλέχθηκε μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random) για τον υπολογισμό της συνδυασμένης μέσης διαφοράς (Mean Difference=MD).

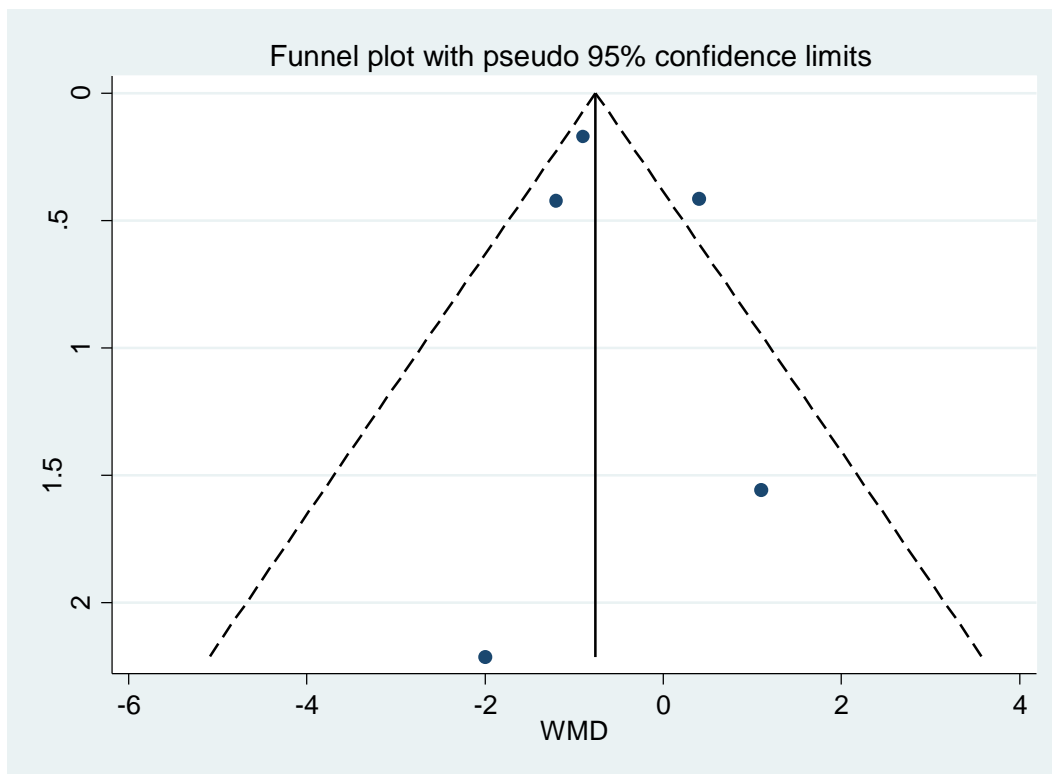
Η μέση διαφορά μεταξύ ομάδας του φαρμάκου και ομάδας ελέγχου στο μέγεθος του εμφράγματος, από κάθε μελέτη καθώς και η συνδυασμένη μέση διαφορά (pooled) φαίνονται στο Διάγραμμα 7:



**Διάγραμμα 7:** Μέση διαφορά και συνδυασμένη μέση διαφορά του μεγέθους του εμφράγματος

Η συνδυασμένη μέση διαφορά για το μέγεθος του εμφράγματος βρέθηκε ίση με -2,97 (95% ΔΕ:-6,39;-0,83,  $p=0.011$ ) που σημαίνει ότι το μέσο μέγεθος εμφράγματος ήταν σημαντικά μικρότερο στην ομάδα του φαρμάκου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, όπως προέκυψε από την μετανάλυση των επτά μελετών.

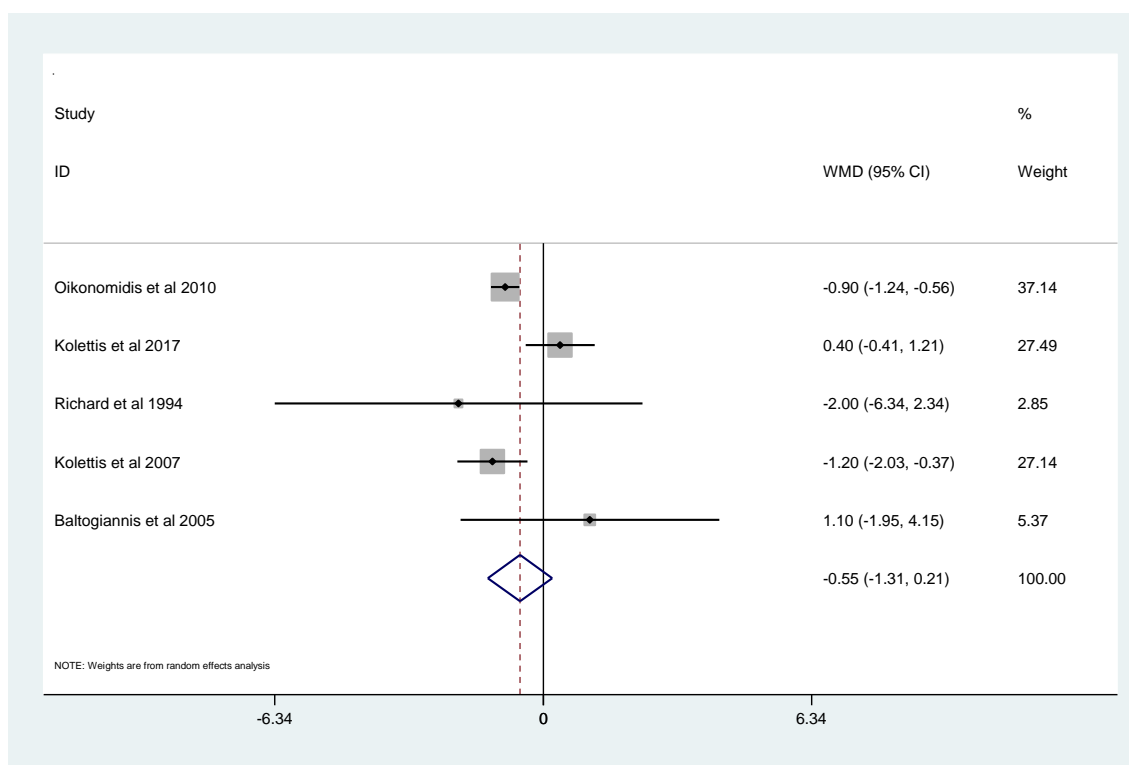
Αφαιρώντας από την ανάλυση τις μελέτες των Watanabe και συν. και Geshi και συν. που βγάζουν τη μεγαλύτερη μέση διαφορά προκύπτει ένα βελτιωμένο funnel plot το οποίο φαίνεται στο Διάγραμμα 8.



**Διάγραμμα 8:** Funnel plot για το σφάλμα δημοσίευσης των 5 μελετών

Η συνδυασμένη μέση διαφορά για το μέγεθος του εμφράγματος από τις 5 μελέτες που έμειναν, βρέθηκε ίση με -0,55 (95% ΔΕ:-1,31;0,21,  $p=0.158$ ) που σημαίνει ότι το μέσο μέγεθος εμφράγματος δεν ήταν σημαντικά μικρότερο στην ομάδα του φαρμάκου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου.

Η συνδυασμένη μέση διαφορά για το μέγεθος του εμφράγματος από τις 5 μελέτες φαίνεται ακολούθως στο Διάγραμμα 9:



**Διάγραμμα 9:** Συνδυασμένη μέση διαφορά του μεγέθους του εμφράγματος

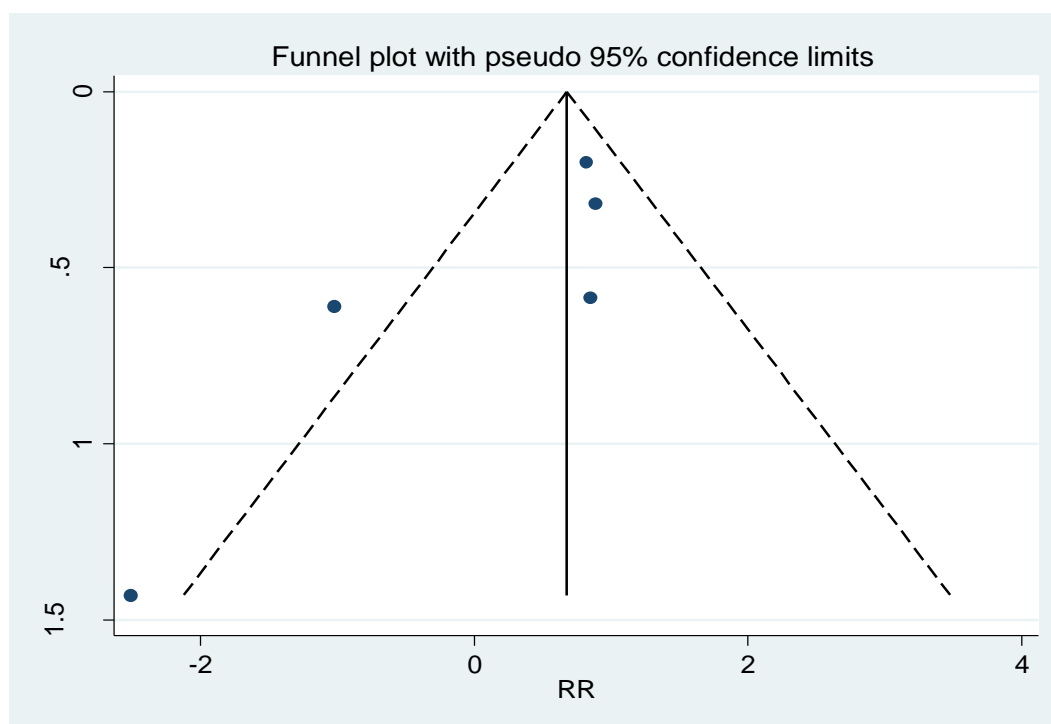
- **Θνητότητα**

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζεται η θνητότητα από 5 μελέτες όπου ήταν διαθέσιμη:

	<b>Ομάδα ελέγχου</b>	<b>Ομάδα φαρμάκου</b>
<b>Μελέτη</b>	Θνητότητα %	Θνητότητα %
Oikonomidis et al 2010	32,1	72
Kolettis et al 2015	33	83
Kolettis et al 2007	34,7	12,5
Kolettis et al 2014	20	46
Baltogiannis et al 2005	33	0

**Πίνακας 7:** Ποσοστά θνητότητας (53, 86, 90, 92, 93)

Ακολουθεί το funnel plot για το σφάλμα δημοσίευσης (publication bias) των μελετών που αναφέρονται στη θνητότητα (Διάγραμμα 10):



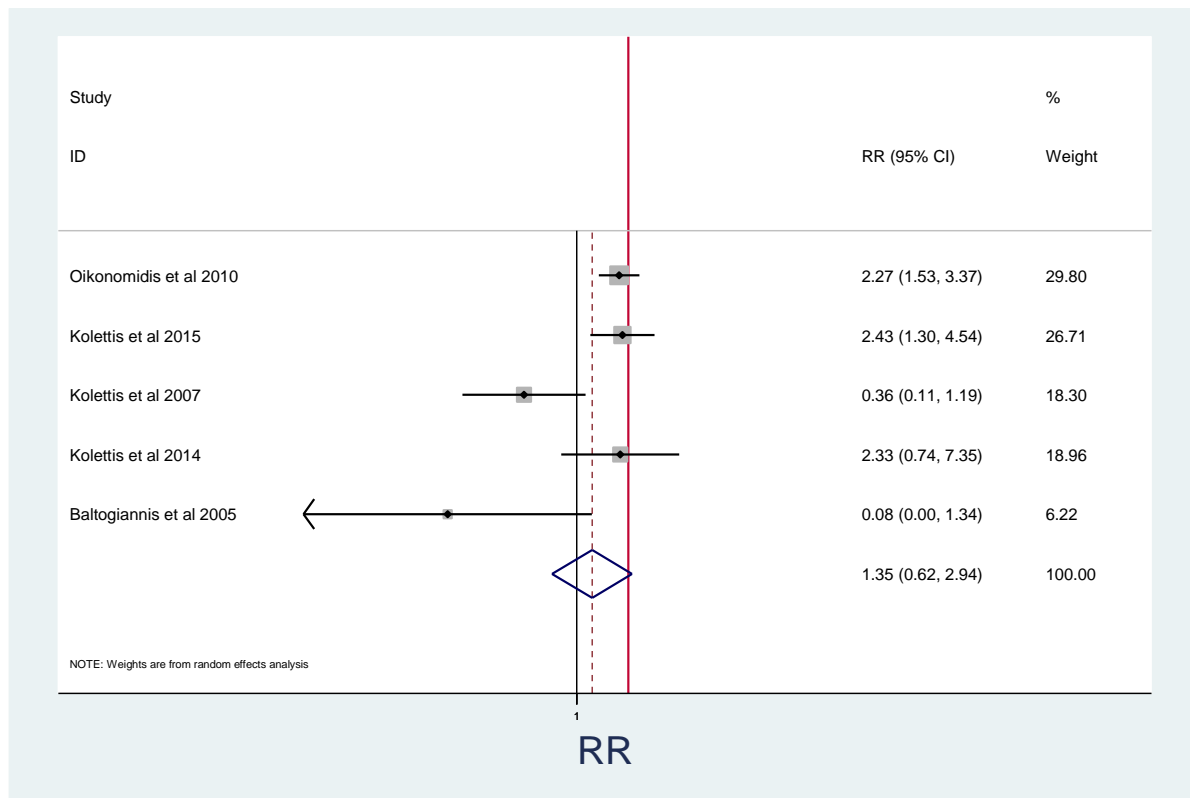
**Διάγραμμα 10:** Funnel plot για το σφάλμα δημοσίευσης των 5 μελετών

Από το ανωτέρω γράφημα φαίνεται να υπάρχει κάποιο μικρό σφάλμα το οποίο όμως δεν είναι στατιστικά σημαντικό σύμφωνα με το Egger' s test (bias coefficient=-2,45, SE=1,16, p=0.126).

Έγινε έλεγχος ετερογένειας η οποία αναδείχτηκε ως στατιστικά σημαντική (Test for heterogeneity:  $Q = 27,4$ ,  $p=0.007$ ,  $I^2 = 73,6\%$ ) και για αυτό επιλέχθηκε μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random) για τον υπολογισμό του συνδυασμένου σχετικού κινδύνου.

Ο κίνδυνος θανάτου ήταν υψηλότερος για την ομάδα του φαρμάκου στις μελέτες των Oikonomidis και συν. (2010) και των Kolettis και συν. (2014, 2015) και χαμηλότερος για τις υπόλοιπες μελέτες.

Ο σχετικός κίνδυνος για τη θνητότητα από κάθε μελέτη καθώς και ο συνδυασμένος σχετικός κίνδυνος (pooled Relative Risk) φαίνονται στο Διάγραμμα 11:



**Διάγραμμα 11:** Σχετικός κίνδυνος και συνδυασμένος σχετικός κίνδυνος

Ο συνδυασμένος σχετικός κίνδυνος για τη θνητότητα βρέθηκε ίσος με 1,35 (95% ΔΕ:0.62-2.94,  $p=0.452$ ) που σημαίνει ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στον κίνδυνο θανάτου μεταξύ ομάδας ελέγχου και ομάδας φαρμάκου, όπως προέκυψε από την μετανάλυση των μελετών.

## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ET-1, όπως φαίνεται, παίζει σημαντικό ρόλο σε όλο το φάσμα της στεφανιαίας νόσου, από τη φάση του σχηματισμού της αθηρωματικής πλάκας, την οξεία ισχαιμία έως την καρδιακή ανεπάρκεια κατά τη μετεμφραγματική περίοδο (67). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, η επίδραση της ET-1 στην κοιλιακή αρρυθμογένεση κατά τη φάση του AMI να λαμβάνει σημαντικές κλινικές επεκτάσεις.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο ρόλος της ET-1 στην κοιλιακή αρρυθμογένεση μετά από AMI. Συγκεκριμένα, σκοπός της μελέτης ήταν να αναλυθεί η δράση των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ET-1 κατά τη φάση της ισχαιμίας και νέκρωσης του μυοκαρδίου και απαντηθεί το ερώτημα εάν η καθιέρωσή τους στην καθημερινή κλινική πράξη ενδέχεται να βελτιώνει τη διάρκεια των κοιλιακών αρρυθμιών, το μέγεθος του εμφράγματος και εν τέλει τη θνησιμότητα των ασθενών.

Συνολικά συμπεριλήφθησαν 10 άρθρα που αφορούν σε τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές κατά το χρονικό διάστημα 1991-2019, όπως αυτά προέκυψαν από τη διαδικασία της ανασκόπησης της βιβλιογραφίας στις διάφορες βάσεις δεδομένων.

Οι 10 μελέτες συμπεριέλαβαν συνολικά 398 επίμυες, οι οποίοι μελετήθηκαν για άλλοτε άλλη χρονική περίοδο, με την πλειονότητα των μελετών να αφορούν χρονικό διάστημα παρακολούθησης τις 24ώρες. Και αυτό συμβαίνει γιατί στο μοντέλο των επιμύων, όπως και στο ανθρώπινο είδος, το μεγαλύτερο ποσοστό των κοιλιακών αρρυθμιών εμφανίζεται κατά το 1<sup>ο</sup> 24ωρο μετά από AMI (57). Το παραπάνω, βέβαια, δεν είναι απόλυτο, καθώς έχουν περιγραφεί κοιλιακές αρρυθμίες κατά την καθυστερημένη φάση του AMI, γεγονός που μεταφράζεται είτε σε ασθενείς που προσέρχονται καθυστερημένα είτε σε συνεχιζόμενη ισχαιμία (62).

Τα καταληκτικά σημεία που αναζητήθηκαν και αναλύθηκαν είναι η συνολική διάρκεια των επεισοδίων VAs, το μέγεθος της εμφραγματικής περιοχής και, τέλος, η θνησιμότητα που οφείλεται σε κοιλιακές ταχυαρρυθμίες.

## **I. Μέση συνολική διάρκεια των VAs**

Κατά το πρώτο σκέλος της μετανάλυσης, το καταληκτικό σημεία ήταν η μέση συνολική διάρκεια των VAs. Παρά το γεγονός ότι οι VT και VF αποτελούν 2 ξεχωριστές αρρυθμιολογικές οντότητες, η σαφής διάκρισή τους τηλεμετρικά κατά τη φάση της ισχαιμίας του μυοκαρδίου είναι δυσχερής (95, 96). Γι' αυτόν τον λόγο μελετώνται συμβατικά ως μία ταχυαρρυθμία στις μελέτες που συμπεριλαμβάνονται στην παρούσα μετανάλυση (97).

Κατά την καταγραφή των δεδομένων, παρατηρείται μία σημαντική διαφορά στη συνολική μέση διάρκεια των VAs στη μελέτη των Kolettis και συν. Του 2015 σε σύγκριση με τις άλλες 3 μελέτες. Για τον παραπάνω λόγο, πραγματοποιήθηκε δευτερογενώς μετανάλυση, χωρίς να συμπεριληφθεί η ανωτέρω μελέτη.

Από τη μετανάλυση των 4 μελετών, προέκυψε πως η συνολική μέση διάρκεια των VAs είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα που αφορά στον ανταγωνιστή των υποδοχέων της ET-1, με έμφαση όμως στη στατιστικά σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών.

Δευτερογενώς, κατά τη μετανάλυση των 3 μελετών, φάνηκε πως η μέση συνολική διάρκεια των VAs δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ των 2 ομάδων.

Αξίζει να αναφερθεί, πως στις 2 από τις 4 μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στη μετανάλυση (Kolettis και συν. 2015, Kolettis και συν. 2017), το χρονικό διάστημα παρακολούθησης διαιρείται σε 2 μέρη: τη φάση I (0-1ώρα) και τη φάση 2 (2-24ώρες). Ο ανωτέρω διαχωρισμός γίνεται λόγω της ιδιαιτερότητας των 2 αυτών φάσεων, καθώς κατά τη φάση II παρατηρείται μικρότερος αριθμός και χρονική διάρκεια των αρρυθμιών, πιθανά λόγω εξάντλησης των αποθεμάτων κατεχολαμινών (32). Συγκεκριμένα, στη μελέτη των Kolettis και συν. του 2015, παρατηρείται αυξημένη συνολική διάρκεια VAs κατά τη φάση I, ενώ αυτή μειώνεται στη φάση II. Το συνολικό συμπέρασμα αφορά σε αυξημένη μέση συνολική διάρκεια της κοιλιακής αρρυθμογένεσης.



Στη μελέτη των Kolettis και συν. του 2008 μελετάται η διπλή αναστολή των υποδοχέων της ET-1 στην αρρυθμιογένεση κατά το AMI. Αξίζει να τονιστεί, πως η μελέτη αυτή ήταν η πρώτη σε in vivo συνθήκες με συνεχή απολίνωση στεφανιαίου αγγείου, εμφανίζοντας ομοιότητες με μοντέλο ασθενών που δεν υποβάλλονται σε επαναιμάτωση (36). Η ιδιαιτερότητα αυτής της μελέτης στην απουσία επαναιμάτωσης αποτρέπει την ανομοιογένεια ως προς την επαναπόλωση των κυτταρικών μεμβρανών και συνεπώς τους μηχανισμούς αρρυθμιογένεσης. Με βάση πρότερες μελέτες (98), δεν είχε εξαχθεί σαφές συμπέρασμα ως προς τις αντιαρρυθμικές δράσης της αναστολής αυτής.

Η μελέτη των Hong και συν. του 2003 αναλύει την αναστολή των υποδοχέων της ET-1, η οποία συνολικά δεν οδήγησε σε σαφή μείωση της μέσης διάρκειας των VAs. Σε δευτερογενές επίπεδο, η μελέτη αυτή εξέτασε 2 τύπους αναστολέων κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο, παράμετρος που δεν θα αναλυθεί στην παρούσα εργασία.

Στη μελέτη των Baltogiannis και συν. του 2005 μελετώνται οι ανταγωνιστές των υποδοχέων ET-1 για 24ώρες, οι οποίοι όπως φάνηκε οδηγούν σε σαφή μείωση της συνολικής διάρκειας των VAs, με μέγιστη διαφορά την 1<sup>η</sup>, 5<sup>η</sup> και 6<sup>η</sup> ώρα. Το παραπάνω γεγονός μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη ώστε να οριστούν οι μέγιστοι θεραπευτικά χρονικοί στόχοι των ανταγωνιστών του υποδοχέα της ET-1.

## **II. Μέγεθος εμφραγματικής περιοχής**

Το δεύτερο καταληκτικό σημείο που μελετήθηκε και αναλύθηκε στην παρούσα εργασία είναι το μέγεθος IS. Η συσχέτιση του IS με την κοιλιακή αρρυθμιογένεση αποδεικνύεται σε προηγούμενες μελέτες (64,65). Συγκεκριμένα, παρατηρείται πως σε ασθενείς με εμφάνιση VAs και επακόλουθη καρδιακή ανακοπή (cardiac arrest-CA), κατά την αγγειογραφική προσέγγιση εντοπίζονται στενώσεις ή αποφράξεις των στεφανιαίων αρτηριών σε εγγύτερα σημεία παρά σε άπω, γεγονός που συνδέεται με μεγαλύτερη ισχαιμική μυοκαρδιακή μάζα.

Από τη μετανάλυση που προέκυψε παρατηρείται σημαντική μείωση του μεγέθους της εμφραγματικής περιοχής στην ομάδα που έλαβε ανταγωνιστή του υποδοχέα της ET-1 σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Σημαντικό είναι το γεγονός πως 2 εκ των μελετών παρουσιάζουν ακραίες τιμές που αφορούν στην έκταση της εμφραγματικής περιοχής (88,94). Μετά από ενδελεχή έλεγχο της βιβλιογραφίας (100) αναφέρεται πως το μονοκλωνικό αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε στις ανωτέρω μελέτες ως ανταγωνιστής των υποδοχέων της ενδοθηλίνης έχει την εξής ιδιαιτερότητα: όντας μεγαλομοριακή ως πρωτεΐνη εμφανίζει μικρότερη αύξηση των συγκεντρώσεων στο πλάσμα σε σχέση με τους ιστούς, το μυοκάρδιο στην περίπτωση μας. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η ET-1 που βρίσκεται στο πλάσμα διαδραματίζει περισσότερο σημαντικό ρόλο στην έκταση του εμφράγματος από ό,τι η ET-1 των ιστών, συμπεραίνεται πως το μονοκλωνικό αντίσωμα παγιδεύεται στο πλάσμα και με αυτόν τον τρόπο μειώνεται η έκταση της εμφραγματικής περιοχής του μυοκαρδίου.

Ακολούθησε μοντέλο μετανάλυσης χωρίς τα δεδομένα των ανωτέρω 2 μελετών, το οποίο έδειξε πως το μέσο IS δεν ήταν σημαντικά μικρότερο στην ομάδα του φαρμάκου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου.

### III. Θνητότητα

Το τρίτο και τελευταίο καταληκτικό σημείο της παρούσας εργασίας είναι η θνητότητα (mortality), η οποία αφορά σε ασυστολία προερχόμενη από VAs. Λαμβάνοντας υπόψιν πως περίπου το 50% των ασθενών που προσέρχονται με AMI στο νοσοκομείο εμφανίζει CA και το 25% αυτών καταλήγει, φαίνεται η αδιαμφισβήτητη ανάγκη εύρεσης και ανάπτυξης νέων μηχανισμών και μέτρων για τη μείωση των ανωτέρω ποσοστών στο ελάχιστο δυνατό.

Συμπεριλήφθηκαν 5 μελέτες, οι οποίες, όμως, εμφανίζουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια. Ο κίνδυνος θανάτου είναι μεγαλύτερος στην ομάδα φαρμάκου στις 3 μελέτες (53, 89, 92). Το συμπέρασμα είναι πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στον κίνδυνο θανάτου μεταξύ των 2 ομάδων.

Συγκεκριμένα, η μελέτη των Baltogiannis και συν. του 2005 αφορά το μοντέλο της μη επαναιμάτωσης, καθώς η πρώιμη επαναιμάτωση από μόνη της θα οδηγήσει σε μείωση της θνητότητας και μη σωστή αξιολόγηση του αποτελέσματος (38, 93). Αξίζει να αναφερθεί, πως το 1/3 των ασθενών πεθαίνουν πριν καν λάβουν την κατάλληλη θεραπεία (39, 40). Στην ανωτέρω μελέτη η θνητότητα της ομάδας της οποίας χορηγήθηκε ανταγωνιστής των υποδοχέων της ET-1 ήταν 0%, ενώ 6% ήταν στην ομάδα ελέγχου. Αναφέρονται, επίσης, ποσοστά θνητότητας που προέρχονται από βραδυαρρυθμίες, οι οποίες δεν θα αναλυθούν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης.

Στη μελέτη των Kolettis και συν. του 2007 αναλύεται η συνολική θνητότητα, καθώς και στις επιμέρους φάσεις (90). Συγκεκριμένα, η 24ωρη περίοδος παρακολούθησης χωρίζεται σε 2 φάσεις: φάση I (0-1 ώρα) και φάση II (2-24 ώρες), αντικατοπτρίζοντας τον διαφορετικό μηχανισμό δράσεων της ET-1 μεταξύ αυτών. Τα αποτελέσματα δείχνουν συνολική θνητότητα 12,5% στην ομάδα του φαρμάκου, ενώ όλοι οι θάνατοι προκλήθηκαν στη φάση I. Επίσης, στην ομάδα ελέγχου η συνολική θνητότητα ήταν 34,7% με το 13% να αφορά στη φάση I και το 21,7% στη φάση II.

Παρόμοια, η μελέτη των Οικονομίδης και συν. του 2010 ανέλυσε τη συνολική θνητότητα, καθώς και σε φάσεις, με ανάδειξη σημαντικής διαφοράς κατά τη φάση I, αλλά συγκρίσιμες διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων στη φάση II, αποδεικνύοντας για ακόμα μία φορά τους διαφορετικούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς (86).

## **VI. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Το AMI αποτελεί μία από τις βασικότερες αιτίες θανάτου παγκοσμίως. Η οξεία απόφραξη των στεφανιαίων αγγείων συχνά προκαλεί τη γένεση κοιλιακών ταχυαρρυθμιών, οι οποίες σε μεγάλο ποσοστό οδηγούν σε SCD (101).

Η παθοφυσιολογία της κοιλιακής αρρυθμογένεσης λόγω της μυοκαρδιακής ισχαιμίας είναι σύνθετη και πολλές παράμετροι παραμένουν αδιευκρίνιστες (102, 103).

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να αναλυθεί ο ρόλος της ET-1 στην κοιλιακή αρρυθμογένεση κατά το AMI, με τη μέθοδο της συστηματικής ανασκόπησης και μετανάλυσης. Μελετήθηκαν 3 καταληκτικά σημεία, τα οποία ήταν η συνολική μέση διάρκεια των VAs, το μέγεθος της IS και η θνητότητα. Από τη μετανάλυση των τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών που συμπεριλήφθησαν, οι οποίες εμφανίζουν σημαντική ετερογένεια, προέκυψε πως η ομάδα των επιμύων που έλαβε ανταγωνιστή των υποδοχέων της ET-1 εμφάνισε μεγαλύτερης διάρκειας VAs και μικρότερο IS, αλλά δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά στη θνητότητα.

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα στην παγκόσμια υγεία, καθώς ενοχοποιούνται για υψηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας. Τα τελευταία χρόνια το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει εστιαστεί στη διερεύνηση των μηχανισμών αρρυθμιογένεσης μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, καθώς και στην ανεύρεση παραγόντων για την πρόληψη αυτών. Η ενδοθηλίνη-1 εμφανίζει σημαντικές ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες και συμβάλλει στην πρόκληση αρρυθμιών επικίνδυνων για τη ζωή. Ακόμη, η παραγωγή ενδοθηλίνης-1 οδηγεί σε ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, με αποτέλεσμα την προαγωγή αρρυθμιών κατά τη διάρκεια ισχαιμίας του μυοκαρδίου.

**ΣΚΟΠΟΣ:** Σκοπός της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση των ακριβών παθοφυσιολογικών διαδικασιών που διενεργούνται κατά την οξεία και τη χρόνια φάση ενός στεφανιαίου συνδρόμου και αφορούν την ενδοθηλίνη-1. Ακόμη, η παρούσα εργασία έχει ως στόχο να συσχετίσει τους μηχανισμούς αυτούς με την ανάπτυξη νέων αντιαρρυθμικών παραγόντων, καθώς και την αποτελεσματικότητα αυτών στην πρόληψη της αρρυθμιογένεσης μετά από οξέα στεφανιαία σύνδρομα.

**ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ:** Μετά από συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, συλλέχθηκαν όλες οι μελέτες, οι οποίες ανέλυαν τον ρόλο των ανταγωνιστών των υποδοχέων της ενδοθηλίνης-1 στην κοιλιακή αρρυθμιογένεση μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Συγκριμένα, μελετήθηκαν ως καταληκτικά σημεία η μέση συνολική διάρκεια των κοιλιακών ταχυαρρυθμιών, το μέγεθος της εμφραγματικής περιοχής και η θνητότητα. Η παρουσίαση και η περιγραφή των δεδομένων, αλλά και η κατασκευή του μαθηματικού μοντέλου για τον υπολογισμό της στατιστικής σημαντικότητας αυτής της σχέσης έγινε με τη χρήση του προγράμματος STATA 11.0.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Στην μετα-ανάλυση περιλήφθηκαν 10 εργασίες και συνολικά 398 επίμυες, με άλλοτε άλλη περίοδο παρακολούθησης, με την πλειονότητα των μελετών να αφορά 24ωρο χρονικό διάστημα παρακολούθησης. Η συνδυασμένη μέση διαφορά για τη συνολική διάρκεια των επεισοδίων βρέθηκε ίση με 18,65 (95% ΔΕ:1,06; 36,25,  $p=0.038$ ) που σημαίνει ότι η διάρκεια των επεισοδίων ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα του φαρμάκου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Επίσης, η συνδυασμένη μέση διαφορά για το μέγεθος του εμφράγματος βρέθηκε ίση με -2,97 (95% ΔΕ:-6,39;-0,83,  $p=0.011$ ) που σημαίνει ότι το μέσο μέγεθος εμφράγματος ήταν σημαντικά μικρότερο στην ομάδα του φαρμάκου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Αντίθετα, ο συνδυασμένος σχετικός κίνδυνος για τη θνησιμότητα βρέθηκε ίσος με 1,35 (95% ΔΕ:0.62-2.94,  $p=0.452$ ) που σημαίνει ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στον κίνδυνο θανάτου μεταξύ ομάδας ελέγχου και ομάδας φαρμάκου.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελεί μία από τις βασικότερες αιτίες θανάτου παγκοσμίως. Η οξεία απόφραξη των στεφανιαίων αγγείων συχνά προκαλεί τη γένεση κοιλιακών ταχυαρρυθμιών, οι οποίες σε μεγάλο ποσοστό οδηγούν σε αιφνίδιο καρδιακό θάνατο. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να αναλυθεί ο ρόλος της ET-1 στην κοιλιακή αρρυθμογένεση κατά το AMI, με τη μέθοδο της συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης. Μελετήθηκαν 3 καταληκτικά σημεία, τα οποία ήταν η συνολική μέση διάρκεια των VAs, το μέγεθος της εμφραγματικής περιοχής (infarct size-IS) και η θνητότητα. Από τη μετα-ανάλυση των μελετών που συμπεριλήφθηκαν, οι οποίες εμφανίζουν σημαντική ετερογένεια, προέκυψε πως η ομάδα των επιμύων που έλαβε ανταγωνιστή των υποδοχέων της ET-1 εμφάνισε μεγαλύτερης διάρκειας VAs και μικρότερο IS, αλλά δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά στη θνητότητα.

## **ABSTRACT**

**BACKGROUND:** Acute coronary syndromes are one of the major health problems worldwide, as they are implicated in high morbidity and mortality rates. In recent years, scientific interest has been focused on investigating the mechanisms of arrhythmogenesis following acute myocardial infarction, as well as finding factors to prevent them. Endothelin-1 exhibits important electrophysiological properties and contributes to the development of life-threatening arrhythmias. In addition, endothelin-1 production leads to activation of the sympathetic nervous system, resulting in the promotion of arrhythmias during myocardial ischemia.

**OBJECTIVE:** The purpose of this study is to investigate the pathophysiological processes performed during the acute phase of coronary syndrome involving endothelin-1. Furthermore, the present work aims to correlate these mechanisms with the development of new antiarrhythmic agents, as well as their effectiveness in preventing arrhythmogenesis after acute coronary syndromes.

**METHODS:** After a systematic review of the literature, all trials were collected to investigate the role of endothelin-1 receptor antagonists in ventricular arrhythmogenesis following acute myocardial infarction. In comparison, the mean overall duration of ventricular tachyarrhythmias, infarct size, and mortality were studied as endpoints. The presentation and description of the data, as well as the construction of the mathematical model to calculate the statistical significance of this relationship were made using the STATA 11.0 program.



**RESULTS:** The meta-analysis included 10 trials and a total of 398 rats, with a different follow-up period, with the majority of studies having a 24-hour follow-up. The weighted mean difference for the total episodes duration was found to be 18.65 (95% ΔE: 1.06; 36.25, p = 0.038) which means that the episodes duration was significantly higher in the drug group compared to the control group. Also, the weighted mean difference for infarct size was found to be -2.97 (95% DE: -6.39; -0.83, p = 0.011) which means that the mean infarct size was significantly smaller in this group compared to the control group. In contrast, the relative risk of the mortality was found to be 1.35 (95% DE: 0.62-2.94, p = 0.452), which means that there was no significant difference in the risk of death between the control and the drug group.

**CONCLUSIONS:** Acute myocardial infarction is one of the leading causes of death worldwide. Acute obstruction of the coronary vessels often causes the generation of ventricular tachyarrhythmias, which in large part lead to sudden cardiac death. The purpose of this study was to analyze the role of ET-1 in ventricular arrhythmogenesis during AMI, using systematic review and meta-analysis. Three endpoints were studied, which were total mean duration of VAs, infarct size-IS, and mortality. The meta-analysis of the studies included, which have significant heterogeneity, showed that the ET-1 receptor antagonist group of rats exhibited longer VAs and shorter IS, but showed no significant difference in mortality.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Favero G., Paganelli C., Buffoli B., Rodella LF, Rezzani R. Endothelium and Its Alterations in Cardiovascular Diseases: Life Style Intervention. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 801896.
2. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T (1988). A novel vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332, 411-415.
3. Bloch K.D., Friedrich S.P, Lee M, Eddy R.L, Shows T.B., Quertermous T (1989). Structural organization and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin. *J Biol Chem* 264, 10851- 10857.
4. Bloch K.D, Hong C.C, Eddy R.L, Shows T.B, Quertermous T (1991). cDNA Cloning and chromosomal assignment of the endothelin-2 gene vasoactive contractor protein is rat endothelin-2. *Genomics* 10, 236-242.
5. Bloch K.D , Eddy R.L, Shows T.B, Quertermous T (1989). cDNA cloning and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin-3. . *J Biol Che* 264, 18156-18161.
6. Simonson M.S (1993). Endothelins : multifunctional renal peptides. *Physiol Rev* 73, 375-411.
7. Hunley TE, Kon V (2001). Update on endothelins- biology and clinical implications. *Pediatr Nephrol* 16: 752-762.
8. Benatti L, Fabbini M.S, Patrono C (1994). Regulation of ET-1 biosynthesis. *Ann N Y Acad Sci* 714, 109-121.
9. Lee M.E., Dhaly M.S, Temizer D.H, Clifford J.A, Yoshizumi M, Quertermous T. (1991). Regulation of endothelin- gene expression by fos and jun. *J Biol Chem* 266, 19034-19039.
10. Boulanger C., Luscher T.F (1990). Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium- derived nitric oxide. *J Clin Invest* 85, 587-590.
11. Yokokawa K, Tahara H, Kohno M, Mandal A.K., Yanagisawa M, Takeda T (1993). Heparin regulates endothelin production through endothelium-derived nitric oxide in human endothelial cells. *J Clin Invest* 9, 2080-2085.
12. Malek A.M., Greene A.L., Izumo S. (1993). Regulation of ET-1 gene by fluid shear stress is transcriptionally mediated and independent of protein kinase C and cAMP. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 5999-6003.
13. Kuchan M.J., Frangos J.A. (1993). Shear stress regulates ET-1 release via protein kinase and cGMP in cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 264, 150-156.
14. Russel FD, Davenport AP (1999). Secretory pathway in endothelin synthesis. *Br J Pharmacol* 126: 391-398.

15. Schweizer A, Valdenaire O, Nelbock P, Deuschle U, Dumas Milne Edwards J-B, Stumpf JG, Loffler B-M (1997). Human endothelin-converting enzyme (ECE-1): Three isoforms with distinct subcellular localizations. *Biochem J* 328: 871-877.
16. Valdenaire O, Lepalleur-Enouf D, Egidy G, Thouard A, Barret A, Vranckx R, Tougard C, Michel JB (1999). A fourth isoform of endothelin-converting enzyme (ECE-1) is generated from an additional promoter molecular cloning and characterization. *Eur J Biochem* 264: 341-349.
17. Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, de Vite D, Yanagisawa M (1994). ECE-1: A membrane bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell* 78: 473-485.
18. Turner AJ, Murphy LG (1995). Molecular pharmacology of endothelin converting enzymes. *Biochem Pharmacol* 51: 91-102.
19. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S (1990). Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 348: 730-732.
20. Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T (1990). Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 348: 732-735.
21. Benigni A, Remuzzi G (1999). Endothelin antagonists. *Lancet* 353: 133-138.
22. Fukuroda T, Fujikawa T, Ozaki S, Ishikawa K, Yano M, Nishikibe M (1994). Clearance of circulating endothelin-1 by ET-B receptors in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 199, 1461-1465.
23. Iwasaki S, Homma T, Matsuda Y, Kon V (1995). Endothelin receptor subtype B mediates autoinduction of endothelin-1 in rat mesangial cells. *J Biol Chem* 270, 697-7003.
24. Simonson MS, Wann S, Mene P, Dubyak GR, Kester M, Nakazato Y, Sedor JR, Dunn MG (1989). Endothelin stimulates phospholipase C, Na/K exchange, c-fos expression and mitogenesis in rat mesangial cells. *J Clin Invest* 83, 708-712.
25. Benigni A (2000). Endothelin antagonists in renal disease. *Kidney Int* 57, 1778-1794.
26. Sorensen SS, Madsen JK, Pedersen EB (1994). Systemic and renal effect of intravenous infusion of endothelin-1 in healthy human volunteers. *Am J Physiol* 266: F411-F418.
27. Clarke JG, Benjamin N, Larkin SW, et al. Endothelin is a potent long-lasting vasoconstrictor in men. *Am J Physiol* 1989;257:H2033-H2035.
28. Schomig A, Haass M, Richardt G. Catecholamine release and arrhythmias in acute myocardial ischaemia. *Eur Heart J* 1991;12(Suppl. F):38-47.
29. Kowala M, Rose P, Stein PD et al. Selective blockade of the endothelin subtype A receptor decreases early atherosclerosis in hamsters fed cholesterol. *Am J Pathol* 1995;146:819-26.

30. Maseri A, Crea F, Kaski JC, Crake T. Mechanism of angina pectoris in syndrome X. *J. Am. Coll Cardiol* 17: 499-506, 1991.
31. Salomone OA, Elliot PM, Calvino R, Holt D, Kaski JC. Plasma immunoreactive endothelin concentration correlates with severity of coronary arteries disease in patients with stable angina pectoris and normal ventricular function. *J. Am. Coll Cardiol* 28: 14-9, 1996.
32. Ihling C, Szombathy T, Bohrmann B, et al. Coexpression of endothelin-converting enzyme-1 and endothelin-1 in different stages of human atherosclerosis. *Circulation* 2001;104:864–9.
33. Schirger JA, Chen HH, Jougasaki M, et al. Endothelin A receptor antagonism in experimental congestive heart failure results in augmentation of the renninangiotensin system and sustained sodium retention. *Circulation* 2004;109:249–54.
34. Chi-Ming Wei Lerman A, Rodeheffer JR, McGregor GAC, Brandt RR, Wright S, Heublein MD, Pai C, Kao, Edwards DW, Burnett CJ. Endothelin in Human Congestive Heart Failure. *American College of Cardiology* 21: 100 A, 1993.
35. Wei C-M, Lerman A, Rodeheffer RJ, et al. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation* 89: 1580-6, 1994.
36. Spieker EL, Luscher FT. Will endothelin receptor antagonists have a role in heart failure? *Med Clin N. Am* 87: 459-474, 2003.
37. Hay, D. W., P. J. Henry, and R. G. Goldie. 1993. Endothelin and the respiratory system. *Trends Pharmacol. Sci.* 14: 29-32.
38. Goldie GR. Potential Role of the Endothelins in Airway Remodelling in Asthma. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 12: 79-80, 1999.
39. Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, et al. The effect of an endothelin receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. Bosentan hypertension investigators. *N Engl J Med* 1998;338:784–90.
40. Haak T, Jungmann E, Felber A, et al. Increased plasma levels of endothelin in diabetic patients with hypertension. *Am J Hypertens* 1992;5:161–66.
41. Goddard J, Webb DJ. Endothelin antagonists and hypertension: a question of dose? *Hypertension* 2002;40:e1–2.
42. Kohan DE. Endothelins in the kidney: physiology and pathophysiology. *Am J Kidney Dis* 1993;22:493–510.
43. Clouthier, D.E., Hosoda, K., Richardson, J.A., Williams, S.C., Yanagi-sawa, H., Kuwaki, T., Kumada, M., Hammer, R.E., Yanagisawa, M., 1998. Cranial and cardiac neural crest defects in endothelin-A receptor-deficient mice. *Development* 125, 813–824.
44. Kapur, R.P., Sweetser, D.A., Doggett, B., Siebert, J.R., Palmiter, R.D., 1995. Intercellular signals downstream of endothelin receptor-B medi-

- ate colonization of the large intestine by enteric neuroblasts. *Development* 121, 3787–3795.
45. Neuhofer W1, Pittrow D. Endothelin in human autoimmune diseases with renal involvement. *Rheumatology (Oxford)*. 2006 Oct;45.
  46. Kolettis TM. Coronary artery disease and ventricular tachyarrhythmia: pathophysiology and treatment. *Curr Opin Pharmacol* 2013,13:210-7.
  47. Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev* 1999,79:917-1017.
  48. Beardslee MA, et al. Dephosphorylation and intracellular redistribution of ventricular connexin during electrical uncoupling induced by ischemia. *Circ Res* 2000,87:656-62.
  49. Pinet C, et al. Thrombin facilitation of voltage-gated sodium channel activation in human cardiomyocytes: implications for ischemic sodium loading. *Circulation* 2002,106:2098-103.
  50. Oliver MF, et al. Relation between serum-free-fatty acids and arrhythmias and death after acute myocardial infarction. *Lancet* 1968,1:710-4.
  51. McHowat J, Creer MH. Thrombin activates a membrane-associated calcium-independent PLA2 in ventricular myocytes. *Am J Physiol* 1998,274:C447-54.
  52. Schomig A, et al. Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part A: Locally mediated release. *Circ Res* 1984,55:689-701.
  53. Kolettis TM, et al. Central sympathetic activation and arrhythmogenesis during acute myocardial infarction: modulating effects of endothelin-B receptors. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 2015,2:1-8.
  54. Lameris TW, et al. Time course and mechanism of myocardial catecholamine release during transient ischemia in vivo. *Circulation* 2000,101:2645-50.
  55. Stables CL, Curtis MJ. Development and characterization of a mouse in vitro model of ischaemia-induced ventricular fibrillation. *Cardiovasc Res* 2009,83:397-404.
  56. Oliver MF. Metabolic causes and prevention of ventricular fibrillation during acute coronary syndromes. *Am J Med* 2002,112:305-11.
  57. Rubart M, Zipes DP. Mechanisms of sudden cardiac death. *J Clin Invest* 2005;115(9): 2305–15.
  58. Kolettis TM. Coronary artery disease and ventricular tachyarrhythmia: pathophysiology and treatment. *Curr Opin Pharmacol* 2013;13(2):210–7.
  59. Di Diego JM, Antzelevitch C. Ischemic ventricular arrhythmias: experimental models and their clinical relevance. *Heart Rhythm* 2011;8(12):1963–8.
  60. Luqman N, Sung RJ, Wang CL, Kuo CT. Myocardial ischemia and ventricular fibrillation: pathophysiology and clinical implications. *Int J Cardiol* 2007;119(3):283–90.

61. Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev* 1999;79(3):917–1017.
62. Piccini JP, Berger JS, Brown DL. Early sustained ventricular arrhythmias complicating acute myocardial infarction. *Am J Med* 2008;121(9):797–804.
63. Aouizerat BE, Vittinghoff E, Musone SL, Pawlikowska L, Kwok PY, Olgin JE, et al. GWAS for discovery and replication of genetic loci associated with sudden cardiac arrest in patients with coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord* 2011;11:29.
64. Gheeraert PJ, De Buyzere ML, Taeymans YM, Gillebert TC, Henriques JP, De Backer G, et al. Risk factors for primary ventricular fibrillation during acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J* 2006;27(21):2499–510.
65. Hreybe H, Singla I, Razak E, Saba S. Predictors of cardiac arrest occurring in the context of acute myocardial infarction. *Pacing Clin Electrophysiol* 2007;30(10):1262–6.
66. Miyauchi T, Yanagisawa M, Tomizawa T. Increased plasma concentrations of endothelin-1 and big endothelin-1 in acute myocardial infarction. *Lancet* 1989;2(8653):53–4.
67. Kolettis TM, Barton M, Langleben D, Matsumura Y. Endothelin in coronary artery disease and myocardial infarction. *Cardiol Rev* 2013a;21(5):249–56.
68. Yorikane R, Koike H, Miyake S. Electrophysiological effects of endothelin-1 on canine myocardial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17(Suppl. 7):S159–62.
69. Sah R, Ramirez RJ, Backx PH. Modulation of Ca<sup>2+</sup> release in cardiac myocytes by changes in repolarization rate: role of phase-1 action potential repolarization in excitation-contraction coupling. *Circ Res* 2002;90(2):165–73.
70. Toth M, Solti F, Merkely B, Kekesi V, Horkay F, Szokodi I, et al. Ventricular tachycardias induced by intracoronary administration of endothelin-1 in dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26(Suppl. 3):S153–5.
71. Szokodi I, Horkay F, Merkely B, Solti F, Geller L, Kiss P, et al. Intrapericardial infusion of endothelin-1 induces ventricular arrhythmias in dogs. *Cardiovasc Res* 1998;38(2): 356–64.
72. Becker R, Merkely B, Bauer A, Geller L, Fazekas L, Freigang KD, et al. Ventricular arrhythmias induced by endothelin-1 or by acute ischemia: a comparative analysis using three-dimensional mapping. *Cardiovasc Res* 2000;45(2):310–20.
73. Duru F, Barton M, Luscher TF, Candinas R. Endothelin and cardiac arrhythmias: do endothelin antagonists have a therapeutic potential as antiarrhythmic drugs? *Cardiovasc Res* 2001;49(2):272–80.
74. Oikonomidis DL, Baltogiannis GG, Kolettis TM. Do endothelin receptor antagonists have an antiarrhythmic potential during acute myocardial

- infarction? Evidence from experimental studies. *J Interv Card Electrophysiol* 2010a;28(3):157–65.
75. Yamamoto S, Matsumoto N, Kanazawa M, Fujita M, Takaoka M, Garipey CE, et al. Different contributions of endothelin-A and endothelin-B receptors in postischemic cardiac dysfunction and norepinephrine overflow in rat hearts. *Circulation* 2005;111(3): 302–9.
  76. Isaka M, Kudo A, Imamura M, Kawakami H, Yasuda K. Endothelin receptors, localized in sympathetic nerve terminals of the heart, modulate norepinephrine release and reperfusion arrhythmias. *Basic Res Cardiol* 2007;102(2):154–62.
  77. Reimer KA, Jennings RB. The 'wavefront phenomenon' of myocardial ischemic cell death (II). Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest* 1979;40(6):633–44.
  78. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JP, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol* 2009; 62: e1-34.
  79. Stewart LA, Clarke M, Rovers M, Riley RD, Simmonds M, Stewart G, et al. Preferred reporting items for systematic review and metaanalyses of individual participant data: the PRISMA-IPD Statement. *JAMA* 2015; 313: 1657-65.
  80. Kang H. Statistical considerations in meta-analysis. *Hanyang Med Rev* 2015; 35: 23-32.
  81. Uetani K, Nakayama T, Ikai H, Yonemoto N, Moher D. Quality of reports on randomized controlled trials conducted in Japan: evaluation of adherence to the CONSORT statement. *Intern Med* 2009; 48: 307-13.
  82. Moher D, Cook DJ, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup DF. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. Quality of Reporting of Meta-analyses. *Lancet* 1999; 354: 1896-900.
  83. Egger, M., Davey Smith, G. Misleading meta-analysis. Lessons from “an effective, safe, simple” intervention that wasn't. *Br Med J.* 1995;310:752–754.
  84. Egger, M., Davey Smith, G., Schneider, M., Minder, C.E. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *Br Med J.* 1997;315:629–634.
  85. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ.* 2003;327:557–560.
  86. Oikonomidis DL, Tsalikakis DG, Baltogiannis GG, Tzallas AT, Xourgia X, Agelaki MG, et al. Endothelin-B receptors and ventricular arrhythmogenesis in the rat model of acute myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* (2010) 105(2):235–45.

87. Kolettis TM, Kontonika M, La Rocca V, Vlahos AP, Baltogiannis GG, Kyriakides ZS. Local conduction during acute myocardial infarction in rats: Interplay between central sympathetic activation and endothelin. *J Arrhythm.* 2017 Apr;33(2):144-146.
88. Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, Fujino M, Imada A. Contribution of endogenous endothelin to the extension of myocardial infarct size in rats. *Circ Res.* 1991 Aug;69(2):370-7.
89. Richard, V., Kaeffer, N., Hogie, M., Tron, C., Blanc, T., Thuillez, C., 1994. Role of endogenous endothelin in myocardial and coronary endothelial injury after ischaemia and reperfusion in rats: studies with bosentan, a mixed ETA– ETB antagonist. *Br. J. Pharmacol.* 113, 869–876.
90. Kolettis TM, Baltogiannis GG, Tsalikakis DG, Tzallas AT, Agelaki MG, Fotopoulos A, Fotiadis DI, Kyriakides ZS. Effects of dual endothelin receptor blockade on sympathetic activation and arrhythmogenesis during acute myocardial infarction in rats. *Eur J Pharmacol.* 2007 Feb 2;580(1-2):241-9.
91. Hong X, Lin L, Yuan WJ. Antiarrhythmic effect of endothelin-A receptor antagonist on acute ischemic arrhythmia in isolated rat heart. *Acta Pharmacol Sin.* 2003 Jan;24(1):37-44.
92. Kolettis TM, Oikonomidis DL, Baibaki ME, Barka E, Kontonika M<sup>5</sup> Tsalikakis DG, Papalois A, Kyriakides ZS. Endothelin B-receptors and sympathetic activation: impact on ventricular arrhythmogenesis during acute myocardial infarction. *Life Sci.* 2014 Nov 24;118(2):281-7.
93. Baltogiannis GG, Tsalikakis DG, Mitsi AC, Hatzistergos KE, Elaiopoulos D, Fotiadis DI, Kyriakides ZS, Kolettis TM. Endothelin receptor--a blockade decreases ventricular arrhythmias after myocardial infarction in rats. *Cardiovasc Res.* 2005 Sep 1;67(4):647-54.
94. Geshi E, Nomizo A, Arata Y, Nakatani M, Katagiri T. Effect of non-selective endothelin blockade, TAK-044, on the ischemic cellular injury of rat heart. *Basic Res Cardiol.* 1999 Apr;94(2):94-101.
95. J.A. Berlin, N.M. Laird, H.S. Sacks, *et al.* A comparison of statistical methods for combining event rates from clinical trials. *Stat Med*, 8 (2) (1989), pp. 141-151
96. Opitz, C.F., Mitchell, G.F., Pfeffer, M.A., Pfeffer, J.M., 1995. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat. Continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats. *Circulation* 92, 253–261.
97. Walker, M.J., Curtis, M.J., Hearse, D.J., Campbell, R.W., Janse, M.J., Yellon, D.M., Cobbe, S.M., Coker, S.J., Harness, J.B., Harron, D.W., 1988. The Lambeth conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia infarction, and reperfusion. *Cardiovasc. Res.* 22, 447–455.



98. Douglas, S.A., Nichols, A.J., Feuerstein, G.Z., Elliott, J.D., Ohlstein, E.H., 1998. SB 209670 inhibits the arrhythmogenic actions of endothelin-1 in the anesthetized dog. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 31 (Suppl 1), S99–S102.
99. Rosengren, A., Wallentin, L., Gitt, K., Behar, S., Battler, A., Hasdai, D., 2004. Sex, age, and clinical presentation of acute coronary syndromes. *Eur. Heart J.* 25, 663–670.
100. Urakami A1, Todo S, Zhu Y, Zhang S, Jin MB, Ishizaki N, Shimamura T, Totsuka E, Subbotin V, Lee R, Starzl TE. Attenuation of ischemic liver injury by monoclonal anti-endothelin antibody, AwETN40. *J Am Coll Surg.* 1997 Oct;185(4):358-64.
101. Rouleau JL, Talajic M, Sussex B, Potvin L, Warnica W, Davies R, et al. Myocardial infarction patients in the 1990s—their risk factors, stratification and survival in Canada: the Canadian Assessment of Myocardial Infarction (CAMI) study. *J Am Coll Cardiol* 1996;27: 1119 – 27.
102. Myerburg RJ, Kessler KM, Castellanos A. Sudden cardiac death: structure, function, and time-dependence of risk. *Circulation* 1992; 85(suppl I):I2 – 10.
103. Curtis MJ, Hearse DJ. Ischaemia-induced and reperfusion-induced arrhythmias differ in their sensitivity to potassium: implications for mechanisms of initiation and maintenance of ventricular fibrillation. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21:21 – 40.