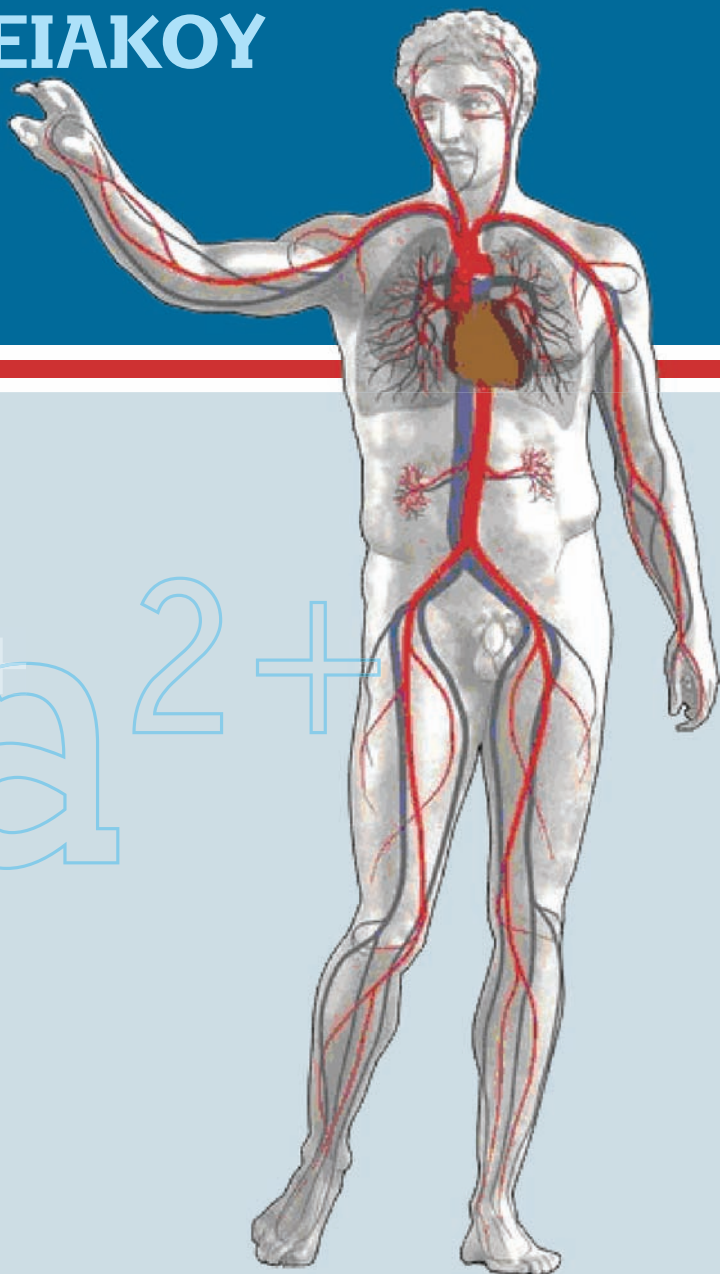


Β.Α.ΚΟΚΚΑΣ και Κ.Λ.ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ

# ΜΟΡΙΑΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΤΟΝΟΥ





**ΜΟΡΙΑΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ  
ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΤΟΝΟΥ**



**ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ Α. ΚΟΚΚΑΣ και ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Λ. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ**

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ  
ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΤΟΝΟΥ**



**ΙΑΤΡΙΚΕΣ & ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ**

**Θεσσαλονίκη 2008**

© 2008, ΣΙΩΚΗΣ Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις  
Δημήτριος Α. Σιώκης & Σία Ε.Ε.

© 2008, Βασίλειος Α. Κόκκας και Κωνσταντίνος Λ. Παπαδόπουλος

ISBN: 978-96-7461-63-6



### Ιατρικά Βιβλιοπωλεία Σιώκης

Θεσσαλονίκη: Αλεξ. Σβώλου 54, ΤΚ 54621

τηλ. 2310 230257, 287016, fax 2310 281014

Αθήνα:

Φειδιππίδου 30, ΤΚ 11527, Αμπελόκηποι (Γουδή)

τηλ. 210 7470255, 7470253, fax 210 7713187

[www.siokis.gr](http://www.siokis.gr)

Απαγορεύεται η αναδημοσίευση, η αναπαραγωγή, ολική, μερική ή περιληπτική ή η απόδοση κατά παράφραση ή διασκευή του περιεχομένου του βιβλίου με οποιονδήποτε τρόπο, μηχανικό, ηλεκτρονικό, φωτοτυπικό, ηχογράφησης ή άλλο χωρίς προηγούμενη γραπτή άδεια του εκδότη σύμφωνα με το Νόμο 2121/1993 και τους κανόνες του Διεθνούς Δικαίου που ισχύουν στην Ελλάδα.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ</b> .....	<i>ix</i>
<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	<i>xi</i>
<b>A ΜΕΡΟΣ</b>	
<b>ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΑΓΓΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ</b>	
1. Μηχανισμοί αγγειοκίνησης.....	<i>1</i>
2. Υποδοχείς στο επίπεδο του αγγειακού τοιχώματος.....	<i>23</i>
3. Υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με G- πρωτεΐνη. Σχέσεις με αγγειοδραστικές ουσίες.....	<i>35</i>
4. Πυρηνικοί υποδοχείς, καρδιαγγειακό σύστημα και φάρμακα.....	<i>103</i>
5. Ασβέστιο και κάλιο ρυθμιστές του αγγειακού τόνου. Φαρμακολογικοί στόχοι.....	<i>127</i>
<b>B ΜΕΡΟΣ</b>	
<b>ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΑΓΓΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ</b>	
6. Ενδογενείς μονοαμίνες και αγγειακό τοίχωμα.....	<i>191</i>
7. Πουρινικά νουκλεοτίδια και αγγειακός τόνος.....	<i>231</i>
8. Πεπτίδια και πεπτιδικές ορμόνες στην αρτηριακή υπέρταση.....	<i>253</i>
9. Αγγειοτασίνη II και νατριουρητικά πεπτίδια. Ανταγωνισμός στο επίπεδο του αγγειακού τοιχώματος και των νεφρών.....	<i>299</i>
<b>Γ ΜΕΡΟΣ</b>	
<b>ΤΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ ΩΣ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ</b>	
10. Ο ρόλος του ενδοθηλίου στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου... ..	<i>333</i>
11. Οξειδιο του αζώτου ή νιτροξειδιο, καρδιαγγειακό σύστημα και φάρμακα.....	<i>357</i>
12. Ενδοθηλίνες και αρτηριακή υπέρταση.....	<i>397</i>
13. Οξειδωτικό στρες και αρτηριακή υπέρταση.....	<i>419</i>
14. Αθηρωμάτωση και αγγειακός τόνος.....	<i>445</i>
15. Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επί καρδιακής ανεπάρκειας.....	<i>467</i>
<b>ΕΠΙΜΥΘΙΟ</b> .....	<i>487</i>
<b>ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ</b> .....	<i>491</i>





## **ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ**

**Κωνσταντίνος Λ. Παπαδόπουλος**  
*Ομ. Καθηγητής Καρδιολογίας*  
*τ. Διευθυντής της Β΄ Καρδιολογικής Κλινικής*  
*Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.*

**Βασίλειος Α. Κόκκας**  
*Καθηγητής Φαρμακολογίας*  
*Διευθυντής του Εργαστηρίου Π. Φαρμακολογίας*  
*Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.*

**Γεώργιος Κ. Σακαντάμης**  
*Καθηγητής Καρδιολογίας*  
*Διευθυντής της Β΄ Καρδιολογικής Κλινικής*  
*Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.*

**Αλεξάνδρα Π. Μισσοπούλου-Κόκκα**  
*Αν. Καθηγήτρια Βιοχημείας*  
*Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.*

**Αντώνιος Γ. Γούλας**  
*Επικ. Καθηγητής Φαρμακολογίας*  
*Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.*

**Παύλος Κ. Παπαδόπουλος**  
*Ιατρός-Καρδιολόγος*  
*Διδάκτορας Ιατρικής Δ.Π.Θ.*



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μοριακή φαρμακολογία μελετά τις ενέργειες των φαρμάκων στα διάφορα σημεία των βιοχημικών οδών του σήματος. Παράλληλα, ερευνά και εντοπίζει νέους στόχους για ανάλογες φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Καθώς η βιοτεχνολογία προοδεύει, ο στόχος για τη σύνθεση φαρμάκων με αυξημένη εκλεκτικότητα και ελεγχόμενο χρόνο δράσης γίνεται καθημερινά πιο απαιτητικός.

Ο εντοπισμός μοριακών στόχων και η σύνθεση φαρμάκων που θα τους επηρεάζουν είναι πάντα το πρώτο βήμα, αλλά αυτό δεν αρκεί. Χρειάζεται η *in vivo* αξιολόγηση των ευρημάτων αυτών δεδομένου ότι ο συνδυασμός γενετικών, βιοχημικών, φυσιολογικών, παθολογικών και περιβαλλοντολογικών επιρροών διαφοροποιεί πολλές φορές τη θεραπευτική αξία ανάλογων ανακαλύψεων.

Ένα ποσοστό 15% των ασθενών αντιδρά διαφορετικά στα φάρμακα σε σχέση με τον υπόλοιπο πληθυσμό. Αντιδρά είτε υπερβολικά, οπότε εμφανίζονται ανεπιθύμητες ενέργειες, είτε υποτονικά, οπότε δεν υπάρχει θεραπευτικό αποτέλεσμα. Οι αιτίες είναι πολλές τόσο σε φαρμακοκινητικές όσο και σε φαρμακοδυναμικές διαφοροποιήσεις. Ο γενετικός πολυμορφισμός είναι μία από τις αιτίες. Ειδικότερα όσον αφορά τον αγγειακό τόνο, πολλοί φαρμακολογικοί στόχοι όπως οι β-αδρενεργικοί υποδοχείς και το Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτασίνης εμφανίζονται σε πολλές ισομορφές που επηρεάζουν το θεραπευτικό αποτέλεσμα. Στο πεδίο αυτό, η έρευνα του ανθρώπινου γονιδιώματος που ακολουθεί την επιτευχθείσα χαρτογράφηση του ελπίζεται ότι θα δώσει σύντομα απαντήσεις και εξατομίκευση στη θεραπεία των διαταραχών του αγγειακού τόνου.

Είναι γνωστό ότι τα δύο κύρια λειτουργικά στοιχεία του αγγειακού τοιχώματος είναι το ενδοθήλιο και ο μυϊκός χιτώνας. Μέσω αυτών επιτελούνται πολλαπλές λειτουργίες και επηρεάζονται διάφοροι μηχανισμοί. Με βάση τα όσα αναπτύχθηκαν παραπάνω θα γίνει προσπάθεια να αναπτυχθούν συνοπτικά ορισμένα στοιχεία που άπτονται της μοριακής φαρμακολογίας των ενδοθηλιακών κυττάρων και των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος και τα οποία έχουν σχέση με τον αγγειακό τόνο.

Τα κεφάλαια που περιέχονται στο βιβλίο αυτό προέρχονται από επιλογή-αναθεώρηση, εκσυγχρονισμό και εμπλουτισμό δημοσιεύσεων των συγγραφέων σε ελληνικά και ξένα περιοδικά.

Η έκδοση αυτή συνοδεύεται από έναν μεγάλο αριθμό εικόνων. Αυτό κρίθηκε απαραίτητο για να καταστεί δυνατόν να κατανοηθούν όλοι οι επιμέρους λεπτοί και πολύπλοκοι μηχανισμοί που περιγράφονται στο κείμενο. Για κάθε εικόνα υπάρχει και αναφορά της προέλευσής της. Δημοσιεύονται επίσης επώφυμα, ύστερα από επιλογή, ορισμένες εικόνες οι οποίες προέρχονται από τις

εργασίες των φοιτητών στο μάθημα της Μοριακής Φαρμακολογίας. Το θεωρούμε ως ανταμοιβή για όσους εργάστηκαν σωστά.

Ευχαριστούμε επίσης τον εκδοτικό οίκο «Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις Σιώκης» που έφερε εις πέρας μία άρτια και επιμελημένη έκδοση.

Θεσσαλονίκη, Σεπτέμβριος 2007



**Β.Α.Κόκκας**

Καθηγητής Φαρμακολογίας  
Διευθυντής του Εργαστηρίου  
Πειραματικής Φαρμακολογίας  
της Ιατρικής Σχολής του Α.Π.Θ.



**Κ.Λ.Παπαδόπουλος**

Ομ. Καθηγητής Καρδιολογίας  
τ. Διευθυντής της Β΄ Καρδιολογικής Κλινικής  
της Ιατρικής Σχολής του Α.Π.Θ.



## ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΑΓΓΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

- 1 Μηχανισμοί αγγειοκίνησης
- 2 Υποδοχείς στο επίπεδο του αγγειακού τοιχώματος
- 3 Υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με G- πρωτεΐνη. Σχέσεις με αγγειοδραστικές ουσίες
- 4 Πυρηνικοί υποδοχείς, καρδιαγγειακό σύστημα και φάρμακα
- 5 Ασβέστιο και κάλιο ρυθμιστές του αγγειακού τόνου. Φαρμακολογικοί στόχοι



Claude Bernard  
(1813-1878)

Θεμελιωτής της πειραματικής έρευνας στην Ιατρική.  
Πρωτοπόρος στην έρευνα των συνάψεων.



## ΠΡΩΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΓΓΕΙΟΚΙΝΗΣΗΣ

Κ. Α. Παπαδόπουλος και Β. Α. Κόκκας

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Το ελεύθερο ενδοκυττάριο ασβέστιο  $[Ca^{2+}]_i$  αποτελεί τον τελικό μεσολαβητή για τη σύσπαση των αγγειακών λείων μυϊκών ινών. Η προσαγωγή και η δραστικότητα του ρυθμίζονται από διάφορους ενδοκυττάριους παράγοντες που επηρεάζουν την είσοδο εξωκυττάριου  $Ca^{2+}$ , και την απελευθέρωση  $Ca^{2+}$  από το σαρκοπλασματικό δίκτυο, καθώς και το βαθμό ενεργοποίησης των ενζύμων-στόχων του. Το δυναμικό μεμβράνης και οι χυμικοί παράγοντες  $IP_3$ , DAG, cAMP και cGMP είναι οι κύριοι μεσολαβητές της ενδοκυττάριας ρύθμισης. Το δυναμικό μεμβράνης και η ενδοκυττάρια σύνθεση των χυμικών παραγόντων καθώς και η διαβατότητα των διαύλων  $Ca^{2+}$  ελέγχονται από την ενεργοποίηση διαφόρων σαρκελημματικών υποδοχέων και το αποτέλεσμα της στις πρωτεΐνες G. Οι υποδοχείς αυτοί είναι στόχοι τεράστιου αριθμού νευρομεταβιβαστών καθώς και αυτοκρινικών, παρακρινικών και ορμονικών ουσιών. Το αποτέλεσμα των αγγειοκινητικών παραγόντων τροποποιείται από την παρακρινική λειτουργία του ενδοθηλίου. Τέλος, η απελευθέρωση νευρομεταβιβαστών ελέγχεται από διάφορους μηχανισμούς ανατροφοδότησης.*

#### **Ο ρόλος του ασβεστίου στη μυϊκή σύσπαση**

Η αγγειοκίνηση είναι μία λειτουργία πολύ στενά συνδεδεμένη με μεταβολές του ελεύθερου ενδοκυττάριου ασβεστίου  $[Ca^{2+}]_i$  και ογκώδης βιβλιογραφία έχει δημοσιευθεί επί του θέματος αυτού (1-14).

Το  $[Ca^{2+}]_i$  αποτελεί τον τελικό μεσολαβητή για την ενεργοποίηση του συνό-

λου, σχεδόν, των επιμέρους λειτουργιών που κάθε κύτταρο ή όργανο είναι προορισμένο να διεκπεραιώνει. Το  $[Ca^{2+}]_i$  επάγει τη λειτουργία διαφόρων ασβεστοοξεαρτημένων ενζύμων που καλούνται εκ τούτου καλμοδουλίνες και τα οποία κινητοποιούν τους σχετικούς μηχανισμούς. Η ακτομυοσίνη συμπεριφέρεται ως μία καλμοδουλίνη (15,16). Η ακτομυοσίνη ενεργοποιείται από την αύξηση του  $[Ca^{2+}]_i$  πάνω από ένα κρίσιμο επίπεδο. Η συγκέντρωση μεταβάλλεται κυκλικά, επιτρέποντας την περιοδική λειτουργία του κυττάρου (17,18).

Είναι τεκμηριωμένο ότι η ένταση της μυϊκής συστολής βρίσκεται σε θετική συσχέτιση με το  $[Ca^{2+}]_i$  (19,22). Στις λείες μυϊκές ίνες μία καλμοδουλίνη προκαλεί φωσφορυλίωση του ενζύμου κινάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase) που ενεργοποιεί την ακτομυοσίνη (23,24). Στη λειτουργία αυτή υποβοηθείται από τη διακυκλογλυκερόλη (DAG: Diacylglycerol), έναν ενδοκυττάριο μεσολαβητή, ο οποίος παράγεται ως παραπροϊόν από έναν εκ των κυρίων μηχανισμών που αποσκοπούν στην αύξηση του  $[Ca^{2+}]_i$ .

Τα μυοκύτταρα που υπόκεινται σε φασικές συστολές, όπως αυτά των σκελετικών μυών, του μυοκαρδίου και εκείνων από τους σπλαγχνικούς μύς που δημιουργούν περισταλτικά κύματα, επιτυγχάνουν την αύξηση του ελεύθερου κυτταροπλασματικού  $Ca^{2+}$  μέσω παροδικής εκπόλωσης (δυναμικό δράσεως). Από το άλλο μέρος, τα μυοκύτταρα που συστέλλονται τονικά, όπως τα αγγειακά, αυξάνουν το  $[Ca^{2+}]_i$  τους είτε μειώνοντας το δυναμικό της μεμβράνης τους είτε μέσω χυμικής διέγερσης διαφόρων σαρκειλημματικών υποδοχέων (25-27).

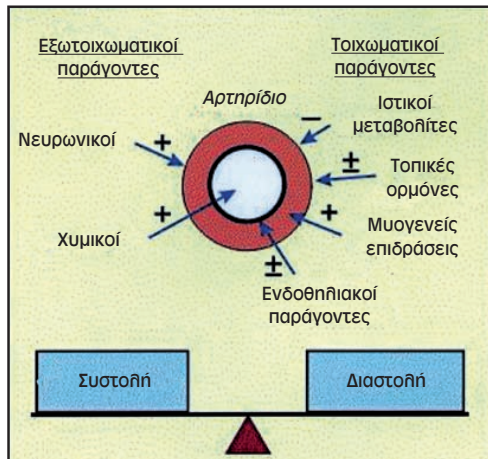
Η αύξηση του  $[Ca^{2+}]_i$  καθίσταται δυνατή από δύο πηγές: Αφενός  $Ca^{2+}$  εισέρχεται στο κύτταρο από τον εξωκυττάριο υγρό και αφετέρου  $Ca^{2+}$  απελευθερώνεται από ενδοκυττάρια δεξαμενές. Στα μυοκύτταρα οι δεξαμενές αυτές συνίστανται από το σαρκοπλασματικό ή ενδοπλασματικό δίκτυο (28).

Ο βαθμός εξάρτησης από το εξωκυττάριο  $Ca^{2+}$  ποικίλλει ανάλογα με την εξειδίκευση. Οι αγγειακές λείες μυϊκές ίνες εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το εξωκυττάριο  $Ca^{2+}$  για τη διατήρηση του τόνου τους. Αντίθετα, το εργατικό μυοκάρδιο έχει μεγάλες ενδοκυττάρια δεξαμενές και επηρεάζεται λιγότερο όταν εμποδίζεται η είσοδος εξωκυττάρια  $Ca^{2+}$ . Οι σκελετικοί μύες, εξάλλου, λειτουργούν ουσιαστικά χωρίς βραχυπρόθεσμη εξάρτηση από το εξωκυττάριο  $Ca^{2+}$  (29,30). Επιπρόσθετα, ο παράγοντας που προκαλεί τη συστολή μπορεί να παρουσιάζει κάποιο βαθμό εκλεκτικότητας σχετικά με τη διέγερση εισόδου ή απελευθέρωσης  $Ca^{2+}$ .

Η ένταση της συστολής των λείων μυών εξαρτάται από το ισοζύγιο ανάμεσα στην προμήθεια ελεύθερου κυτταροπλασματικού  $Ca^{2+}$  και την αφαίρεσή του. Το αποτέλεσμα του ισοζυγίου επηρεάζεται ακόμη από τη δραστηριότητα του  $[Ca^{2+}]_i$  στις θέσεις δράσης του.

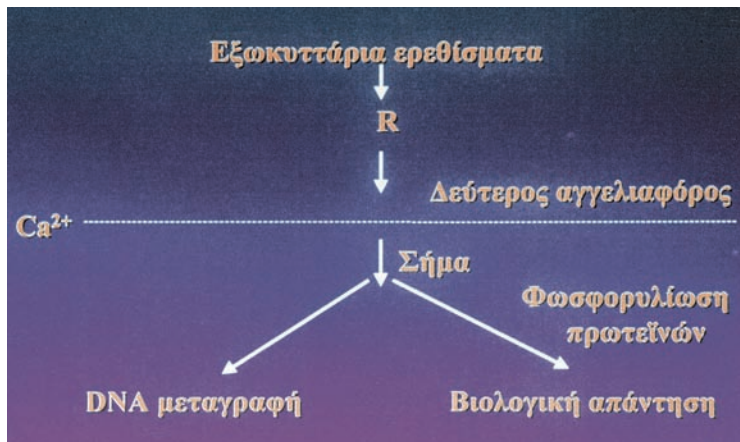
Πρόσφατα έχει εισαχθεί ο όρος ευαισθητοποίηση στο ασβέστιο (calcium sensitization). Με τον όρο αυτό περιγράφεται η κατάσταση εκείνη κατά την οποία διάφοροι παράγοντες αυξάνουν την ευαισθησία των λείων μυϊκών ινών





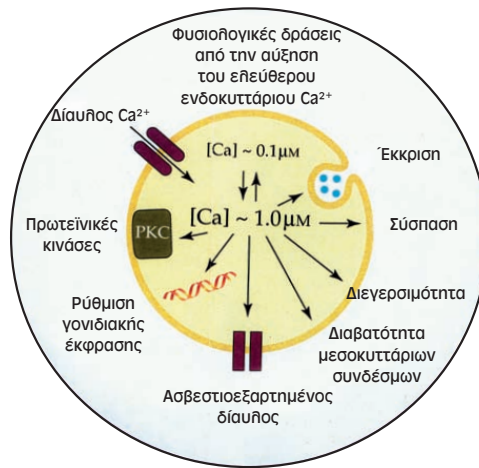
**Εικόνα 1.1: Αγγειακό τοίχωμα και αγγειοδραστικές ουσίες.** Αγγειοσυσπαστικές (+) και αγγειοδιασταλτικές (-) δράσεις τοιχωματικών και εξωτοιχωματικών παραγόντων. Οι επιδράσεις που οι παράγοντες αυτοί ασκούν στις συγκεντρώσεις του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  επηρεάζουν κατά κύριο λόγο τον αγγειακό τόνο ο οποίος, υπό φυσιολογικές συνθήκες, ευρίσκεται σε μια κατάσταση ισορροπίας ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες.

Klabunde R.: *Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin.* Google-Internet, 2005



**Εικόνα 1.2: Σχεδιάγραμμα το οποίο αναπαριστά την πορεία του ενδοκυττάριου βιοχημικού σήματος.** Το βιοχημικό ενδοκυττάριο σήμα το οποίο αναπτύσσεται μετά τη διέγερση του υποδοχέα κινείται προς δύο κατευθύνσεις: την πυροδότηση της βιολογικής απάντησης του κυττάρου και τη μεταφορά της πληροφορίας στον πυρήνα. Η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  αποτελεί κομβικό σημείο το οποίο προάγει τις δύο αυτές διαδικασίες. Όπου R (Receptor: Υποδοχέας).

B.A. Κόκκας, 2005



**Εικόνα 1.3:** Φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες που πυροδοτούνται από την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$ . Η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  αποτελεί κομβικό σημείο για την κυτταρική βιολογική απάντηση στα διάφορα ερεθίσματα. Στο σχεδιάγραμμα αυτό καταγράφονται οι κυριότερες επί μέρους ασβεστιοεξαρτώμενες κυτταρικές λειτουργίες. *Inside leaf, Trends Pharmacol. Sci, 1997*

στο  $Ca^{2+}$  και προάγουν τη σύσπασή τους έστω και αν η συγκέντρωση του  $[Ca^{2+}]_i$  δεν είναι κανή από μόνη της να προάγει τη μυϊκή σύσπαση. Περιγραφή θα γίνει σε ειδικό κεφάλαιο.

### Διακίνηση του ασβεστίου

Η προμήθεια του  $[Ca^{2+}]_i$  προέρχεται από είσοδο και από απελευθέρωση, όπως ήδη λέχθηκε. Η είσοδος πραγματοποιείται διαμέσου διαφόρων οδών ως κάτωθι:

Η λανθάνουσα είσοδος είναι αποτέλεσμα ενδοστρεφούς διαρροής (31). Η μαζική είσοδος προκαλείται από τη διάνοιξη των κατάλληλων διαύλων κατόπιν διέγερσης. Για να εισέλθει εξωκυττάριο  $Ca^{2+}$  στο κύτταρο, η μείωση του δυναμικού μεμβράνης ανοίγει ηλεκτροστατικά ελεγχόμενες πύλες σε κατάλληλους δυναμικοευαίσθητους διαύλους (POC: Potential Operating Channels). Εναλλακτικά, ένας χυμικός μεσολαβητής, αφού προσκολληθεί σε έναν υποδοχέα, μετασχηματίζει κάποια πρωτεΐνη που φράσσει τον χημειοευαίσθητο ή εξαρτώμενο από υποδοχέα διάυλο (ROC: Receptor Operating Channel), ούτως ώστε να τον ανοίξει (24,25).

Για να απελευθερωθεί  $Ca^{2+}$  αποθηκευμένο στο σαρκοπλάσματικό δίκτυο υπάρχουν διάφοροι τρόποι:

A. Επέκταση της εκπόλωσης στις ενδοκυττάριες μεμβράνες, η οποία οδηγεί σε άνοιγμα διαύλων POC.

Β. Άνοιγμα διαύλων προκαλούμενο από την είσοδο εξωκυττάριου  $Ca^{2+}$ .

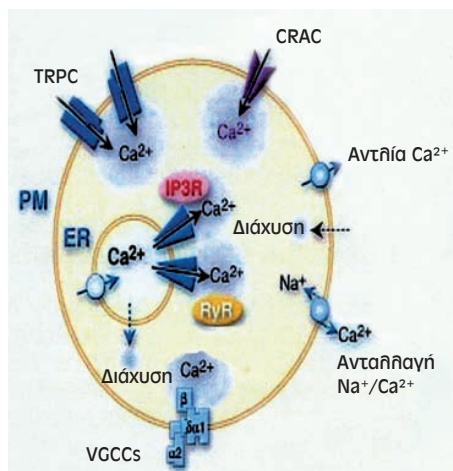
Γ. Χυμική διέγερση υποδοχέων του σαρκειλήμματος, η οποία προκαλεί, κατόπιν διέγερσης της φωσφορολιπάσης C, το σχηματισμό τριφωσφορικής ινοσιτόλης ( $IP_3$ ) και διακυλογλυκερόλης (DAG) από τη διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη ( $PIP_2$ ) των λιποειδών της κυτταρικής μεμβράνης. Η  $IP_3$  ανοίγει διαύλους διόδου  $Ca^{2+}$  στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου, ενδεχομένως δε και στο σαρκείλημμα. Η DAG ευαισθητοποιεί την κίνηση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase) έναντι του  $[Ca^{2+}]_i$ . Η ευαισθητοποίηση είναι ενίοτε τόσο ισχυρή ώστε, όπως ήδη αναφέρθηκε, να προκαλείται συστολή ακόμη και με επίπεδα  $[Ca^{2+}]_i$  ηρεμίας. Το αποτέλεσμα αυτό ενισχύεται με ενδοκυττάρια αλκάλωση. Την αλκάλωση επάγει η DAG διότι ενεργοποιώντας την πρωτεϊνική κίνηση C (PKC: Protein Kinase C) επιταχύνει την αντλία ανταλλαγής  $H^+/Na^+$ . Είναι γνωστό ότι υφίσταται ανταγωνισμός μεταξύ  $H^+$  και  $Ca^{2+}$  στις λειτουργικές θέσεις.

Η αφαίρεση του  $[Ca^{2+}]_i$  πραγματοποιείται τόσο με ενδοκυττάρια εναποθήκευση όσο και με εκδίωξη εξωκυττάρως. Οι λειτουργίες αυτές ρυθμίζονται από τη δραστηριότητα των κατάλληλων αντλιών (32,33). Οι αντλίες αυτές λειτουργούν με δύο διαφορετικούς μηχανισμούς:

Ο ένας είναι η μεταφορά  $Ca^{2+}$  με τη βοήθεια ενέργειας προερχόμενης αμέσως από την ATP ( $Ca^{2+} - ATPase$ ). Ο άλλος είναι η ανταλλαγή  $Ca^{2+}$  με  $Na^+$ . Η αναγκαία ενέργεια παρέχεται από την ηλεκτροχημική βάρθρωση  $Na^+$  που υπερέχει εκείνης του  $Ca^{2+}$ . ATP καταναλώνεται από την αντλία ανταλλαγής  $Na^+/K^+$  που διατηρεί την παραπάνω βάρθρωση του  $Na^+$ . Όσο μεγαλύτερη είναι η ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων  $Na^+$  τόσο μικρότερη είναι η βάρθρωσή τους, με αποτέλεσμα μικρότερο ρυθμό ανταλλαγής  $Ca^{2+}/Na^+$  άρα και εκδίωξη  $Ca^{2+}$ , συνεπώς δε ενδοκυττάρια άθροιση  $Ca^{2+}$ . Παρόμοιο αποτέλεσμα εξασκείται από την εμφάνιση ενδοκυττάριας οξέωσης, ιδιαίτερα δε αν συνυπάρχουσα εξωκυττάρια οξέωση ανακουφισθεί ταχέως, όπως συμβαίνει κατά την επαναιμάτωση. Σε τέτοια περίπτωση λαμβάνει χώρα ταχεία ανταλλαγή ενδοκυττάριου  $H^+$  με εξωκυττάριο  $Na^+$  μέσω αρμόδιας αντλίας, η οποία εμπλουτίζει το κυτταρόπλασμα με  $Na^+$  που αναστέλλει την εκδίωξη του  $Ca^{2+}$  που εισήλθε στην ισχαιμική φάση και οδηγεί στη μετα-ισχαιμική σύσπαση (34).

Η αποτελεσματικότητα του  $[Ca^{2+}]_i$  εξαρτάται όχι μόνον από τη δυνατότητα του  $Ca^{2+}$  να προσηλώνεται στις θέσεις από όπου εξασκεί την ενεργοποιητική αποστολή του, αλλά ακόμη από την αποτελεσματικότητα ορισμένων ανασταλτικών παραγόντων που ενεργούν στις καλμοδουλίνες (35).

Η MLCK αποτελεί ένζυμο-κλειδί για την ενεργοποίηση της ακτομυοσίνης των λείων μυϊκών ινών, το οποίο υπόκειται στη ρυθμιστική επίδραση ενδοκυττάρων μεσολαβητών όπως η c-AMP (cyclic Adenosine Monophosphate) και η c-GMP (cyclic Guanosine Monophosphate). Από την άλλη, το ενδοκυτ-



**Εικόνα 1.4: Διακίνηση του  $Ca^{2+}$  σε κυτταρικό επίπεδο.** Η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  πραγματοποιείται με την είσοδό του από τον εξωκυττάριο χώρο μέσω διαύλων δυναμικοευαίσθητων (VGCC: Voltage Gated Calcium Channel) και δυναμικοευαίσθητων διαύλων  $Ca^{2+}$  παροδικής διαβατότητας (TRPC: Transient Receptor Potential related Channels) της κυτταρικής μεμβράνης (PM: Plasma Membrane), καθώς και από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες όπως είναι το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER: Endoplasmic Reticulum) μέσω της διέγερσης των υποδοχέων της τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP<sub>3</sub>: Inositol Triphosphate) και της ρυανοδίνης (RyR: Ryanodine Receptor) που ευρίσκονται στις μεμβράνες των οργανυλίων αυτών. Η ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  πραγματοποιείται τόσο με ενδοκυττάρια εναποθήκευση στο ER όσο και με την εξωκυττάρια εκδίωξή του. Οι λειτουργίες αυτές ρυθμίζονται και στις δύο περιπτώσεις από τη δραστηριότητα των κατάλληλων αντλιών ( $Ca^{2+}$  Pump, Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> Exchanger). Όπου α2, δ1, β είναι οι επιμέρους υπομονάδες του διαύλου VGCC του  $Ca^{2+}$ , CRAC ( $Ca^{2+}$  Release-Activated  $Ca^{2+}$  Channel: Δίαυλος  $Ca^{2+}$  που ενεργοποιείται από απελευθέρωση ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$ ).

Δ. Γιαννακίδης- Internet, 2005

τάριο pH ρυθμίζει την πρόσβαση του  $Ca^{2+}$  στις θέσεις προσήλωσής του, διότι το H<sup>+</sup> ανταγωνίζεται το  $Ca^{2+}$  στην κατάληψη των θέσεων αυτών. Οι παράγοντες που οδηγούν σε ενδοκυττάρια αλκάλωση, όπως η DAG η οποία επισπεύδει το ρυθμό λειτουργίας της αντλίας ανταλλαγής H<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>, αυξάνουν την αποτελεσματικότητα του [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> και οδηγούν όχι μόνον σε συστολή τις λείες μυϊκές ίνες, αλλά ακόμη και σε υπερτροφία ή υπερπλασία κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες μέσω της ενεργοποίησης της PKC. Όλοι αυτοί οι παράγοντες συμβάλλουν στην ευαισθητοποίηση στο ασβέστιο για την οποία έχει γίνει ήδη αναφορά.

### Ενδοκυττάρια μεσολαβητές

Η ρύθμιση της προμήθειας απομάκρυνσης και δραστηριότητας του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  τελεί υπό τον έλεγχο διαφόρων ενδοκυττάρια μεσολαβητών. Μεταξύ αυτών η IP<sub>3</sub>, η IP<sub>4</sub>, η DAG, η c-AMP και η c-GMP κυριαρχούν (36-39). Οι τρεις πρώτοι είναι διεγερτικοί της συστολής και οι άλλοι δύο ανα-

σταλτικοί.

Η IP<sub>3</sub> προκαλεί κυρίως απελευθέρωση Ca<sup>2+</sup> από το σαρκοπλασματικό δίκτυο. Η τετραφωσφορική ινοσιτόλη (IP<sub>4</sub>), μεταβολικό παράγωγο της IP<sub>3</sub>, διευκολύνει την είσοδο εξωκυττάρου Ca<sup>2+</sup>. Ο οδωτικός ρόλος της DAG έχει ήδη αναπτυχθεί (17).

Η c-AMP ενεργεί μέσω διαφόρων οδών οι οποίες δεν είναι απολύτως γνωστές. Μεταξύ άλλων μειώνει την είσοδο Ca<sup>2+</sup> μέσω μείωσης της σύνθεσης των α-αδρενεργικών υποδοχέων και με τον ίδιο μηχανισμό μειώνει την απελευθέρωση ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup>, προφανώς αναστέλλοντας τη σύνθεση IP<sub>3</sub>. Από την άλλη, αυξάνει το ρυθμό εκδίωξης και ενδοκυττάρου περιορισμού του στις θέσεις εναποθήκευσης, καθώς διεγείρει το ρυθμό λειτουργίας των αντλιών - ΑΤΡασών Ca<sup>2+</sup> και Na<sup>+</sup>. Τέλος, αναστέλλει την ενεργοποίηση της MLCK (40).

Οι μηχανισμοί της c-GMP δεν είναι επίσης απόλυτα γνωστοί. Πιστεύεται ότι μειώνει τη διαθεσιμότητα του Ca<sup>2+</sup> αναστέλλοντας τη σύνθεση της IP<sub>3</sub> και διεγείροντας την αντλία Ca<sup>2+</sup>/Na<sup>+</sup>. Φαίνεται, επίσης, ότι αυξάνει τη δέσμευση και εκδίωξη Ca<sup>2+</sup> και ότι αναστέλλει τη δράση της MLCK. Τέλος, αναστέλλοντας τη λειτουργία των διαύλων εισόδου Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> - 2Cl<sup>-</sup>, ομοίων προς εκείνους της αγκύλης του Henle, μειώνει τον εμπλουτισμό του κυττάρου με Na<sup>+</sup> και κατ' επέκταση με Ca<sup>2+</sup> (41-45).

Η σύνθεση και η αποικοδόμηση των παραπάνω μεσολαβητών καθώς και η λειτουργική κατάσταση των διαύλων ROC και των αντλιών ιόντων στις πλείστες, αν όχι σε όλες, τις περιπτώσεις ρυθμίζονται από τις G-πρωτεΐνες. Αυτές παριστούν ένα υψηλότερου επιπέδου ενδοκυττάριο ρυθμιστικό σύστημα σε σχέση με τους ήδη αναφερθέντες ενδοκυττάρους μεσολαβητές. Οι πρωτεΐνες G συνδέονται με τους σαρκειλημμάτικούς υποδοχείς και μετατρέπουν τη διέγερση των υποδοχέων σε διέγερση ενδοκυττάριας λειτουργίας όπως η σύνθεση, η αποικοδόμηση ενδοκυττάρων μεσολαβητών και η δράση σε διαύλους ή υποδοχείς.

Οι G-πρωτεΐνες ονομάζονται έτσι διότι λειτουργούν κατόπιν της σύνδεσης εναλλακτικά προς τη δι- ή την τρι-φωσφορική γουανωσίνη (GDP ή GTP αντιστοίχως). Η σύνδεση με τη GDP επιτρέπει σε αυτές να προσκολληθούν στους υποδοχείς εφόσον αυτοί βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας. Η διέγερση του υποδοχέα οδηγεί σε αποσύνδεση της GDP και σύνδεση της GTP. Η σύνδεση της GTP οδηγεί σε στεροχημικές μεταβολές της πρωτεΐνης G που την απελευθερώνουν από τον υποδοχέα. Με τη μορφή αυτή η πρωτεΐνη G προσκολλάται στο εκτελεστικό σύστημα πρωτεϊνών ή ενεργοποιητών που είναι υπεύθυνο για τη μεταγωγή του σήματος. Η ακολουθούσα μετάπτωση της GTP σε GDP από μία GTP-άση απελευθερώνει στη συνέχεια την G-πρωτεΐνη από το εκτελεστικό σύστημα μετά την εκπλήρωση του ρόλου της, διακόπτοντας τη δράση της. Στη συνέχεια, η G-πρωτεΐνη που είναι πλέον συνδεδεμένη με την GDP επανέρχεται

στην αρχική της θέση πλησίον του υποδοχέα και αναμένει την εκ νέου διέγερση αυτού, ώστε να ξεκινήσει νέος κύκλος μετάδοσης του σήματος (46-56).

### Μηχανισμοί δράσης των αγγειοκινητικών παραγόντων

Η πλειοψηφία των ενδογενών ή εξωγενών αγγειοκινητικών παραγόντων εξασκεί τα άμεσα ή έμμεσα αποτελέσματά των επί των λείων μυϊκών ινών των αγγείων με τους ακόλουθους μηχανισμούς:

- α) Ελέγχοντας τις πύλες των διαύλων ROC του  $Ca^{2+}$ . Πρόσφατες έρευνες υποδηλώνουν ότι οι διάυλοι ROC πιθανόν να μην υφίστανται στην κυτταρική μεμβράνη και ότι η χημειοευαίσθητη διαστηριότητα συνίσταται σε χημειοευαίσθητη μείωση του ουδού διανοίξεως των ROC διαύλων του  $Ca^{2+}$ . Το πιθανότερο είναι ότι αφορούν συγκεκριμένους διαύλους και ότι το σύμπλεγμα βγ της G-πρωτεΐνης δημιουργεί την επαφή αυτή. Εντούτοις, εξακριβωμένα, διάυλοι ROC ευρίσκονται στη μεμβράνη των ενδοκυττάρων οργανυλίων (57,58).
- β) Ρυθμίζοντας την έξοδο  $K^+$  που ανταγωνίζεται την αποπόλωση.
- γ) Αυξάνοντας ή μειώνοντας τα επίπεδα των ενδοκυττάρων μεσολαβητών κατόπιν διέγερσης ή αναστολής των ενζύμων δημιουργίας ή καταβολισμού των.
- δ) Δια μέσου της σύνθεσης προσταγλανδινών (PGs:Prostaglandines) (46). Οι PGs λειτουργούν ως εκκρινόμενοι αυτοκρινικοί και παρακρινικοί μεσολαβητές, ρυθμίζοντας τα επίπεδα της c-AMP μέσω της αύξησης ή της ελάττωσης της δραστηριότητας της αδενυλοκυκλάσης (34).

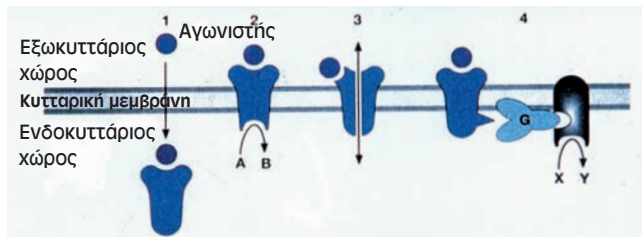
Όλοι οι αγγειοκινητικοί παράγοντες πρέπει να επιδράσουν σε κατάλληλους κυτταρικούς υποδοχείς για να εξασκήσουν τη δράση τους.

### Κυτταρικοί υποδοχείς

Οι υποδοχείς που έχουν αγγειοκινητικό αποτέλεσμα είναι διατεταγμένοι σε διάφορα επίπεδα από το κεντρικό νευρικό σύστημα μέχρι τις αγγειακές μυϊκές ίνες (59-64).

Μέσα στα αγγειακά τοιχώματα διατάσσονται και σε τρία επίπεδα:

- α) Στο επίπεδο των μετασυναπτικών υποδοχέων επί των λείων μυϊκών ινών, όπου η διέγερση προκαλεί άμεσο αποτέλεσμα.
- β) Στο επίπεδο των απολήξεων των συμπαθητικών και παρασυμπαθητικών νευρών (προσυναπτικοί υποδοχείς), όπου ρυθμίζουν την ποσότητα των εκκρινόμενων νευρομεταβιβαστών κατά τη διάρκεια της διέγερσης του νευρού.
- γ) Στο επίπεδο των ενδοθηλιακών κυττάρων, όπου προκαλούν τη σύνθεση και



**Εικόνα 1.5: Διακίνηση σημάτων δια της κυτταρικής μεμβράνης.** 1. Η ενδογενής ουσία ή ένα φάρμακο που δρουν ως αγωνιστές και είναι λιποδιαλυτά περνούν δια της κυτταρικής μεμβράνης και διεγείρουν τον ενδοκυττάριο υποδοχέα που μπορεί να είναι ένα ένζυμο ή ένας πυρηνικός υποδοχέας ρυθμιστής της γονιδιακής μεταγραφής. 2. Ο αγωνιστής συνδέεται με το εξωκυττάριο τμήμα μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης και ενεργοποιεί το ενδοκυττάριο τμήμα της που είναι ένζυμο. 3. Ο αγωνιστής συνδέεται με τον υποδοχέα ο οποίος περιέχει στο μόριό του και διάυλο ιόντων. 4. Ο αγωνιστής συνδέεται με τον υποδοχέα ο οποίος μέσω της G-πρωτεΐνης διεγείρει τον ενεργοποιητή.

*Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics", 2001*

έκλυση αγγειοκινητικών παραγόντων που φυσιολογικά είναι αγγειοδιασταλτικοί υπό ορισμένες όμως συνθήκες προκαλείται η έκκριση αγγειοσυσταλτικών τοιούτων.

Πολλές φορές οι διάφοροι αγγειοκινητικοί παράγοντες εξασκούν διαφορετικές ή ακόμη αντιτιθέμενες δράσεις ανάλογα προς το είδος των υποδοχέων όπου επιδρούν. Η κατανομή και οργάνωση των υποδοχέων σε διάφορα επίπεδα και το διαφορετικό κατά θέσεις αποτέλεσμα της λειτουργίας των επιτρέπουν να κατευθύνεται η άρδευση κατάλληλα και επίσης εξασθενούν τη βλαπτική καταχρηστική επίδραση των αγγειοσυσπαστικών παραγόντων.

Οι παραπάνω αναφερθέντες υποδοχείς κινητοποιούν βιοχημικά σήματα μέσα στο κύτταρο, τα οποία οδηγούν στη βιολογική απάντηση, και στην προκειμένη περίπτωση στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, παράλληλα όμως στέλνουν και μηνύματα προς τον πυρήνα πληροφορώντας τον για τις συνθήκες που επικρατούν τόσο στον εξωκυττάριο όσο και στον ενδοκυττάριο χώρο. Το  $Ca^{2+}$  έχει κρίσιμο ρόλο στη μετάδοση των σημάτων αυτών και οι βιοχημικοί οδοί που κινητοποιούνται από το ιόν αυτό ρυθμίζουν και τη γονιδιακή έκφραση (65).

### Λείες μυϊκές ίνες

Στο επίπεδο των λείων μυϊκών ινών, οι παράγοντες που προκαλούν ή διευκολύνουν τη συστολή επιδρούν σε υποδοχείς που ανοίγουν διαύλους ROC (με τις προαναφερθείσες επιφυλάξεις για τη φύση τους), προκαλούν σύνθεση  $IP_3$  ή  $IP_4$  και DAG, ή μειώνουν τα επίπεδα της cAMP και της cGMP. Οι κυριώτεροι υποδοχείς αυτού του είδους είναι οι αδρενεργικοί  $\alpha_1$  και  $\alpha_2$ , οι χολινεργικοί  $M_1$ , οι της σεροτονίνης  $5-HT_2$  και  $5-HT_3$ , οι ισταμινεργικοί  $H_1$ , οι πουρινεργικοί  $P_2$  που είναι ATP-φιλοι, οι της βαζοπρεσίνης  $V_1$ , οι κινινεργικοί  $K_1$  και  $K_2$

και οι υποδοχείς της θρομβοξανθής  $A_2$  ( $TXA_2$ ), των κυκλικών ενδοϋπεροξειδίων ( $PGG_2$ ,  $PGH_2$ ), της προσταγλανδίνης  $PGF_2$  και της αγγειοτασίνης II ( $AT_1$ ) (66-71).

Οι παράγοντες που εμπλέκονται άμεσα στη χάλαση των λείων μυϊκών ινών ενεργούν με τους αντίθετους τρόπους: Υπερπολώνουν τις λείες μυϊκές ίνες, αυξάνουν τα επίπεδα της cAMP και της cGMP, αποκλείουν τους υποδοχείς αγγειοσυσπαστικών παραγόντων ή αναστέλλουν τη λειτουργία καλμοδουλινών. Οι κυριότεροι υποδοχείς που αντιδρούν με τέτοιους παράγοντες είναι οι αδρενεργικοί  $\beta_2$ , οι πουρινεργικοί  $P_1$  που είναι αδενোসινοφιλοι, οι δοπαμινεργικοί  $D_1$  και εκείνοι για τις προσταγλανδίνες  $PGI_2$ ,  $PGE_1$ , του ενδοθηλιακής προέλευσης αγγειοδιασταλτικού παράγοντα (EDRF: Endothelium Derived Relaxing Factor) που δεν είναι τίποτε άλλο παρά οξειδίο του αζώτου (NO), του όμοιας προέλευσης υπερπολωτικού παράγοντα (EDHF: Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor) και του κοιλιακού νατριουρητικού πεπτιδίου (ANP: Atrial Natriuretic Peptide) (41,72-75).

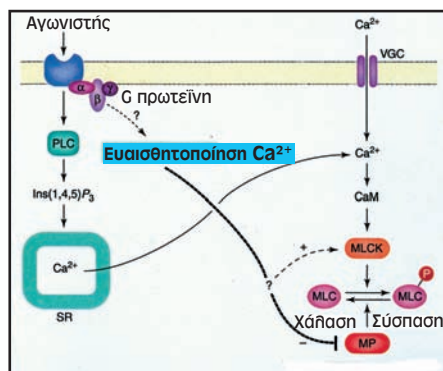
Σε όλους αυτούς τους υποδοχείς και τις διεγείρουσες ενδογενείς ουσίες καθώς και στα φάρμακα που επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά τους μηχανισμούς αυτούς θα γίνει εκτενής αναφορά στα κεφάλαια που ακολουθούν.

### **Προσυναπτική μεμβράνη**

Στο επίπεδο των απολήξεων των συμπαθητικών και παρασυμπαθητικών νευρών λειτουργούν διάφοροι μηχανισμοί που αποσκοπούν στο να ενισχύσουν ή να εξασθενίσουν την απελευθέρωση νευρομεταβιβαστών. Εφόσον η απελευθέρωση νευρομεταβιβαστών είναι συνάρτηση του επιπέδου του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στις νευρικές απολήξεις, η αναστολή εισόδου εξωκυττάρου  $Ca^{2+}$  κατά τη διάρκεια του δυναμικού δράσεως μειώνει την απελευθέρωση των νευρομεταβιβαστών, ενώ η ευόδωση της εισόδου  $Ca^{2+}$  την αυξάνει (76).

Στις νευρικές απολήξεις υπάρχουν τόσο αρνητικά όσο και θετικά συστήματα ανατροφοδότησης. Η υπερβολική απελευθέρωση ενός νευρομεταβιβαστού δρά ανασταλτικά επί της περαιτέρω έκκρισής του κατόπιν διέγερσης κατάλληλων προσυναπτικών υποδοχέων (77). Παράδειγμα τέτοιας δράσης παρέχεται από τη νοραδρεναλίνη η οποία σε μεγάλες συγκεντρώσεις μέσα στη συναπτική σχισμή διεγείρει τους ανασταλτικούς προσυναπτικούς  $\alpha_2$  - αδρενεργικούς υποδοχείς. Από την άλλη πλευρά, η διέγερση των προσυναπτικών αδρενεργικών  $\beta_2$  - υποδοχέων από χαμηλότερες συγκεντρώσεις νοραδρεναλίνης, ανεπαρκείς να διεγείρουν  $\alpha_2$  υποδοχείς, καθώς και η διέγερση υποδοχέων αγγειοτασίνης II, εξασκούν οδωτικό ρόλο στην έκκριση συμπαθητικογενών νευρομεταβιβαστών. Θα έπρεπε να τονιστεί ότι η αγγειοτασίνη II στο αγγειακό τοίχωμα εξαρτάται κυρίως από το τοπικό σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης, που εν μέρει διεγείρεται από την ήδη εκκριθείσα νοραδρεναλίνη ( $\beta$ -αδρενεργική δράση).





**Εικόνα 1.6:** Ευαισθητοποίηση του μηχανισμού διακίνησης του  $\text{Ca}^{2+}$  που οδηγεί στη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Αγγειοδραστικές ουσίες όπως η 5-HT, η νοραδρεναλίνη, η αγγειοτασίνη II και η ενδοθηλίνη 1 διεγείρουν τους υποδοχείς GPCR (G-Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς συνδεόμενοι με πρωτεΐνη G) στην κυτταρική μεμβράνη. Η πληροφορία μεταδίδεται μέσω της  $G_q$ -πρωτεΐνης (α υπομονάδα -σύμπλοκο βγ) στο σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC:Phospholipase C). Η ενεργοποίηση της PLC οδηγεί στο σχηματισμό της τριφωσφορικής 1,4,5 ινοσιτόλης ( $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ ; 1,4,5 Inositol Triphosphate) και της διακυλογλυκερόλης (DAG:Diacylglycerol). Η  $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$  περνά στο κυτταρόπλασμα και διεγείρει τους υποδοχείς της στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου (SR: Sarcoplasmic Reticulum) και απελευθερώνει  $\text{Ca}^{2+}$ . Από τον εξωκυττάριο χώρο μέσω δυναμικοευαίσθητων διαύλων (VGCC: Voltage Gated Channel) εισέρχεται επίσης  $\text{Ca}^{2+}$ . Η αύξηση αυτή του ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  επιτείνει την ένωση του ιόντος αυτού με την καλμοδουλίνη (CaM:Calmodulin) και το σχηματισμό συμπλόκου μεταξύ των δύο. Το σύμπλοκο αυτό ενεργοποιεί την κινάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase) η οποία φωσφορυλιώνει (P) την ελαφρά αλυσό της μυοσίνης (MLC: Myosin Light Chain). Η φωσφορυλίωση αυτή προάγει την ένωση της μυοσίνης και της ακτίνης και τη σύσπαση της λείας μυϊκής ίνας. Η ελάττωση του ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  απενεργοποιεί την MLCK και επιτρέπει στη μυοσινική φωσφατάση (MP: Myosin Phosphatase) να αποφωσφορυλιώσει τη MLC. Η αποφωσφορυλίωση αυτή προάγει τη χάλαση της λείας μυϊκής ίνας.

*Trends Pharmacol. Sci, 22:2001*

Η εξασθένιση της απελευθέρωσης των νευρομεταβιβαστών επιτυγχάνεται ακόμη από την έκκριση νευρομεταβιβαστών του ανταγωνιστικού σκέλους του φυτικού νευρικού συστήματος από παρακείμενες νευρικές απολήξεις, κατόπιν αντανακλαστικής διέγερσης του σκέλους αυτού από υπερβολικό πρωτογενές αγωνιστικό αποτέλεσμα. Τέτοιο ρόλο διαδραματίζουν οι παρασυμπαθητικοί χολινεργικοί υποδοχείς  $M_2$  στις απολήξεις των νεύρων του συμπαθητικού. Ανάλογο ρόλο στις ίδιες απολήξεις έχουν οι σεροτονινεργικοί  $5HT_1$ , οι πουρινεργικοί αδενοσινόφιλοι  $P_1$ , οι ισταμινεργικοί  $H_2$ , οι δοπαμινεργικοί  $D_2$ , οι προσταγλανδινεργικοί  $PGE_1$  και άλλοι υποδοχείς. Ο μηχανισμός δράσης των παραγόντων που ρυθμίζουν την έκκριση των νευρομεταβιβαστών συνίσταται κυρίως στη ρύθμιση της λειτουργίας των διαύλων  $\text{Ca}^{2+}$  και των διαύλων  $\text{K}^+$ . Οι τελευταίοι ανταγωνίζονται την αποπόλωση της απολήξης του νεύρου. Οι λειτουργίες αυτές εξυπηρετούνται με τις πρωτεΐνες G και τα συστήματα  $\text{IP}_3$ , DAG, cAMP και cGMP.

### Ενδοθηλιακά κύτταρα

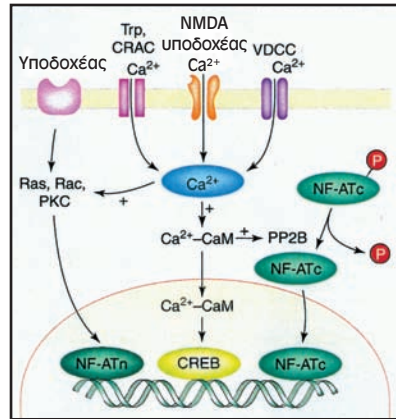
Στο επίπεδο των ενδοθηλιακών κυττάρων, διάφοροι παράγοντες, που είναι γνωστοί ως αγγειοσυσταλτικοί, δρουν ως ανταγωνιστές της αγγειοσύσπασης με σκοπό να εξασθενίσουν την καταχρηστική αγγειοσύσπαση (46,78).

Τα φυσιολογικά ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν τους διάφορους παράγοντες των όταν αυξηθεί το  $[Ca^{2+}]_i$  σε αυτά (79). Αυξημένα επίπεδα του  $[Ca^{2+}]_i$  υπάρχουν στα ηρεμούντα ενδοθηλιακά κύτταρα που ευρίσκονται σε κατάσταση υπερπόλωσης υπό την επίδραση φυσιολογικών μηχανικών ερεθισμάτων από την κανονική ροή του αίματος στο αγγείο (80).

Οι αγγειοσυσπαστικοί ή βλαπτικοί παράγοντες προκαλούν εντός των ενδοθηλιακών κυττάρων τη δημιουργία  $IP_3$ , με συνέπεια την αύξηση του  $[Ca^{2+}]_i$  (79). Έτσι κινητοποιούνται διάφοροι μεταβολικοί μηχανισμοί, των οποίων τα κύρια τελικά προϊόντα με αγγειοκινητική δράση που εκκρίνονται είναι η προστακυκλίνη ( $PGI_2$ ), το οξείδιο του αζώτου NO και ο υπερπολωτικός παράγοντας (EDHF). Οι παράγοντες αυτοί δρουν επί των λείων μυϊκών ινών χαλαρωτικά μέσω της αύξησης της cAMP, της cGMP και του δυναμικού μεμβράνης, αντίστοιχα (47).

Η καταστροφή ή η ανικανότητα του ενδοθηλίου να χορηγήσει τους παραπάνω παράγοντες, καθώς και η μειωμένη διαπερατότητα του υπενδοθηλιακού χώρου που εμποδίζει την πρόσβασή των στον μυϊκό χιτώνα εκθέτουν το αγγείο σε ακραίες αγγειοσυσπαστικές αντιδράσεις (47).

Αγγειοσυσπαστικές ουσίες εκκρίνονται από το δυσλειτουργικό ενδοθήλιο, δηλαδή από ενδοθήλιο που έχει εκτεθεί επί μακρόν στη βλαπτική επίδραση μηχανικών, μεταβολικών, χυμικών ή τοξικών παραγόντων, όπως η αυξημένη αρτηριακή πίεση, η υπερχοληστερολαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης, το μονοξείδιο του άνθρακα (καπνιστές), οι ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες κ.λπ. Τα αναγεννώμενα ενδοθηλιακά κύτταρα επίσης συμπεριφέρονται ως δυσλειτουργικά επί αρκετούς μήνες. Κατά τη διάρκεια της δυσλειτουργίας, οι μεταβολικές οδοί των ενδοθηλιακών κυττάρων εκτρέπονται προς τη σύνθεση αγγειοσυσπαστικών τελικών προϊόντων. Τούτο εν μέρει οφείλεται στην αναστολή των τελικών ενζυμικών συστημάτων που μετατρέπουν τα ενδιάμεσα μεταβολικά προϊόντα που έχουν αγγειοσυσταλτική δράση σε τελικά αγγειοδιασταλτικά τοιούτα, ή στην καταστροφή των τελικών φυσιολογικών προϊόντων. Τα αγγειοσυσπαστικά προϊόντα περιλαμβάνουν διάφορους ενδοθηλιακής προέλευσης αγγειοσυσπαστικούς παράγοντες (EDCFs: Endothelium Derived Contracting Factors), ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες και αγγειοσυσπαστικές προσταγλανδίνες ( $PGH_2$ ,  $TXA_2$ ,  $PGF_2$ ). Η υποξία, από την άλλη πλευρά, ωθεί το ενδοθήλιο στην έκκριση διαφόρων πεπτιδίων με αγγειοσυσπαστικό αποτέλεσμα, που καλούνται ενδοθηλίνες.



**Εικόνα 1.7:** Ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης από τα σήματα του  $Ca^{2+}$ . Αναπαρίστανται οι σηματοδοτικές οδοί προς τα γονίδια, οι οποίες κινητοποιούνται από την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$ . Όπου TRP (Transient Receptor Potential related channels: Δυναμικοευαίσθητοι διάλυοι  $Ca^{2+}$  παροδικής διαβατότητας), CRAC ( $Ca^{2+}$  Release Activated  $Ca^{2+}$  Channel: Δίαυλος  $Ca^{2+}$  που ενεργοποιείται από κένωση των ενδοκυττάριων αποθηκών  $Ca^{2+}$ ), NMDA receptor (Ιονοτροπικός υποδοχέας του NMDA), VDCC (Voltage Dependent  $Ca^{2+}$  Channel: Δυναμικοευαίσθητος διάυλος  $Ca^{2+}$ ), CRAC ( $Ca^{2+}$  Release Activated  $Ca^{2+}$  Channel: Δίαυλος  $Ca^{2+}$  που ενεργοποιείται από την απελευθέρωση ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$ ), PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική Κινάση C) Ras και Rac (διαμεσοπλαβητικοί παράγοντες), NF-ATc (Μεταγραφικός παράγοντας), P (Phosphorilisation: Φωσφορυλίωση), CaM (Calmodulin: Καλμοδουλίνη), PP2B (Protein Phosphatase 2B: Πρωτεϊνική Φωσφατάση 2B), CREB (Response Element Binding Protein: Σημείο ανταπόκρισης συνδεόμενο με πρωτεΐνη). *Trends Pharmacol. Sci.* 22, 2001

### Συμπεράσματα

Από όλα τα παραπάνω συνάγεται ότι για τους αγγειοκινητικούς παράγοντες, ο τρόπος προσπέλασης του αγγειακού τοιχώματος έχει κυρίαρχη σημασία για το αποτέλεσμα. Αγγειοσυσταλτικοί παράγοντες που επενεργούν αμέσως επί των λείων μυϊκών ινών εξασκούν, ως αναμένεται, συσταλτικό αποτέλεσμα. Όταν φθάνουν δια του αίματος συναντούν το ενδοθήλιο πριν φθάσουν στο τοίχωμα σε ανταπόκριση, το ενδοθήλιο απελευθερώνει διάφορους διασταλτικούς παράγοντες που εξασθενίζουν ή καταργούν τη συστολή ή ακόμη προκαλούν χάλαση.

Συμπερασματικά, η ρύθμιση του αγγειακού τόνου είναι εξαιρετικά πολύπλοκη λειτουργία. Η πολυπλοκότητα εξυπηρετεί τη λεπτή ρύθμιση του αγγειακού τόνου ανάλογα με τις τοπικές ανάγκες αιματικής άρδευσης.

Στα κεφάλαια που ακολουθούν αναπτύσσονται οι επιμέρους παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο, καθώς και οι πολύπλοκοι μηχανισμοί μέσω των οποίων ασκούν τις ενέργειες αυτές. Επίσης γίνεται αναφορά στα φάρμακα που επηρεάζουν σε μοριακό επίπεδο τους μηχανισμούς αυτούς, τα οποία χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πράξη. Παράλληλα, γίνονται

αναφορές στην έρευνα η οποία διεξάγεται σε μοριακό επίπεδο και η οποία προσπαθεί αφενός να διαλευκάνει τους λεπτούς μοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους επιδρά ο κάθε παράγοντας, αφετέρου αποσκοπεί στο να αναδείξει νέους στόχους για φαρμακολογικές παρεμβάσεις μέσω παλαιών και μελλουσών να συντεθούν ουσιών.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abbot A.: Interrelationship between Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> metabolism in hypertension. *Trends Pharmacol. Sci.* 9: 111-113,1988
2. Κόκκας Β. και Παπαδόπουλος Κ.: Ασβέστιο και αγγειακός τόνος . Δυνατότητες φαρμακολογικής παρέμβασης. *Αρτηριακή Υπέρταση Φ 20* : 4-6, 1988
3. Fasolato C., Innocenti B. and Pozzan T.: Receptor activated Ca<sup>2+</sup> influx .*Trends Pharmacol. Sci.* 15: 77-82,1994
4. Varadi G., Mori Y., Mikala G. And Schwartz A .: Molecular determinants of Ca<sup>2+</sup> channel function and drug action . *Trends Pharmacol.Sci.* 16: 43-49,1995
5. Hering St., Berjukow St., Aczel St. and Timin E.: Ca<sup>2+</sup> channel block and inactivation: Common molecular determinants. *Trends Pharmacol.Sci.* 19:439-443,1998
6. Sancho J., Alvarez J., Montero M., Vilalobos C.: Ca<sup>2+</sup> influx following receptor activation . *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 12-13,1992
7. Catterall W. And Striessing J.: Receptor sites for Ca<sup>2+</sup> channel antagonists . *Trends Pharmacol. Sci.* 13 : 256-262,1992
8. Sorrentino V., Rizzuto R.: Molecular genetics of Ca<sup>2+</sup> stores and intracellular Ca<sup>2+</sup> signalling. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:459-464,2001
9. Jarvis S., Zampolni G.:Interactions between presynaptic Ca<sup>2+</sup> channels, cytoplasmic messengers and proteins of the synaptic vesicle release complex. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:519-525,2001
10. Muth J., Varadi G., Schwartz A.: Use of transgenic mice to study voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:526-531,2001
11. Li S., Westwick J., Poll C.: Receptor-operated Ca<sup>2+</sup> influx channels in leukocytes: a therapeutic target? *Trends Pharmacol. Sci.* 23: 63-69, 2002
12. Karaki H.: Historical techniques: Cytosolic Ca<sup>2+</sup> and contraction in smooth muscle. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:388-393, 2004
13. Rizzuto R., Pozzan T., Carafoli E.: Ca<sup>2+</sup> on the move. Ways and means to translate a multifarious signal. *23:348-350,2002*
14. Sorrentino V., Rizzuto R.: Molecular genetics of Ca<sup>2+</sup> stores and intracellular Ca<sup>2+</sup> signalling. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:459-464,2001
15. Cox JA.: Calcium calmodulin interaction and cellular functions. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 18:548-552,1986
16. Klee CB., Ni WC., Draetta J. et al: Different modes of interaction of calmodulin with its target enzymes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8: 552-557,1986
17. Adelstein RS., Eisenberg E.: Regulation and kinetics of the actin-myosin-ATP interactions. *Rev. Biochem.* 49:921-928,1980
18. Murphy RA.: Mechanism of Contraction in Vascular Smooth Muscle. In: Swales JD (ed). "Textbook of Hypertension". Blakwell, Oxford pp 139-145,1994
19. Hartshorne DJ.: Biochemical basis for contraction of vascular smooth muscle. *Chest* 78: 140-145,1980

20. Schaub MC., Kunz B.: Regulation of contraction in cardiac and smooth muscles. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8:S117-S123,1986
21. Guyton A., Hall J.: *Textbook of medical physiology.* W.Saunders Company Philadelphia. Pp 95-103,1996
22. Maasaki A., Hartshorn D.: Phosphorylation of myosin as a regulatory mechanism in smooth muscle. In: Sperlakis N., Wood J. (eds) "Frontiers in smooth muscle research". Willey-Liss. New York pp 52-72,1990
23. Murphy RA., Askoy MD., Dillon PF., et al.: The role of myosin light chain phosphorylation in regulation of the crossbridge cycle. *Fed. Proc.* 42:51-56,1983
24. Berridge MJ.: Inositol triphosphate and calcium mobilization. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8:585-293,1986
25. Fleckenstein R.: Specific pharmacology of calcium in myocardium cardiac pacemakers and vascular smooth muscle. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 17:149-154,1977
26. Bevan JA., Bevan RD., Hwa HH., et al.: Calcium regulation in vascular smooth muscle. Is there a pattern to its variability within the arterial tree? *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8:S71-S77,1986.
27. Hermsmeyer K., Trapani A., Abel PW.: Membrane-potential dependent tension in vascular muscle. In: Vasodilatation (Vanhouste P., Leusen I. (eds) "Vasodilatation" Raven, New York, pp 273-279, 1981
28. Carafoli E., Crompton M.: The regulation of intracellular calcium. *Curr. Top. Membr. Transp.* 10:151-156,1978
29. Rusch NJ., Kotchen TA.: Vascular Smooth Muscle Regulation by Calcium, Magnesium and Potassium in Hypertension. In: Swales JD (ed). "Textbook of Hypertension". Blakwell, Oxford pp 188-198,1994
30. Somlyo AP., Somlyo AV.: Electron probe analysis of calcium content and movements in sarcoplasmic reticulum, endoplasmic reticulum, mitochondria and cytoplasm. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8:S42-S47,1986
31. Kazazoglou T., Schmid A., Renaud JF., Lazdunski M.: Ontogenic appearance of  $Ca^{2+}$  channels characterized as binding sites for nitrendipine during development of nervous, skeletal and cardiac muscle systems in the rat. *FEBS lett.* 164:75-81,1983
32. Triggle DJ.: Calcium Antagonists. In: Antonaccio M. (ed) "Cardiovascular Pharmacology". Raven Press, New York, pp 107-60,1990
33. Blaustein MP., Nelson MT.: Sodium-calcium exchange. In: Carafoli E. (ed.) "Membrane Transport of Calcium". Academic Press, New York, pp 217-221,1982
34. Schwartzmann HJ.: Calcium extrusion across the plasma membrane by the  $Ca^{2+}$ - $Na^{+}$  exchange system. In: Marme D. (ed) "Calcium and the Cell Physiology". Springer, Berlin- New York, 1985.
35. Heizmann CW.: Intracellular calcium-binding proteins. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*

- 8:S7-S12,1986
36. Saida K., Van Breemen C.: Cyclic AMP modulation of adrenoreceptor mediated arterial smooth muscle contraction. *J. Gen. Physiol.* 84: 307-313,1984
  37. Murad F., Waldman SA., Fiscus RR., Rappport RM.: Regulation of cyclic GMP synthesis and the interactions with calcium. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8:S57-S62,1986
  38. Jakobs KH., Watanabe Y., Baner S.: Interactions between the hormone-sensitive adenylate cyclase system and the phosphoinositide-metabolizing pathway in human platelets. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8:S61-S67,1986
  39. Challiss RAJ., Gray DW.: Second Messenger Systems. In: Swales JD (ed) "Textbook of Hypertension". Blackwell, Oxford pp 131-139,1994.
  40. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ., Κόκκας Β.: Η cAMP ως ενδοαγγειακός αγγειοδιασταλτικός παράγοντας. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 5:54-59,1987
  41. Hardman JG.: Cyclic nucleotides and regulation of vascular smooth muscle. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 6:S639-S644,1984
  42. Clemo HF., Feher JJ., Baumgarten CM.: Modulations of rabbit ventricular cell volume and  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  cotransport by cGMP and atrial natriuretic factor. *J Gen Physiol.* 100:89-114,1992.
  43. Clemo HF., Baumgarten CM.: Atrial natriuretic factor decreases cell volume of rabbit atrial and ventricular myocytes. *Am J Physiol.* 260:C681-690-695,1991
  44. Clemo HF., Baumgarten CM., Stambler BS., Wood MA., Ellenbogen KA.: Atrial natriuretic factor. *PACE* 17:70-91,1994
  45. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ., Κόκκας Β.: Ο ρόλος του cGMP στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 5:123-127,1987
  46. Ross E., Kenakin T.: Pharmacodynamics: Mechanisms of drug action and the relationship between drug concentration and effect. In: Hardman J et al. (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics" MacGraw Hill, N.Y. 1985 pp 31-44, 2001
  47. Παραδέλλης Α.: Κλινική Φαρμακολογία. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 1992
  48. Kukkonen J., Nasman J., Akerman k.: Modelling of promiscuous receptor-G<sub>i</sub>/G<sub>s</sub> – protein coupling and effector response. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:616-622,2001
  49. Tucek s., Michal P., Vlachova V.: Modeling the consequences of receptor-G-protein promiscuity. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:171-176,2002
  50. Koenig J. and Edwardson J.: Endocytosis and recycling of G- protein - coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 1997, 18: 276-281,1997.
  51. Riobo N., Manning D.: Receptors coupled to heterotrimeric G proteins of the G<sub>12</sub> family. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:146-153, 2005
  52. Klein-Seetharaman J.: Dual role of interactions between membranous and soluble portions of helical membrane receptors for folding and signaling. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:183-189,2005

53. Κόκκας Β.: Πρωτεΐνες G. Προοπτικές της φαρμακολογίας του μέλλοντος. Επ. Επετ. Τμη. Ιατρ. 18: 33-39,1991
54. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Μηχανισμοί διέγερσης και απευαισθητοποίησης των κυτταρικών υποδοχέων που είναι συνδεδεμένοι με πρωτεΐνη G. Αρτηριακή Υπέρταση 5: 69-75,1996
55. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: G πρωτεΐνες και καρδιαγγειακό σύστημα. Στόχοι για φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Αρτηριακή Υπέρταση 8: 55-61,1999
56. Freissmuth M., Waldhoer M., Cardona-Bofili M., Nanoff Ch.: G protein antagonists. Trends Pharmacol. Sci. 20: 237-245,1999
57. Norman RI.: Membrane Biochemistry. In: Swales JD (ed) "Textbook of Hypertension" Blakwell, Oxford pp 120-131,1994
58. Jarvis S., Zamponi G.: Interactions between presynaptic Ca<sup>2+</sup> channels, cytoplasmic messengers and proteins of the synaptic vesicle release complex. Trends Pharmacol. Sci. 22: 519-525, 2001
59. Ross E., Kenakin T.: Pharmacodynamics. Mechanisms of drug action and the relationship between drug concentration and effect. In: Hardman J. and Limbird I. (eds). Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw-Hill Med. Publ. Div. New York, pp31-43, 2001
60. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2003
61. Chuang T., Iacovelli L., Sallese M. and Blasi A.: G - protein coupled receptors . Heterologous regulation of homologous desensitization and its implications . Trends Pharmacol. Sci. 17:416-421,1996
62. Langer S.: 25 years since the discovery of presynaptic receptor. Present knowledge and future perspectives. Trends Pharmacol. Sci. 18:95-99, 1997
63. Humphrey P., Spedding M. and Vanhoute P.: Receptor classification and nomenclature . The revolution and the resolution . Trends Pharmacol. Sci. 15: 203-204, 1994
64. Guimaraes S., Moura D.: Advances in vascular neuroeffector mechanisms. Trends Pharmacol. Sci. 20:90-93,1999
65. Muth J., Varadi G., Schaartz A.: Use of transgenic mice to study voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels.Trends Pharmacol. Sci. 22:526-532,2001
66. Langer SZ., Hicks PE.: Alpha-adrenoceptor subtypes in blood vessels. J. Cardiovasc. Pharmacol. 6:S547-S553,1984
67. Vascular effects of ketanserin a novel antagonist of 5-HT<sub>2</sub> serotonergic receptors. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1981, 218, 217-223.
68. Marshall I.: Characterization and distribution of histamine H<sub>1</sub>, and H<sub>2</sub>-receptors in precapillary vessels. J. Cardiovasc. Pharmacol. 6:S 587-593,1984
69. Ragoli D.: Neurohumoral regulation of precapillary vessels: The Kallikrein-Kinin system. J. Cardiovasc. Pharmacol. 6:S401-S406,1984
70. Capponi AM., Aquilera G., Fakunding JL, Catt KL.: Angiotensin II receptors and mechanisms of action. In: Soffer R (ed) "Biochemical regulation of Blood Pressure". J. Wiley and Sons, New York, pp 205-210,1981



71. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ.: Αγγειοκινητικές ενέργειες του ATP. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 5:167-172,1987
72. Lefkowitz RJ., Stadel JM., Caron MG.: Adenylate cyclase-coupled beta-adrenergic receptors. *Ann. Rev. Biochem.* 52:159-164,1983
73. Manfredi JP., Sparks HV.: Adenosine's role in coronaryvasodilation induced by arterial pacing and norepinephrine. *Am.J. Physiol.* 243: H536-H541,1982
74. Berkowitz BA.: Dopamine and dopamine receptors as target sites for cardiovascular drug action. *Fed. Proc.* 42:3019-3025,1983
75. Papadopoulos C., Kokkas B., Kotridis P, Gitsios C, Sakadamis G, Kanonides J, Faitatziadis D, Pilis A, Theodorides E, Paradellis A. Plasma atrial natriuretic peptide in essential hypertension after angiotensin converting enzyme inhibition. *Intern. J Angiol.* 4:44-45,1995
76. Langer SZ.: Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol. Rev.* 32:337-342,1981
77. Receptor Nonenclature Supplement. *Trends Pharmacol. Sci.* Elsevier, New York, 1991
78. Katusic ZS., Vanhoutte P.: Anoxic contractions in isolated canine cerebral arteries: Contribution of endothelium-derived factors, metabolites of arachidonic acid, and calcium entry. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8:S 97-S102,1986
79. Luscher TF.: Local Relaxant and Constricting Factors in the Vessel Wall. In: Swales JD (ed) "Textbook of Hypertension". Blakwell, Oxford pp 145-159,1994
80. Rubanyi GM., Freay AD., Johns A., vanBreemen C.: Elevated transmural pressure inhibits the release of EDRF by mechanism(s) similar to high  $K^+$  and barium. In: Mulvany MJ (ed) "Resistance arteries, structure and function". Elsevier, New York pp 226-32,1991.



## ΔΕΥΤΕΡΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΣΤΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ

Β. Α. Κόκκας και Κ. Λ. Παπαδόπουλος

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Οι υποδοχείς αντιπροσωπεύουν κυτταρικές πρωτεΐνες των οποίων η λειτουργία συνίσταται στο να συνδέονται με ενδογενείς ρυθμιστικές ουσίες και να παράγουν βιοχημικό σήμα το οποίο εισέρχεται στα ενδότερα του κυττάρου. Τα φάρμακα που στοχεύουν τους υποδοχείς αυτούς δρουν είτε διεγείροντάς τους είτε αποκλείοντάς τους. Η παρουσία πολλών υποτύπων για κάθε υποδοχέα δίνει τη δυνατότητα για εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις.*

#### Εισαγωγή

Κάθε κύτταρο έχει μια αυτόνομη λειτουργία που προσδιορίζεται από τον γενετικό του κώδικα. Παράλληλα, κάθε κύτταρο δέχεται συνεχή εξωτερικά ερεθίσματα τα οποία ρυθμίζουν κάθε φορά την ένταση και το είδος της βιολογικής απάντησης.

Σε κάθε κύτταρο, τα μηνύματα από τον εξωκυττάριο χώρο έρχονται με τη μορφή των μεταβιβαστικών ουσιών και επιδρούν στους αντίστοιχους υποδοχείς οι οποίοι προσδιορίζουν και το είδος της βιολογικής απάντησης που θα δώσει το κύτταρο. Εάν οι ενδογενείς μεταβιβαστικές ουσίες δεν μπορούν να περάσουν την κυτταρική μεμβράνη, τότε η φύση έχει προνοήσει ώστε να συναντούν τους αντίστοιχους υποδοχείς τους στο επίπεδο αυτό. Εάν, όμως, οι μεταβιβαστικές ουσίες έχουν τη δυνατότητα να διέρχονται την κυτταρική μεμβράνη, τότε στην περίπτωση αυτή συναντούν τους υποδοχείς τους στο εσωτερικό του κυττάρου.

Αυτό, όμως, δεν αποκλείει τη δυνατότητα ύπαρξης υποδοχέων και στην κυτταρική μεμβράνη. Κλασικό παράδειγμα αποτελούν τα οιστρογόνα.

Από τη διέγερση των υποδοχέων και με τη μεσολάβηση πολλαπλών βιοχημικών αντιδράσεων που οδηγούν στην παραγωγή νέων μορίων ξεκινούν τα ανάλογα βιοχημικά σήματα τα οποία πορεύονται προς τα ενδότερα του κυττάρου. Με τον τρόπο αυτό μεθοδεύεται η βιολογική απάντηση του κυττάρου και ρυθμίζεται η γονιδιακή μεταγραφή.

### **Κυτταρικοί υποδοχείς**

Οι κυτταρικοί υποδοχείς είναι πρωτεϊνικά μόρια που έχουν ως αποστολή να δέχονται ερεθίσματα από ενδογενείς ουσίες και να μεταφέρουν τα μηνύματα αυτά προς τα ενδότερα του κυττάρου πυροδοτώντας πολύπλοκους μηχανισμούς. Οι βιοχημικοί δρόμοι που αναπτύσσονται μέσα στο κύτταρο, όπως ήδη αναφέρθηκε, αφενός οδηγούν στη βιολογική απάντηση του τελευταίου, αφετέρου μεταφέρουν πληροφορίες προς τον πυρήνα, ώστε ο τελευταίος να προσαρμόσει τη μεταγραφική του δραστηριότητα προς τις συνθήκες που επικρατούν στον εξωκυττάριο χώρο (1,2).

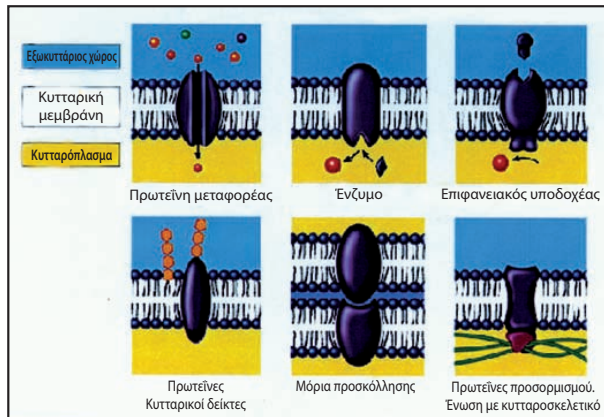
Οι ουσίες που αναγνωρίζουν τους υποδοχείς και συνδέονται με αυτούς ονομάζονται προσδέτες ή προσδέματα (ligand). Όσες ουσίες διεγείρουν τους υποδοχείς, είτε είναι ενδογενείς είτε εξωγενείς, όπως τα φάρμακα, ονομάζονται αγωνιστές. Όσες ουσίες αδρανοποιούν τους υποδοχείς ονομάζονται ανταγωνιστές ή αποκλειστές. Όσες ουσίες, πάλι, αδρανοποιούν τους υποδοχείς σε μη ενεργό φάση ονομάζονται αντίστροφοι αγωνιστές (inverse agonists). Η ύπαρξη πολλών υποτύπων για κάθε υποδοχέα παρέχει τη δυνατότητα για εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις.

Οι κυτταρικοί υποδοχείς διακρίνονται από τοπογραφικής πλευράς στους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης και στους ενδοκυττάριους υποδοχείς (1-3).

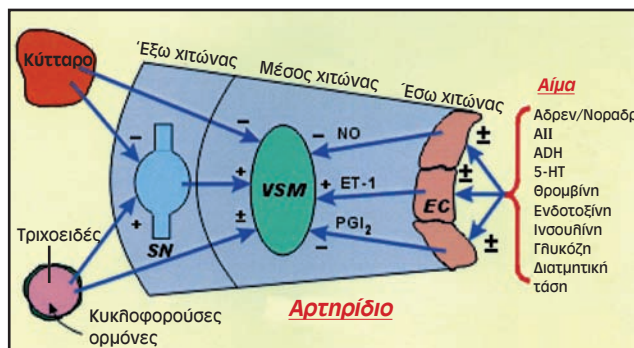
#### **1. Υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης**

Η κυτταρική μεμβράνη αποτελείται από ένα ετερογενές σύμπλοκο λιπιδίων και πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες αυτές επιτελούν διάφορες λειτουργίες μέσω των οποίων διευκολύνουν το κύτταρο να προσαρμόζεται στις εκάστοτε επικρατούσες συνθήκες και να δίνει την κατάλληλη βιολογική απάντηση. Οι κυριότερες από τις πρωτεΐνες αυτές αντιπροσωπεύουν υποδοχείς ενδογενών ουσιών, δι-αύλους ιόντων, ένζυμα, πρωτεΐνες μεταφοράς, πρωτεΐνες προσορμισμού (anchoring proteins), μόρια προσκόλλησης και πρωτεΐνες δείκτες της κυτταρικής ταυτότητας και λειτουργικότητας.

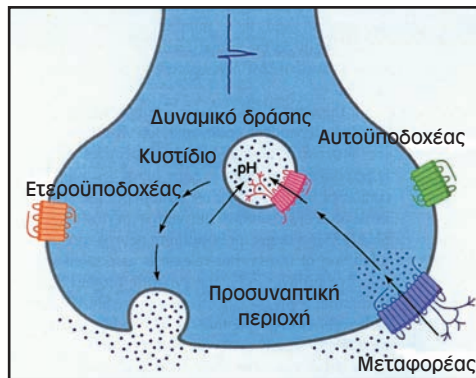
Η κυτταρική μεμβράνη παρουσιάζει μικροπεριοχές οι οποίες είναι πλούσιες



**Εικόνα 2.1: Λειτουργικοί ρόλοι των πρωτεϊνών της κυτταρικής μεμβράνης.** Στην κυτταρική μεμβράνη υπάρχουν διάφορες κατηγορίες πρωτεϊνών. Οι κυριότερες από αυτές είναι οι υποδοχείς, τα ένζυμα, οι πρωτεΐνες μεταφορείς, οι πρωτεΐνες προσορμισμού (anchoring proteins), τα μόρια προσκόλλησης και οι πρωτεΐνες δείκτες ταυτοποίησης των κυττάρων. *Google-Internet, 2006*

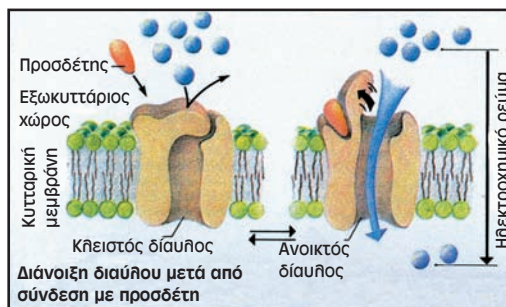


**Εικόνα 2.2: Ενδοθηλιακοί και μη ενδοθηλιακοί παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο.** Οι παράγοντες αυτοί ασκούν τις ενέργειές τους διεγείροντας ή αποκλείοντας υποδοχείς. EC (Endothelial Cell: Ενδοθηλιακό Κύτταρο) AII (Angiotensin II: Αγγειοτασίνη II), ADH (Antidiuretic Hormone: Αντιδιουρητική Ορμόνη), NO (Nitric Oxide: Οξείδιο του Αζώτου), ET-1 (Endothelin-1: Ενδοθηλίνη-1), PGI<sub>2</sub> (Prostacyclin: Προστακυκλίνη), VSM (Vascular Smooth Muscle: Αγγειακή λεία μυϊκή ίνα), SN (Sympathetic Nerve: Συμπαθητική νευρική απόληξη), NE (Norepinephrine: Νοραδρεναλίνη), (+) Διέγερση, (-) Αναστολή. *Klabunde R.: Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin. Google-Internet, 2005*



**Εικόνα 2.3: Σχηματική αναπαράσταση της νευρικής απόληξης που απελευθερώνει μονοαμίνες.** Επταδιαμεμβρανικοί (7 TM: 7 Trans Membrane) αυτοϋποδοχείς (πράσινο) στην προσυναπτική μεμβράνη ρυθμίζουν την απελευθέρωση της μεταβιαστικής ουσίας μέσω αρνητικού μηχανισμού ανατροφοδότησης (feed back). Προσυναπτικοί ετεροϋποδοχείς (πορτοκαλί) ρυθμίζουν επίσης την απελευθέρωση και μπορεί να είναι διεγερτικοί ή ανασταλτικοί. Απεικονίζονται επίσης οι 12TM πρωτεΐνες μεταφορείς (μπλε) που εξαρτώνται από το Na<sup>+</sup> και το Cl<sup>-</sup> και οι επίσης 12TM πρωτεΐνες μεταφορείς των πρωτονίων (ροζ) στη μεμβράνη των αποθηκευτικών κυστιδίων.

*Trends Pharmacol. Sci.18,1997*



**Εικόνα 2.4: Μηχανισμοί εισόδου των ιόντων από τον εξωκυττάρια χώρο στο κυτταρόπλασμα μέσω της διάνοξης διαύλων των κυτταρικής μεμβράνης.** Ο προσδέτης (ενδογενής ουσία ή φάρμακο) διεγείρει τον υποδοχέα του, ο οποίος ευρίσκεται στο μοριακό σύμπλεγμα του κλειστού διαύλου με αποτέλεσμα ο τελευταίος να ανοίγει και να εισέρχονται συγκεκριμένα ιόντα.

*Despotopoulos A., Silbernagl S.: Color Atlas of Physiology, 1991*

σε σφιγγολιπίδια τα οποία πιστεύεται ότι χρησιμεύουν ως θέσεις συγκέντρωσης τόσο για πολλούς μεμβρανικούς υποδοχείς όσο και για τους μεταβιαστές τους, συμβάλλοντας με τον τρόπο αυτό στο σχηματισμό του συνόλου συμπλόκου μεταβίβασης του σήματος (4,5).

Οι υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης διακρίνονται από τοπογραφικής πλευράς σε προσυναπτικούς και μετασυναπτικούς (1,2,6,7).

### *A. Προσυναπτικοί υποδοχείς*

Οι προσυναπτικοί υποδοχείς ρυθμίζουν την απελευθέρωση των νευρομεταβιβαστών από την προσυναπτική μεμβράνη. Διακρίνονται στους αυτορρυθμιζόμενους υποδοχείς ή αυτοϋποδοχείς (autoreceptors) και στους ετερορρυθμιζόμενους υποδοχείς ή ετεροϋποδοχείς (heteroreceptors) (2,8).

Οι αυτοϋποδοχείς ρυθμίζονται από τους νευρομεταβιβαστές που απελευθερώνουν. Η ρύθμιση μπορεί να είναι διεγερτική είτε ανασταλτική και να προάγει ανάλογα την απελευθέρωση ή την αναστολή της απελευθέρωσης της ίδιας της μεταβιβαστικής ουσίας. Ομόλογο ερέθισμα είναι η συγκέντρωση της μεταβιβαστικής ουσίας στη συναπτική σχισμή. Όταν αυτή ελαττώνεται, τότε διεγείρονται οι προσυναπτικοί υποδοχείς που προάγουν την απελευθέρωσή της. Όταν αυτή αυξάνει, τότε γίνεται ακριβώς το αντίθετο.

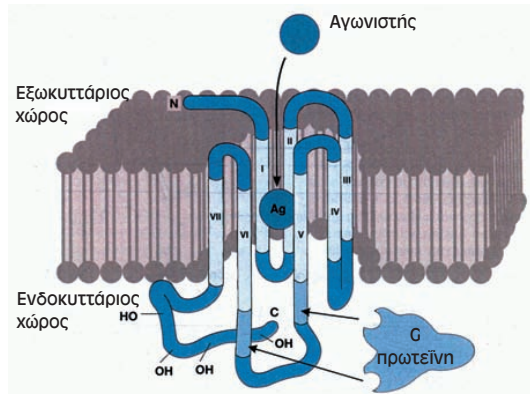
Οι ετεροϋποδοχείς ρυθμίζονται από ουσίες που είτε συναπελευθερώνονται με τους νευρομεταβιβαστές, είτε απελευθερώνονται από γειτνιάζουσες περιοχές ή από άλλες ουσίες που παράγονται τοπικά ή μεταφέρονται με την κυκλοφορία.

### *B. Μετασυναπτικοί υποδοχείς*

Οι μετασυναπτικοί υποδοχείς από πλευράς δομής και μηχανισμών λειτουργίας μπορούν να διαιρεθούν σε τρεις κατηγορίες (1-3,9):

1. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι υποδοχείς εκείνοι που στην πρωτεϊνική δομή τους περιέχεται ένας διάυλος ο οποίος ανοίγει απευθείας από τον αγωνιστή. Οι υποδοχείς αυτοί ονομάζονται ιονοτροπικοί υποδοχείς. Κάθε υπομονάδα των υποδοχέων αυτών περιέχει δύο ή περισσότερα τμήματα που εισδύουν στη μεμβράνη. Οι υποδοχείς αυτοί διακρίνονται σε εννέα υπερικογένειες και σε αυτούς ανήκουν υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης όπως οι νικοτινικοί (N) - υποδοχείς της ακετυλοχολίνης, οι GABA<sub>A</sub> - υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος και οι 5-HT<sub>3</sub> - υποδοχείς της σεροτονίνης στα νευρικά κύτταρα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για το αγγειακό τοίχωμα παρουσιάζουν οι ιονοτροπικοί P2X-υποδοχείς της ATP στην κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων, των λείων μυϊκών ινών και των αιμοπεταλίων.
2. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν οι υποδοχείς εκείνοι που είναι συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνες και διακρίνονται σε τρεις υπερικογένειες. Εδώ ανήκουν οι υποδοχείς των βιολογικών αμινών, των εικοσανοειδών και πολλών πεπτιδικών ορμονών. Οι υποδοχείς αυτοί ανήκουν στην κατηγορία των μεταβοτροπικών (2-15).

Οι υποδοχείς αυτοί είναι υδρόφιλες πρωτεΐνες που διατιτραίνουν την κυτταρική μεμβράνη πολλαπλά και κατά ελικοειδή τρόπο, με αποτέλεσμα επτά τμήματα της έλικας να είναι μεμβρανικά, ενώ οι αγκύλες βλέπουν εναλλάξ



**Εικόνα 2.5: Σχηματική απεικόνιση του υποδοχέα GPCR.** Ο υποδοχέας GPCR (G-Protein Coupled Receptor: Υποδοχέας συνδεδεμένος με G-πρωτεΐνη) είναι ένα επίμηκες πεπτιδικό μόριο το οποίο διαπερνάει την κυτταρική μεμβράνη δημιουργώντας επτά διαμεμβρανικά τμήματα, ένα αζωτούχο εξωκυττάριο πέρας (N) και ένα καρβοξυλικό (C) ενδοκυττάριο πέρας. Τα υδρόφοβα διαμεμβρανικά τμήματα σημειώνονται με λατινικούς αριθμούς. Ο αγωνιστής έρχεται από τον εξωκυττάριο χώρο και εισχωρεί στο θύλακα που σχηματίζει ο υποδοχέας εντός της μεμβράνης και προσδέεται. Η G-πρωτεΐνη αναγνωρίζει ενδοκυττάρια τμήματα του υποδοχέα και συνδέεται κυρίως με την τρίτη ενδοκυττάρια αγκύλη.

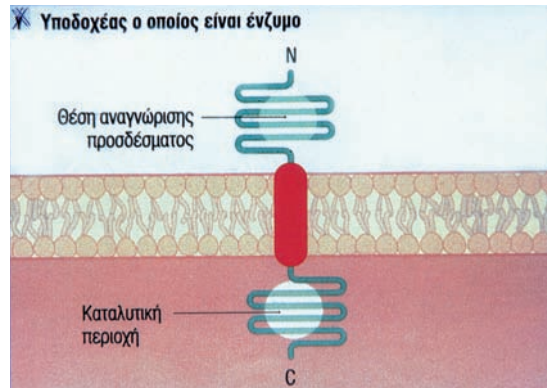
*Katzung B (ed). Basic and Clinical Pharmacology, 1995*

προς τον εξωκυττάριο και τον ενδοκυττάριο χώρο. Μέσω της G-πρωτεΐνης ενεργοποιούν ενζυμικά συστήματα της κυτταρικής μεμβράνης, ανοίγουν δι-αύλους ιόντων και ενεργοποιούν πρωτεΐνες μεταφορείς.

Κάθε G-πρωτεΐνη αποτελείται από τρεις υπομονάδες, την α, τη β και τη γ. Οι δύο τελευταίες υπομονάδες δημιουργούν το βγ-σύμπλεγμα. Η α-υπομονάδα είναι κύρια υπεύθυνη για τη μετάδοση του σήματος στους ενεργοποιητές. Οι ενδείξεις για το βγ-σύμπλεγμα είναι ότι εμπλέκεται στη μεταφορά του σήματος προς τον πυρήνα. Πάντως, πολλά πράγματα δεν είναι γνωστά για τη λειτουργία των δύο αυτών υπομονάδων τόσο όταν λειτουργούν μεμονωμένα όσο και όταν λειτουργούν ως σύμπλεγμα. Επίσης, κάθε G-πρωτεΐνη υφίσταται έναν κύκλο ενεργοποίησης όπου είναι συνδεδεμένη με την τριφωσφορική γουανοσίνη (GTP) και έναν κύκλο απενεργοποίησης όπου είναι συνδεδεμένη με τη διφωσφορική γουανοσίνη (GDP).

3. Στην τρίτη κατηγορία ανήκουν οι υποδοχείς εκείνοι που λειτουργούν και ως ενζυμικά συστήματα. Πρόκειται για πολυπεπίδια που διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη. Έχουν ένα εξωκυττάριο τμήμα που ενώνεται με έναν ενδογενή παράγοντα. Η ένωση του αγωνιστή με τον υποδοχέα του τύπου αυτού προάγει το διμερισμό του και την ενεργοποίησή του, με αποτέλεσμα το ενδοκυττάριο τμήμα του να καταλύει ενζυμικές αντιδράσεις οι οποίες δημιουργούν και το ενδοκυττάριο βιοχημικό σήμα. Τα προϊόντα της ενζυμικής αντίδρασης μεταφέρουν το μήνυμα του αγωνιστή προς τα ενδότερα του





**Εικόνα 2.6:** Σχηματική απεικόνιση υποδοχέα που λειτουργεί και ως ενζυμικό σύστημα. Πρόκειται για πολυπεπίδια που διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη. Έχουν ένα εξωκυττάριο τμήμα που ενώνεται με τον αγωνιστή με αποτέλεσμα το ενδοκυττάριο τμήμα του που είναι ένζυμο να ενεργοποιείται και να καταλύει ενζυμικές αντιδράσεις οι οποίες δημιουργούν και το ενδοκυττάριο βιοχημικό σήμα..

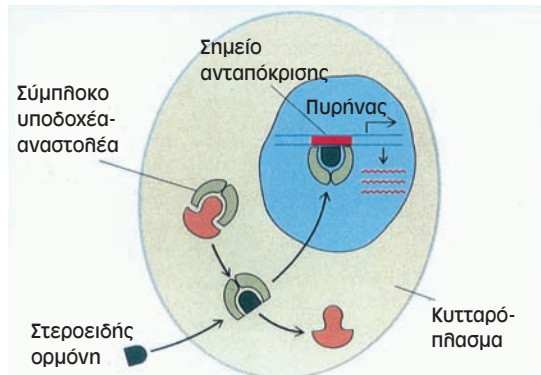
Page c. et al. *Pharmacology*, Ελληνική έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Πασχαλίδης, 2000

κυττάρου. Στους υποδοχείς αυτούς περιλαμβάνονται οι υποδοχείς του κολπικού νατριουρητικού πεπτιδίου (ANP: Atrial Natriuretic Peptide) που συνδέονται με τη μεμβρανική γουανυλοκυκλάση, οι υποδοχείς των περισσότερων κυτταροκινών και ο υποδοχέας της ινσουλίνης. Επίσης περιλαμβάνονται οι υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων και των νευροτροφινών. Η απευαισθητοποίηση των υποδοχέων αυτών γίνεται με διάφορους μηχανισμούς, ανάλογα με το είδος του υποδοχέα, όπως είναι η αποκοπή του εξωκυττάριου τμήματος που παρατηρείται στην περίπτωση των φλεγμονογόνων κυτταροκινών, η ενδοκυττάρωση του υποδοχέα που παρατηρείται στην περίπτωση της ινσουλίνης καθώς και σε άλλους διαμεμβρανικούς υποδοχείς που το ενδοκυττάριο πέρας τους είναι τυροσινική κινάση ή ακόμη η αποφωσφορυλίωσή του, όπως συμβαίνει με τους υποδοχείς του ANP (3-8,16-18).

## 2. Ενδοκυττάριοι υποδοχείς

Πρόκειται για υποδοχείς που ευρίσκονται είτε στο κυτταρόπλασμα είτε στη μεμβράνη οργανυλίων ή ακόμη στον πυρήνα και ρυθμίζουν ενδοκυττάρειες λειτουργίες. Οι κυριότεροι ενδοκυττάριοι υποδοχείς είναι (1,2,7,17,19,20):

1. Ένζυμα τα οποία ευρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. Οι υποδοχείς αυτοί έχουν ως προσδέτες είτε λιποδιαλυτές ουσίες που έχουν τη δυνατότητα να διέρχονται από την κυτταρική μεμβράνη είτε αέρια που επίσης έχουν την

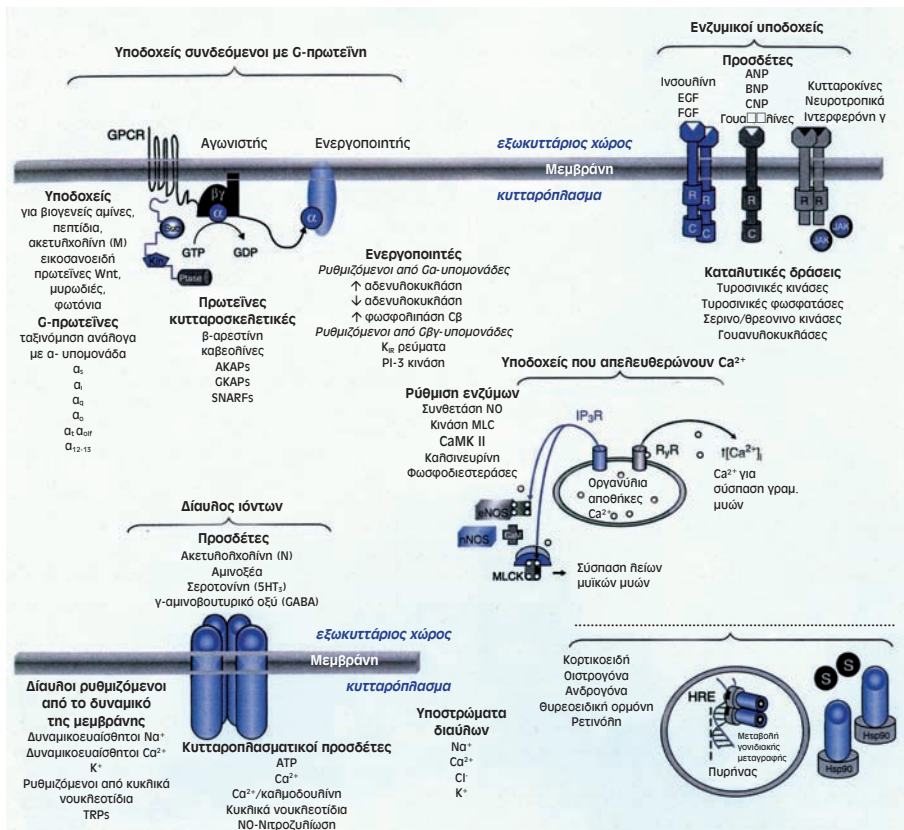


**Εικόνα 2.7: Πυρηνικοί υποδοχείς που συνδέονται με το DNA.** Ευρίσκονται είτε στο κυτταρόπλασμα είτε στον πυρήνα. Ενώνονται με τον αγωνιστή ο οποίος λόγω λιποδιαλυτότητας μπορεί να εισδύει διά της κυτταρικής μεμβράνης, σχηματίζουν σύμπλοκο με αυτόν και προάγουν τη γονιδιακή μεταγραφή, αφού διανύσουν την απόσταση που τους χωρίζει από το αντίστοιχο γονίδιο. *Darnell J. et al. Molecular Cell Biology, 1990*

ίδια δυνατότητα, ή τέλος, προϊόντα βιοχημικών αντιδράσεων της κυτταρικής μεμβράνης και του κυτταροπλάσματος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC: soluble Guanylcyclase) που διεγείρεται από το οξείδιο του αζώτου (NO) με αποτέλεσμα το σχηματισμό της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP: cyclic Guanyl Mono Phosphate), γεγονός που οδηγεί στη μυϊκή χάλαση μέσω πολύπλοκων μηχανισμών.

2. Υποδοχείς σε κυτταρικά οργανύλια. Διεγείρονται κυρίως από προϊόντα μεταβολισμού της κυτταρικής μεμβράνης τα οποία σχηματίζονται από τη διέγερση των υποδοχέων της μεμβράνης αυτής και περνούν στο κυτταρόπλασμα ως δευτέροι αγγελιαφόροι ή από διάφορα ιόντα όπως τα  $\text{Ca}^{2+}$ . Κλασικές περιπτώσεις είναι οι υποδοχείς της τριφωσφορικής ινοσιτόλης ( $\text{IP}_3$ : Inositol Triphosphate) στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου με ιονοτροπική συμπεριφορά και της ρυανοδίνης στην ίδια μεμβράνη. Και οι δύο υποδοχείς περιέχουν στο μόριό τους διάλυτο  $\text{Ca}^{2+}$ . Η διέγερση και των δύο υποδοχέων οδηγεί σε έξοδο του  $\text{Ca}^{2+}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο και μέσω των διαύλων αυτών προς το κυτταρόπλασμα.
3. Πυρηνικοί υποδοχείς που συνδέονται με το DNA. Πρόκειται για διαλυτές πρωτεΐνες οι οποίες έχουν σημεία σύνδεσης με το DNA. Ευρίσκονται είτε στο κυτταρόπλασμα είτε στον πυρήνα. Ενώνονται με τον αγωνιστή ο οποίος λόγω λιποδιαλυτότητας μπορεί και εισδύει διά της κυτταρικής μεμβράνης και προάγουν τη γονιδιακή μεταγραφή αφού διανύσουν την απόσταση που τους χωρίζει από το αντίστοιχο γονίδιο. Η ένωση αγωνιστή - υποδοχέα

αποκαλύπτει τμήμα της πρωτεΐνης του υποδοχέα το οποίο αναγνωρίζει αλληλουχίες που ονομάζονται στοιχεία ανταπόκρισης (response elements) και ευρίσκονται στο DNA κοντά στα γονίδια που πρόκειται να μεταγραφούν. Εδώ ανήκουν οι υποδοχείς των στεροειδών ορμονών, της θυρεοειδικής ορμόνης, του ρετινοϊκού οξέος και της βιταμίνης D.



**Εικόνα 2.8: Είδη υποδοχέων στο κύτταρο στόχο.** Σχηματική απεικόνιση του συνόλου των υποδοχέων που μεθοδεύουν τις κυτταρικές απαντήσεις και καταγραφή των προσδετών. Brunton L. Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 2006

### Κατηγορίες προσδετών

Ένα φάρμακο δρα ως αγωνιστής όταν ενώνεται με την ενεργό μορφή του υποδοχέα, τη διατηρεί και πυροδοτεί την ενεργοποίηση του υποδοχέα, με αποτέλεσμα να υπάρχει βιολογική απάντηση από το κυττάρο. Εάν η συγγένεια του φαρμάκου προς την ενεργό μορφή του υποδοχέα είναι επαρκώς εκλεκτική, τότε το φάρμακο αυτό σε συγκέντρωση κορεσμού θα οδηγήσει σε σταθεροποίηση της ενεργού μορφής και τον υποδοχέα σε πλήρη ενεργοποίηση. Τότε το φάρμακο αυτό ονομάζεται πλήρης αγωνιστής (1,2,5,20).

Ένα άλλο φάρμακο που συνδέεται με τον υποδοχέα στην ίδια θέση που συνδέεται και ο πλήρης αγωνιστής, αλλά έχει ελαφρώς μεγαλύτερη συγγένεια με την ενεργό μορφή του υποδοχέα παρά με την αδρανή, ονομάζεται μερικός αγωνιστής, όταν σε συγκέντρωση κορεσμού του παραπάνω φαρμάκου η ενεργοποίηση του υποδοχέα θα υπολείπεται σε σχέση με εκείνη που προκαλεί ο πλήρης αγωνιστής. Το ίδιο, όμως, φάρμακο μπορεί να δράσει και ως αποκλειστής εμποδίζοντας τη σύνδεση του υποδοχέα αυτού με τον πλήρη αγωνιστή.

Όταν ένα φάρμακο έχει την ίδια συγγένεια και με την ενεργό και με τη μη ενεργό μορφή του υποδοχέα, τότε συνδέεται και με τις δύο μορφές χωρίς να αλλάζει τις ισορροπίες και χωρίς να σταθεροποιεί καμιά μορφή. Στην περίπτωση αυτή το φάρμακο δρα ως αποκλειστής. Οι αληθείς αποκλειστές ανταγωνίζονται τους αγωνιστές και τους αντίστροφους αγωνιστές για την κατάληψη της ίδιας θέσης σύνδεσης με τον υποδοχέα. Από μόνοι τους, όμως, δεν μπορούν να πυροδοτήσουν τη μετάδοση του σήματος (1,2,21).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ross E., Kenakin T.: Pharmacodynamics. Mechanisms of drug action and the relationship between drug concentration and effect. In: Hardman J. and Limbird I. (eds). Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw-Hill Med. Publ. Div. New York, pp31-43, 2001
2. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 2003
3. Chuang T., Iacovelli L., Sallèse M. and Blasi A.: G - protein coupled receptors. Heterologous regulation of homologous desensitization and its implications. Trends Pharmacol. Sci. 17:416-421,1996
4. Bourne H., Roberts J.: Drug receptors and Pharmacodynamics. In: B. Katzung (ed) "Basic and Clinical Pharmacology". Prentice-Hall Intern. Inc., London pp 9-32, 1995
5. Παραδέλλης Α.: Κλινική Φαρμακολογία. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 1992
6. Langer S.: 25 years since the discovery of presynaptic receptor. Present knowledge and future perspectives. Trends Pharmacol. Sci. 18:95-99, 1997
7. Humphrey P., Spedding M. and Vanhoutte P.: Receptor classification and nomenclature. The revolution and the resolution. Trends Pharmacol. Sci. 15: 203-204, 1994
8. Despotopoulos A., Silbernagl S.: Color Atlas of Physiology. Georg Thieme Verlag, New York, 1991
9. Bunnet N., Bouvier M. and Deblas A.: Peptide G protein - coupled receptors meet at Erice. Trends Pharmacol. Sci. 19:343-346,1998
10. Κόκκας Β.: Πρωτείνες G. Προοπτικές της φαρμακολογίας του μέλλοντος. Επιστ. Επετηρ. Ιατρ. Τμ. ΑΠΘ 18,; 33-39, 1991
11. Kaziro Y., Itoh H., Kozasa T., Nakafuku M., Satoh T.: Structure and function of signal transducing GTP- binding proteins. Annu. Rev. Biochem. 60: 349-400, 1991
12. Μακρυγιαννάκης Α. και Γραβάνης Α.: Μοριακή φαρμακολογία των G - πρωτεϊνών. Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν., 15: 17-288, 1997
13. Κόκκας Β και Κ.Λ.Παπαδόπουλος. Μηχανισμοί διέγερσης και απευαισθητοποίησης των κυτταρικών υποδοχέων που είναι συνδεδεμένοι με πρωτεΐνη - G. Αρτηριακή Υπέρταση 5:69-75,1996
14. Durroux T.: Principles. A model for the allosteric interactions between ligand binding sites within a dimeric GPCR. Trends Pharmacol. Sci. 26:376-384,2005
15. Kukkonen J., Nasman J., Akerman k.: Modelling of promiscuous recep-

- tor-G<sub>i</sub>/G<sub>s</sub> – protein coupling and effector response. Trends Pharmacol. Sci. 22:616-622,2001
16. Κόκκας Β.: Αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες και γουανιλυλοκυκλάσες. Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν 14: 27-32,1996
  17. Genazzani A., Galione A.: A Ca<sup>2+</sup> release mechanism gated by the novel pyridine nucleotide NAADP. Trends Pharmacol. Sci.18: 108-110,1997
  19. Mikoshita K.: Inositol 1,4,5 triphosphate receptor. Trends Pharmacol. Sci 13: 86-88,1993
  20. Hobbs A.: Soluble guanylate cyclase. The forgotten sibling. Trends Pharmacol. Sci.18:484-491,1997
  21. Λογαράς Γ.: Φαρμακολογία και Φαρμακοδυναμική. Θεσσαλονίκη,1973
  22. Milligan G., Bond R. and Lee M.: Inverse agonism. Pharmacological curiosity or potential therapeutic strategy? Trends Pharmacol. Sci. 16:10-13,1995

## ΤΡΙΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ G-ΠΡΩΤΕΪΝΗ. ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΕ ΑΓΓΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Β. Α. Κόκκας και Κ. Λ. Παπαδόπουλος

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με G-πρωτεΐνη αποτελούν την κυριότερη τάξη υποδοχέων μέσω των οποίων οι νευρομεταβιβαστικές ουσίες ρυθμίζουν λειτουργίες του καρδιαγγειακού συστήματος. Παράλληλα αποτελούν στόχους φαρμακολογικής παρέμβασης. Διακρίνονται σε τρεις υπεροικογένειες με κοινό χαρακτηριστικό δομής μια ελικοειδή δομή με επτά μεμβρανικά τμήματα και δύο ελεύθερα πέρατα, ένα εξωκυττάριο και ένα κυτταροπλασματικό. Οι υποδοχείς αυτοί συνδέονται με ενεργοποιητές στην κυτταρική μεμβράνη μέσω μιας G-πρωτεΐνης. Ο ενεργοποιητής μπορεί να είναι ένα ενζυμικό σύστημα ή ένας διάυλος ιόντος. Η μετάδοση του σήματος από τον υποδοχέα μέσω της G-πρωτεΐνης προς το κυτταρόπλασμα γίνεται με τη σύνθεση δεύτερων αγγελιαφόρων από το ενζυμικό σύστημα που δρα ως ενεργοποιητής. Ορισμένες ουσίες ασκούν επί μακρόν τις ενέργειές τους στον υποδοχέα. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται με διάφορες θεωρίες που βασίζονται σε αντικειμενικά ευρήματα, όπως οι θεωρίες της κινητικής του υποδοχέα, της μακροκινητικής, της μικροκινητικής και της εξωτερικής θέσης. Το σήμα από τον υποδοχέα εξασθενεί συνεπεία ενός κύκλου γεγονότων που περιλαμβάνουν τη φωσφορυλίωση του υποδοχέα και την είσοδό του στο κυτταρόπλασμα όπου είτε αποφωσφορυλιώνεται και ξαναπερνά ενεργός στην κυτταρική μεμβράνη είτε καταστρέφεται στα λυσοσωμάτια.

#### Εισαγωγή

Οι υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με G-πρωτεΐνη (GPCR:

G-Protein Coupled Receptors) αποτελούν την κυριότερη τάξη υποδοχέων μέσω των οποίων επιδρά ένας μεγάλος αριθμός ενδογενών ουσιών που ρυθμίζουν τη συμπεριφορά του κυκλοφορικού συστήματος. Οι κατεχολαμίνες, η ακετυλχολίνη, η 5-υδροξυτρυπταμίνη, η ισταμίνη, η βραδυκινίνη, η αγγειοτασίνη II, οι ενδοθηλίνες και η βασοπρεσίνη είναι από τις κυριότερες ενδογενείς αγγειοδραστικές ουσίες που ασκούν τις ενέργειές τους διεγείροντας αυτό το είδος των υποδοχέων. Οι υποδοχείς αυτοί ονομάζονται και επταδιαμεμβρανικοί διότι καθώς το αλυσιδωτό μόριό τους εισέρχεται και εξέρχεται της κυτταρικής μεμβράνης δημιουργεί επτά διαμεμβρανικά τμήματα.

Οι υποδοχείς GPCR αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα σηματοδοτούντων μορίων και κωδικοποιούνται από περίπου 1.000 γονίδια από το σύνολο των 30.000-32.000 που διαθέτει το ανθρώπινο γονιδίωμα. Περισσότερο από το 60% των κωδικοποιούμενων στα γονίδια μεμβρανικών υποδοχέων αφορά τους υποδοχείς GPCR. Παράλληλα, μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν τους υποδοχείς αυτούς δεν επηρεάζουν μόνο τη θεραπευτική αγωγή, αλλά αποτελούν αιτίες για παθήσεις που αφορούν άμεσα ή έμμεσα το καρδιαγγειακό σύστημα όπως είναι οι καρδιακές αρρυθμίες και ο συγγενής νεφρογενής άποιος διαβήτης, και αυτό διότι οι υποδοχείς αυτοί είτε ελλείπουν είτε δεν μπορούν να δώσουν ικανοποιητικό ενδοκυττάριο σήμα (1-3).

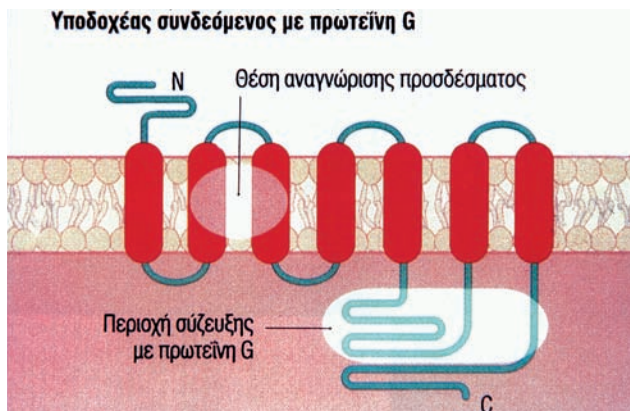
Υπάρχουν, επίσης, πολλοί υποδοχείς GPCR για τους οποίους δεν έχουν εντοπιστεί οι ενδογενείς αγωνιστές. Οι υποδοχείς αυτοί ονομάζονται «ορφανοί υποδοχείς». Ανάλογα υπάρχουν και αγγειοδραστικές ουσίες και φάρμακα που επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο και δεν είναι γνωστό μέσω ποιων υποδοχέων ασκούν τη δράση τους. Με την πρόοδο της τεχνολογίας, τα τελευταία δέκα χρόνια ταυτοποιήθηκαν από πλευράς προσδετών περισσότερο από πενήντα ορφανοί υποδοχείς και υπολογίζεται ότι μέσα στα επόμενα δεκαπέντε χρόνια θα ταυτοποιηθούν όλοι (4,5).

### **Σύνθεση, διμερισμός και ταυτότητα των υποδοχέων GPCR**

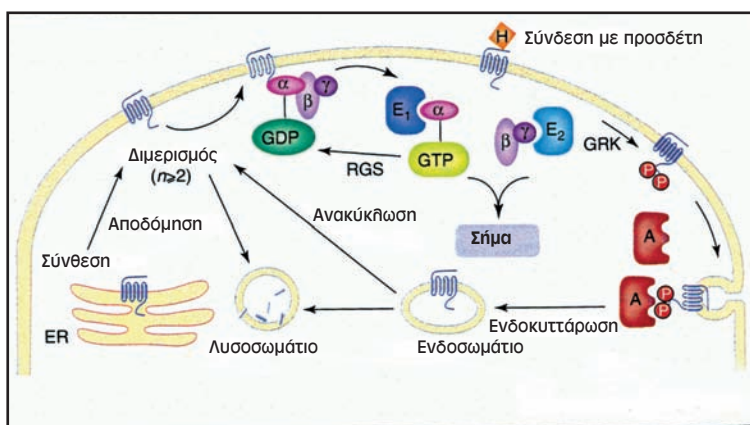
Οι υποδοχείς GPCR είναι υδρόφιλες πρωτεΐνες και διατιτραίνουν την κυτταρική μεμβράνη πολλαπλά και κατά ελικοειδή τρόπο, με αποτέλεσμα επτά τμήματα της έλικας να είναι μεμβρανικά, ενώ οι αγκύλες βλέπουν προς τον εξωκυττάριο και τον ενδοκυττάριο χώρο. Τα σημεία σύνδεσης για τους αγωνιστές ή αποκλειστές με μικρό μόριο είναι πιθανόν οι μικροί θύλακοι που σχηματίζονται ανάμεσα στις δέσμες των ελίκων και που βλέπουν προς τον εξωκυττάριο χώρο. Για τους αρνητικά, όμως, φορτισμένους μεταβιβαστές, όπως είναι η γλουταμάτη, ή για τις πεπτιδικές ορμόνες χρειάζεται ένα περισσότερο ανεπτυγμένο εξωκυττάριο τμήμα (6,7).

Οι υποδοχείς αυτοί δρουν με τη μορφή ομοιοδιμερών, ενώ ορισμένοι από





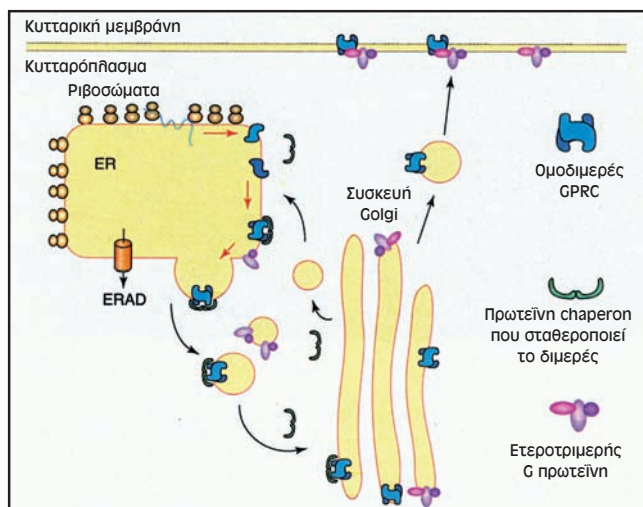
**Εικόνα 3.1: Σχηματική απεικόνιση του υποδοχέα GPCR.** Ο υποδοχέας GPCR (G-Protein Coupled Receptor: Υποδοχέας συνδεδεμένος με G-πρωτεΐνη) είναι ένα επίμηκες πεπτιδικό μόριο το οποίο διατρυπάει την κυτταρική μεμβράνη δημιουργώντας επτά διαμεμβρανικά τμήματα, ένα αμινικό εξωκυττάριο πέρας (N) και ένα καρβοξυλικό (C) ενδοκυττάριο πέρας.  
*Page c. et al. Pharmacology, Ελληνική έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Πασχαλίδης, 2000*



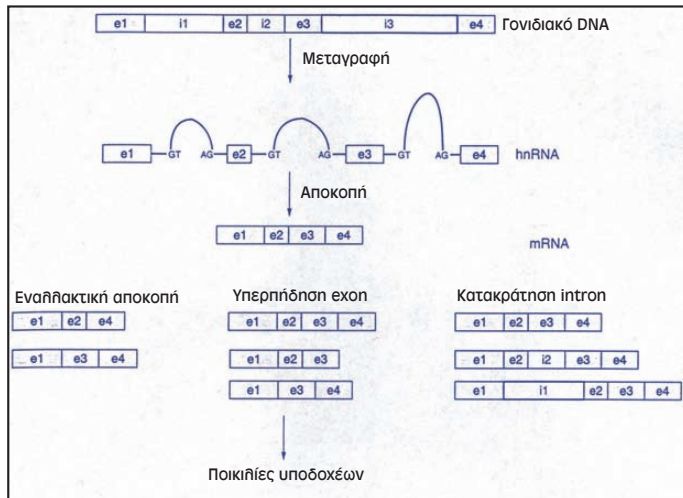
**Εικόνα 3.2: Ο κύκλος του υποδοχέα GPCR.** Απεικονίζεται ο κύκλος που ακολουθεί ο υποδοχέας GPCR (G Protein Coupled Receptor: Υποδοχέας συνδεδεμένος με G-πρωτεΐνη). Ο κύκλος αρχίζει με τη σύνθεση του υποδοχέα και ακολουθεί η πορεία του προς την κυτταρική μεμβράνη, η διέγερσή του και η παραγωγή του ενδοκυττάριου σήματος. Στη συνέχεια ο υποδοχέας αδρανοποιείται με ενδοκυττάρωση και καταστρέφεται στα λυσοσωμάτια ή επανακάμπτει στην επιφάνεια του κυττάρου. A (Arrestin: Αρεστίνη), E (Effector: Ενεργοποιητής), ER (Endoplasmic Reticulum: Ενδοπλασματικό Δίκτυο), GDP (Guanosine Nucleotide Diphosphate: Διφωσφορική Γουανοσίνη), GRK (G-protein-coupled Receptor Kinase: Κινάση του υποδοχέα που συνδέεται με G-πρωτεΐνη), GTP (Guanosine Nucleotide Triphosphate: Τριφωσφορική Γουανοσίνη), H (Hormone: Ορμόνη ή αγωνιστής), P (Phosphate group: Φωσφορική ομάδα), RGS (Regulator of G-Protein Signaling: Ρυθμιστής του σήματος της G- πρωτεΐνης). Λεπτομέρειες στο κείμενο και στις εικόνες που ακολουθούν.

*Trends Pharmacol. Sci 22, 2001*

αυτούς και σε ορισμένες περιπτώσεις δρουν και ως υποχρεωτικά ετεροδιμερή (obligatory heterodimers). Ο σχηματισμός των διμερών αυτών γίνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο ευθύς ως οι υποδοχείς εξέλθουν των ριβοσωμάτων όπου συντίθενται. Ειδικές συνοδευτικές πρωτεΐνες (chaperon proteins) προάγουν την πύκνωση και σύμπτυξη των υποδοχέων, το διμερισμό και την έξοδό τους από το οργανύλιο αυτό και τη μεταφορά τους στην κυτταρική μεμβράνη. Προηγουμένως και καθώς εξέρχονται του ενδοπλασματικού δικτύου, οι υποδοχείς αυτοί περνούν από τη συσκευή Golgi όπου υφίστανται μια διαδικασία ωρίμανσης. Παράλληλα, στο ενδοπλασματικό δίκτυο γίνεται ο σχηματισμός του συμπλόκου βγ της G-πρωτεΐνης, ενώ στη συσκευή Golgi προστίθεται και α-υπομονάδα (8-13).

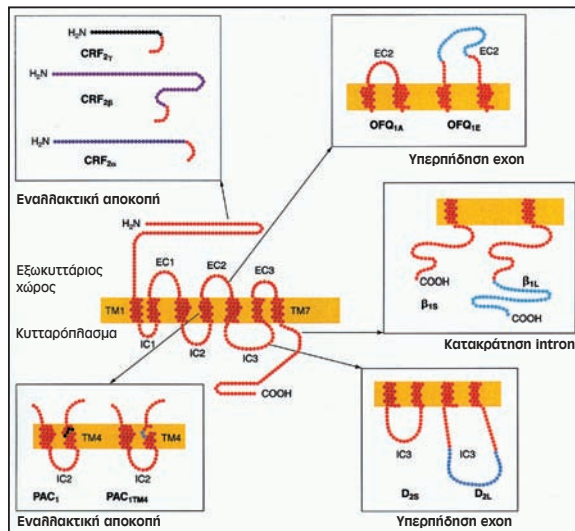


**Εικόνα 3.3: Προτεινόμενο μοντέλο διμερισμού κατά τη σύνθεση των υποδοχέων GPCR.** Πρόκειται για μια μοριακή διαδικασία η οποία γίνεται βήμα προς βήμα και είναι απαραίτητη για τον ποιοτικό έλεγχο των συντιθέμενων υποδοχέων GPCRs (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη), πριν αυτοί φθάσουν στην κυτταρική μεμβράνη. Οι νεοσυντιθέμενοι υποδοχείς καθώς πτυχούνται και συμπύσσονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER: Endoplasmic Reticulum) διμερίζονται και στη συνέχεια αντιδρούν με τις συνοδευτικές (chaperon) πρωτεΐνες οι οποίες σταθεροποιούν το διμερισμό αυτόν. Όσοι υποδοχείς δεν έχουν συμπτηχθεί σε δίπτυχο ή παραμένουν με τη μονομερή μορφή, καταστρέφονται γρήγορα από ένα βιοχημικό μονοπάτι διάσπασης που συνδέεται με το ενδοπλασματικό δίκτυο (ERAD: ER-Associated Degradation pathway). Τα παραμένοντα ομοιομερή των GPCR, αφού ωριμάσουν στη συσκευή Golgi, περνούν στην κυτταρική μεμβράνη όπου ευρίσκονται σε δυναμική επαφή με το ετεροτριμερές της G-πρωτεΐνης, το οποίο απαρτίζεται από την α-υπομονάδα και το βγ-σύμπλεγμα. Το βγ-σύμπλεγμα σχηματίζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και ενώνεται με την α-υπομονάδα στη συσκευή Golgi σχηματίζοντας το ετεροτριμερές της G-πρωτεΐνης αφού πρώτα η α-υπομονάδα παλμιτυλιωθεί. Στη συνέχεια και το τριμερές αυτό οδεύει προς την κυτταρική μεμβράνη. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:131-137,2005



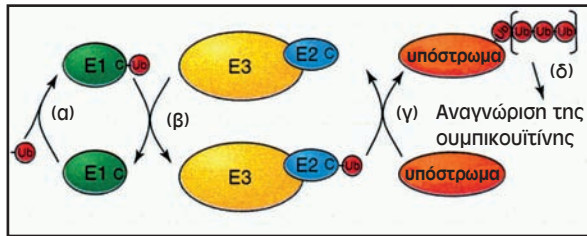
**Εικόνα 3.4:** Σφάλματα κατά τη σύνθεση των υποδοχέων GPCR. Διαδικασίες αποκοπής που οδηγούν σε ποικιλίες υποδοχέων. Η παρεμβολή των ιντρονίων (introns) στα γονίδια που κωδικοποιούν τους υποδοχείς GPCRs (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη) δίνει ευκαιρίες για την ανάπτυξη μηχανισμών αποκοπής οι οποίοι καταλήγουν στο σχηματισμό διαφοροποιημένων mRNA.

*Trends Pharmacol. Sci 20, 1999*



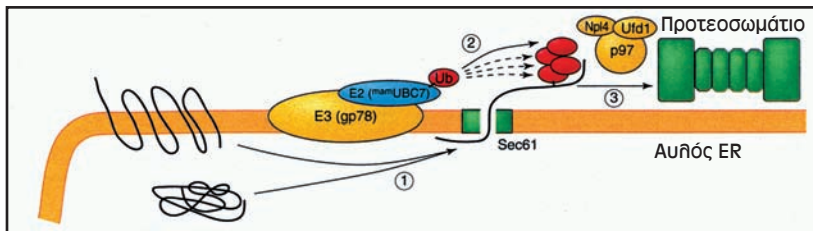
**Εικόνα 3.5:** Παραδείγματα ποικιλιών υποδοχέων GPCRs που δημιουργούνται με τους μηχανισμούς αποκοπής. Υποδοχέας-CRF (Corticotropin Releasin Factor: Παράγοντας που απελευθερώνει την κορτικοτροπίνη), υποδοχέας-D (Doramine:Δοπαμίνη), υποδοχέας-OFQ (Orphanin FQ: Ορφανίνη FQ), υποδοχέας PAC (Pituitary Adenylate-Cyclase Activity: Υποφυσιακή ενεργότητα αδενυλοκυκλάσης), υποδοχέας-β (β-αδρενεργικός υποδοχέας).

*Trends Pharmacol. Sci 20, 1999*



**Εικόνα 3.6: Μηχανισμός ουμπικουϊτίνωσης.** (α) Το C-πέρας της ελεύθερης ουμπικουϊτίνης (Ub) συνδέεται μέσω ενός θειολεστερικού δεσμού με ένα υπόλοιπο κυστεΐνης του ενζύμου E1, το οποίο είναι ένζυμο ενεργοποίησης. (β) Η ενεργοποιηθείσα ουμπικουϊτίνη ενώνεται πάλι μέσω ενός θειολεστερικού δεσμού με ένα υπόλοιπο κυστεΐνης του ενζύμου E2, το οποίο είναι ένζυμο σύνδεσης και θα πρέπει να είναι ήδη ενωμένο με το ένζυμο E3, που είναι μια λιγκάση. (γ) Η ουμπικουϊτίνη συνδέεται με το υπόστρωμα (προσβαλλόμενη πρωτεΐνη) μέσω ενός ισοπεπτιδικού δεσμού. Η σύνδεση αυτή διευκολύνεται από το ένζυμο E3 καθώς αυτό φέρνει δίπλα το ένζυμο E2 και το υπόστρωμα. (δ) Το υπόστρωμα αναγνωρίζεται πλέον ως ουμπικουϊνωμένο και ακολουθεί η διαδικασία της καταστροφής του.

*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*



**Εικόνα 3.7: Μηχανισμός διάσπασης των σηματοδοτικών πρωτεϊνών.** (1) Οι πρωτεΐνες αυτές, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και οι υποδοχείς, είτε επειδή είναι ελαττωματικές είτε γιατί δεν συναρμολογούνται σωστά ή γιατί δεν μπορούν να συμπυκνωθούν, καταστρέφονται. (2) Αυτό γίνεται με μια πολλαπλή ουμπικουϊτίνωση μέσω του συμπλέγματος των ενζύμων σύνδεσης της ουμπικουϊτίνης (E2) και λιγκάσης (E3). (3) Στη συνέχεια η πολυουμπικουϊνωμένη πρωτεΐνη αναγνωρίζεται από το πρωτεοσωμάτιο και αποδομείται με μια διαδικασία που πραγματοποιείται από το σύμπλεγμα των δευτερευουσών πρωτεϊνών p97, Ufd1 και Np14.

*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*

Ο ομοιοδιμερισμός αυτός είναι απαραίτητος για να μπορέσει ο υποδοχέας να εκπληρώσει τον λειτουργικό του ρόλο. Συγχρόνως, η διαδικασία αυτή συντελεί ώστε μόνο φυσιολογικοί υποδοχείς να επιβιώνουν και να προωθούνται προς την κυτταρική μεμβράνη. Υποδοχείς που δεν διμερίζονται καταστρέφονται. Υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι τα επιμέρους μόρια του διμερούς αλληλεπικοινωνούν μεταξύ τους και ότι αυτό γίνεται μέσω ενεργών τμημάτων του κάθε μορίου που ονομάζονται προαγωγείς. Επίσης, φαίνεται ότι τα διμερή μεταπηδούν κατ' επανάληψη από την κατάσταση όπου υπάρχει επικοινωνία σε αυτήν που δεν υπάρχει. Ο εκλεκτικός ετεροδιμερισμός πάλι, ο οποίος γίνεται για να εκπληρωθεί κάποιος συγκεκριμένος φυσιολογικός ρόλος του κυττάρου, προκαλεί φαινοτυπικές μεταβολές στους δύο υποδοχείς. Αυτό και μεν μεταβάλλει τη λειτουργική συμπεριφορά ενός εκάστου υποδοχέα, πλην όμως δημιουργεί στόχους για μελλοντικές εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις (8-13).

Είναι γνωστό ότι σε κάθε δεδομένη κατηγορία υποδοχέων GPCR η λειτουργική διαφοροποίηση οφείλεται στην ύπαρξη πολλών υποτύπων των υποδοχέων αυτών που ο καθένας κωδικοποιείται από ένα ξεχωριστό γονίδιο. Σήμερα είναι γνωστό ότι η ύπαρξη ιντρονίων (introns) στα γονίδια που κωδικοποιούν κάποια από τα μέλη μιας οικογένειας υποδοχέων δίνει πεδίο για επιπρόσθετη διαφοροποίηση λόγω της ανάπτυξης μηχανισμών αποκοπής, οι οποίοι καταλήγουν στο σχηματισμό διαφοροποιημένων mRNA και, ως εκ τούτου, διαφοροποιημένων ισομόρφων των υποδοχέων. Παράλληλα, ο μηχανισμός του ενδοκυττάρου διμερισμού των υποδοχέων αυτών, που περιγράφεται παραπάνω, τείνει να απαλλάξει το κύτταρο από το ενδεχόμενο να φθάσουν στην κυτταρική μεμβράνη ελαττωματικοί υποδοχείς GPCR (14).

Πρωτεΐνες που συντίθενται ελαττωματικές είτε γιατί δεν συναρμολογούνται σωστά είτε γιατί δεν μπορούν να διπλωθούν καταστρέφονται, όπως ήδη αναφέρθηκε, από το ίδιο το κύτταρο. Η πρωτεΐνη που μεσολαβεί για την καταστροφή αυτή ονομάζεται ουμπικουΐτίνη. Η ουμπικουΐτίνη είναι ένα πολυπεπτίδιο της τάξης των 76 αμινοξέων και προσβάλλει τις πρωτεΐνες αυτές με τη βοήθεια τριών κατά σειρά ενζύμων που είναι απαραίτητα για την ενεργοποίησή της και τη σύνδεσή της με αυτές. Οι ελαττωματικές πρωτεΐνες οι οποίες πρόκειται να καταστραφούν, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και υποδοχείς, υφίστανται μια πολλαπλή προσβολή από την ουμπικουΐτίνη (ubiquitination: ουμπικουΐτίνωση) μέσα από μια διαδικασία η οποία ονομάζεται ERAD (Endoplasmic Reticulum Associated Degradation: Διάσπαση που σχετίζεται με το ενδοπλασματικό δίκτυο) και στη συνέχεια καταστρέφονται από τα πρωτεοσωμάτια μέσα από μια διαδικασία που ονομάζεται UPP (Ubiquitin Proteasome Pathway: Οδός Ουμπικουΐτίνης-Πρωτεοσωματίου). Με τη διαδικασία αυτή, το κύτταρο απαλλάσσεται από τις ελαττωματικές πρωτεΐνες που αντιπροσωπεύουν ένα 30% περίπου των νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών (15).

## **Μετασχηματισμοί του μορίου των υποδοχέων GPCR στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης. Ο ρόλος των προσδετών**

Το μόριο των υποδοχέων GPCR ευθύς ως εγκατασταθεί στην κυτταρική μεμβράνη υφίσταται διαρκείς στερεοχημικούς μετασχηματισμούς περνώντας κυκλικά από την ενεργό μορφή R\* στην ανενεργό μορφή R και αντιστρόφως. Από τις μορφές αυτές, μόνο η ενεργός μπορεί να αντιδράσει με την G-πρωτεΐνη και να δώσει το έναυσμα για τη μετάδοση του σήματος. Οι ενεργοί μορφές είναι περισσότερες της μίας. Η σύνδεση, όμως, του αγωνιστή με το θύλακα σύνδεσης στο μόριο του υποδοχέα επιφέρει σε αυτόν τέτοιο μετασχηματισμό του μορίου του που σπάνια μπορεί να συμβεί αφ' εαυτού. Το γεγονός αυτό μεταβάλλει τις φαρμακολογικές ιδιότητες του υποδοχέα. Οι αγωνιστές έχουν υψηλή συγγένεια για τις ενεργούς μορφές και πολύ χαμηλή για τις μη ενεργούς. Οι αντιστροφοί αγωνιστές έχουν υψηλή συγγένεια για τις μη ενεργούς μορφές του μορίου του υποδοχέα και ενούμενοι με αυτόν σταματούν τους περαιτέρω μετασχηματισμούς του μορίου προς ενεργούς μορφές. Αντίθετα, οι αποκλειστές έχουν την ίδια συγγένεια και για τις ενεργούς και για τις μη ενεργούς μορφές του υποδοχέα (16-21).

Οι αγωνιστές επιλέγουν και σταθεροποιούν διαφορετικές ενεργές μορφές των υποδοχέων, οι οποίες, στη συνέχεια, έχουν διαφορετική συγγένεια για τις διάφορες υπομονάδες της G-πρωτεΐνης. Οι αγωνιστές που μπορούν να επιστρατεύουν περισσότερες από τις ενεργές μορφές του υποδοχέα έχουν και τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Παράλληλα υπάρχει η άποψη ότι υπάρχουν προσδέτες που προάγουν το μετασχηματισμό των υποδοχέων προς τις μορφές που οδηγούν σε ενδοκυττάρωση του τελευταίου, χωρίς να προκαλούν την παραγωγή βιοχημικού σήματος (22).

Οι υποδοχείς GPCR θεωρούνται σήμερα ως μόρια με πολλά σημεία αναγνώρισης από τους προσδέτες. Αγωνιστές που συνδέονται με ένα σημείο του υποδοχέα GPCR μπορούν στη συνέχεια να συνδεθούν και με δεύτερο, με αποτέλεσμα το σήμα να είναι σύνθετο και πιο πολύπλοκο και η πληροφορία να παρουσιάζει πολλαπλότητα (22).

Ένας αρχαίος ελληνικός Θεός, ο Πρωτέας, ο οποίος είχε την ικανότητα να μεταμορφώνεται συνεχώς, έρχεται να δώσει το όνομά του σε μια σειρά από πολύπλοκους και εν πολλοίς μη διευκρινισμένους μηχανισμούς οι οποίοι ερμηνεύουν γιατί διάφοροι αγωνιστές, ενδογενείς ουσίες ή φάρμακα, έχουν διαφοροποιημένη ικανότητα στο να διεγείρουν έναν συγκεκριμένο υποδοχέα.

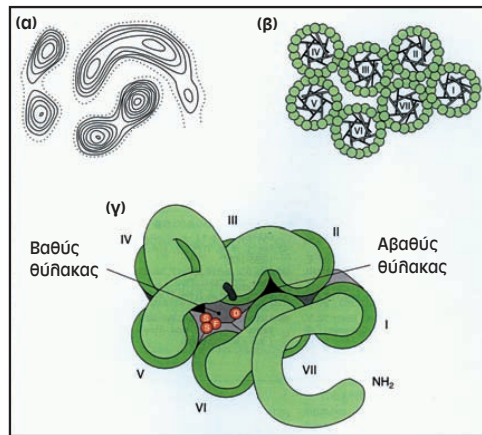
Η πρωτεϊκή ενεργοποίηση του υποδοχέα (Protean agonism) αφορά τους πιθανούς μηχανισμούς ενεργοποίησης των υποδοχέων GPCR στις διάφορες μορφές μετασχηματισμού τους (60).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, τα οποία βασίζονται σε ερευνητικές προσπάθειες, πιστεύεται ότι οι αγωνιστές δημιουργούν ιδιαίτερες ενεργούς μορφές του

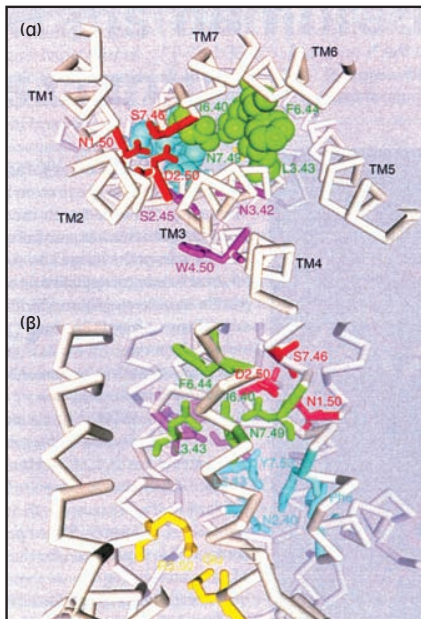
υποδοχέα σε σχέση με αυτές που συμβαίνουν αυτόματα κατά τον κύκλο ενεργοποίησης και απενεργοποίησης του υποδοχέα και ότι μέσω των νέων αυτών μορφών ξεκινούν οι σηματοδοτικές οδοί που προάγονται από τους αγωνιστές αυτούς. Υπάρχει όμως και η άποψη ότι ο αγωνιστής προάγει το σχηματισμό επιλεγμένων ενεργών φυσικών μορφών του υποδοχέα, οι οποίες όμως θα είχαν μικρότερη πιθανότητα να σχηματισθούν αυτόματα σε σχέση με τις προκύπτουσες από τον αυτόματο μετασχηματισμό ενεργούς μορφές του υποδοχέα αυτού, όταν απουσιάζει αγωνιστής. Μια άλλη σημαντική άποψη είναι ότι θα πρέπει να υπάρχει δομική ενεργότητα του υποδοχέα στο σύστημα, δηλαδή αυτός να μετασχηματίζεται κυκλικά, έως ότου ο αγωνιστής επιλέξει μια συγκεκριμένη ενεργό μετασχηματισθείσα μορφή. Υπάρχει επίσης η άποψη ότι ο αποχωρισμός του αγωνιστή από τον υποδοχέα θα πρέπει συγχρόνως να αφαιρεί ένα μονοπάτι διέγερσης προς όφελος ενός άλλου. Πάντως, ο σχηματισμός από τον προσδέτη μιας ενεργού μορφής του υποδοχέα που είναι λιγότερο αποτελεσματική από τη δομή που σχηματίζεται αυτόματα αποτελεί και αυτός έναν από τους μηχανισμούς της πρωτεϊκής ενεργοποίησης (23).

Έχει ήδη αναφερθεί και αναπτυχθεί ότι οι υποδοχείς GPCRs εγκαθίστανται στην κυτταρική μεμβράνη ως διμερή και λειτουργούν με τη μορφή αυτή. Πληροφορίες για τη σύνδεση των N-περάτων των υποδοχέων GPCRs και των μεταβολών στην περιοχή αυτή των N-περάτων κατά τις φάσεις μετασχηματισμού δίνουν οι κρυσταλλογραφικές μελέτες που έγιναν σε υποδοχείς της οικογένειας C των υποδοχέων GPCRs οι οποίοι παρουσιάζουν εξαιρετικά ασυνήθιστου μήκους N-πέρατα. Η οικογένεια αυτή διέπει νευρικές και ορμονικές λειτουργίες, δεν φαίνεται να επηρεάζει τον αγγειακό τόνο, επειδή ωστόσο, συνήθως οι κύριοι μηχανισμοί δεν διαφέρουν μεταξύ τους, θεωρήθηκε σωστό να γίνει η αναφορά αυτή και να παρατεθεί η σχετική εικόνα η οποία είναι ενδεικτική του τι μπορεί να συμβαίνει και στις άλλες οικογένειες των υποδοχέων GPCRs. Πρόκειται για πληροφορίες που αφορούν το μετασχηματισμό του διμερούς και όχι του μεμονωμένου υποδοχέα (24).

Είναι πλέον βέβαιο ότι οι υποδοχείς GPCRs παρουσιάζουν από μόνοι τους μια αυτόματη ενεργοποίηση η οποία μπορεί να καταλήγει και στην παραγωγή σήματος. Διέγερση μπορεί να προκαλέσουν και φυσικές δυνάμεις όπως η διάταση στο αγγειακό τοίχωμα. Πιστεύεται ότι στο μόριο των υποδοχέων αυτών υπάρχουν φυσικές δομές που δρουν κατασταλτικά στην αυτόματη αυτή ενεργοποίηση και ότι μεταλλάξεις σε κρίσιμα αμινοξέα μπορεί να οδηγήσουν σε αυτόματη υπερδιέγερση των υποδοχέων, σε αυξημένη ενεργοποίηση από τους αγωνιστές και πιθανόν σε παθολογικές καταστάσεις. Οι διαπιστώσεις αυτές οδηγούν στη σκέψη ότι η βασική ενέργεια των αγωνιστών των υποδοχέων αυτών δεν θα πρέπει να είναι άλλη από το να απαλλάσσουν τους τελευταίους από τις ανασταλτικές αυτές δομές (25).

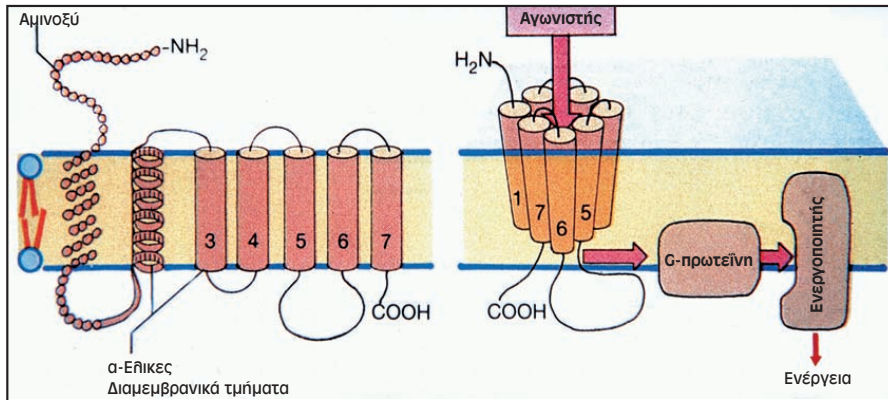


**Εικόνα 3.8:** Εγκάρσια σχηματική αναπαράσταση υποδοχέα GPCR και των σημείων σύνδεσης με τους αγωνιστές. (α) Διάγραμμα πυκνότητας ηλεκτρονίων. (β) Διάταξη των επτά ελίκων. (γ) Διακρίνονται εκ των άνω τα εξωκυττάρια τμήματα των ελίκων. Διαπιστώνεται στο μόριο του υποδοχέα η ύπαρξη μιας σχισμής που αποτελείται από ένα αβαθές μέρος μεταξύ των διαμεμβρανικών τμημάτων (TM:Transmembrane) II, III, IV και VII και ένας βαθύτερος θύλακας μεταξύ των TM III, IV, V και VI. Μια σταθερή δισουλφιδική γέφυρα που ξεκινά από την κορυφή του τμήματος TM III έως το μέσον της εξωκυττάριας αγκύλης 2 προσδίδει μια σταθερή μετασηματισμένη δομή δημιουργώντας δύο επιπλέον αγκύλες από την κεντρική στήλη της δέσμης των επτά ελίκων. Τα σημεία σύνδεσης με τον αγωνιστή ευρίσκονται στο βάθος της σχισμής.  
*Trends Pharmacol. Sci. 17, 1996*



**Εικόνα 3.9:** Ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις σταθεροποίησης του μορίου του υποδοχέα GPCR. Αναπαρίστανται οι αλληλεπιδράσεις που σταθεροποιούν το μόριο του μωσκρινικού M<sub>1</sub>-υποδοχέα στη βασική κατάσταση. Οι αλληλεπιδρώσες ομάδες αμινοξέων έχουν το ίδιο χρώμα. (α) Εξωκυττάρια επιφάνεια. Οι παράπλευρες αλυσίδες που συμμετέχουν στην υδρόφοβη, δίκην φραγμού, δομή του μορίου αναπαρίστανται με τη μορφή σχηματισμού που καλύπτει κενό. (β) Πλάγια όψη. TM (Transmembrane: Διαμεμβρανικά τμήματα του υποδοχέα).  
*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*





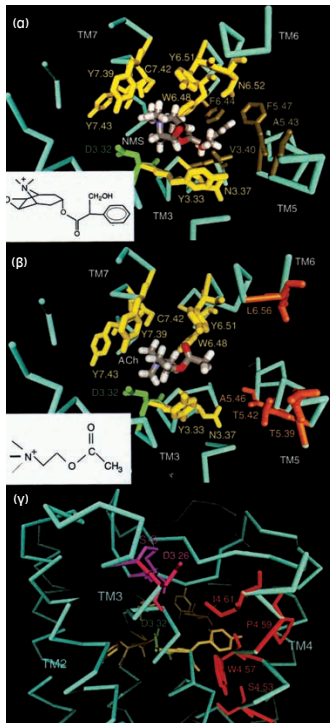
**Εικόνα 3.10: Σχηματική απεικόνιση υποδοχέα GPCR στην κυτταρική μεμβράνη σε φάση ηρεμίας και σε φάση ενεργοποίησης.** Η διέγερση του υποδοχέα GPCR (G Protein Coupled Receptor GPCR: Υποδοχέας που συνδέεται με G-πρωτεΐνη) συνεπάγεται τη στερεοχημική μεταβολή του μορίου του, την προσέλκυση της G-πρωτεΐνης και τη μέσω αυτής μεταφορά της διέγερσης στον ενεργοποιητή.

Lullman H. et al.: *Color Atlas of Pharmacology*, 1993



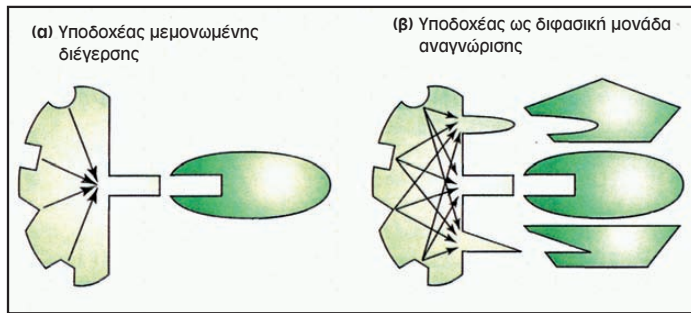
**Εικόνα 3.11: Πλάγια όψη του υποδοχέα GPCR σε φάση ηρεμίας και σε φάση διέγερσης.** Απεικονίζονται τα διαμεμβρανικά τμήματα του υποδοχέα της ροδοψίνης που ανήκει στους υποδοχείς GPCRs (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς συνδεόμενοι με G-πρωτεΐνη). (Δεξιά) Καταγράφονται οι δεσμοί μεταξύ των διαμεμβρανικών τμημάτων που διατηρούν σταθερή τη δομή του υποδοχέα κατά τη φάση ηρεμίας. (Αριστερά) Κατά τη φάση διέγερσης οι δεσμοί αυτοί θραύονται και ο υποδοχέας αλλάζει στερεοχημική διάταξη.

*Trends Pharmacol. Sci* 22, 2001



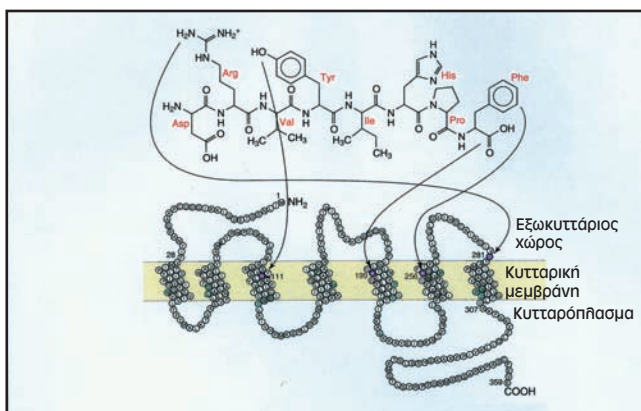
**Εικόνα 3.12:** Αλληλεπιδράσεις προσδετών και μορίου του υποδοχέα GPCR. Αναπαρίστανται (α) οι αλληλεπιδράσεις του μορίου του μουσκαρινικού  $M_1$ -υποδοχέα με τον αποκλειστή σκοπολαμίνη, καθώς και τα υπόλοιπα των αμινοξέων (πράσινα) που αντιδρούν με την παράπλευρη φαινυλομάδα της σκοπολαμίνης, (β) οι αλληλεπιδράσεις του μορίου του μουσκαρινικού  $M_1$ -υποδοχέα με τον φυσικό αγωνιστή ακετυλοχολίνη. Αναπαρίσται η χημικά συνδεδεμένη ομάδα της ακετυλοχολίνης και τα υπόλοιπα των αμινοξέων (πορτοκαλί) στα οποία εκλεκτικές μεταλλάξεις εξασθενίζουν τη δεσμευτική ικανότητα του υποδοχέα, (γ) τα υπόλοιπα αμινοξέων που μπορεί να χρησιμεύουν ως περιφερειακά σημεία προσορμισμού των προσδετών (κόκκινο και ζηρωτό κόκκινο).

*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*



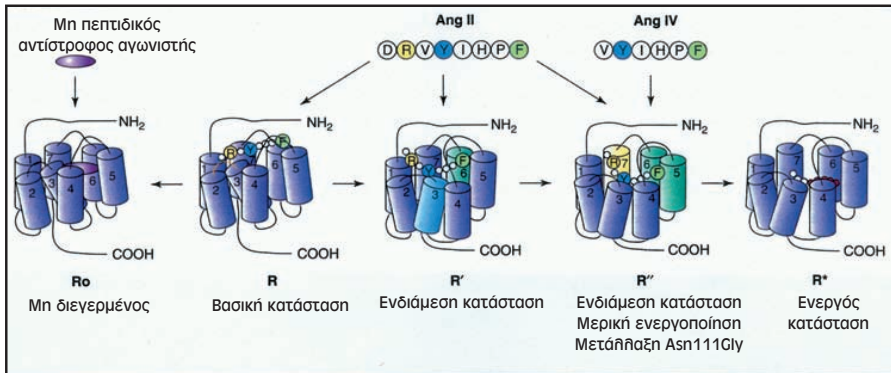
**Εικόνα 3.13:** Μοντέλα ενεργοποίησης του υποδοχέα. (α) Ο υποδοχέας GPCR ως μονοπολικό μόριο αναγνώρισης. Ο προσδέτης συνδέεται σε μια θέση του υποδοχέα (μοναδική ενεργός κατάσταση) και αποτελεί με αυτόν μια ομοιόμορφη μονάδα ενεργοποίησης που προάγει όλες τις βιολογικές δράσεις που μεσολαβούνται από τον υποδοχέα αυτόν. (β) Ο υποδοχέας GPCR ως διπολικό μόριο αναγνώρισης. Η σύνδεση του προσδέτη με μια θέση αναγνώρισης ποδηγετεί την ικανότητά του να συνδέεται με άλλες θέσεις αναγνώρισης. Αυτή η σηματοδοτική ικανότητα είναι πλέον σύνθετη και πολύπλοκη και αυξάνει τα είδη των πληροφοριών.

*Trends Pharmacol. Sci 24, 2003*



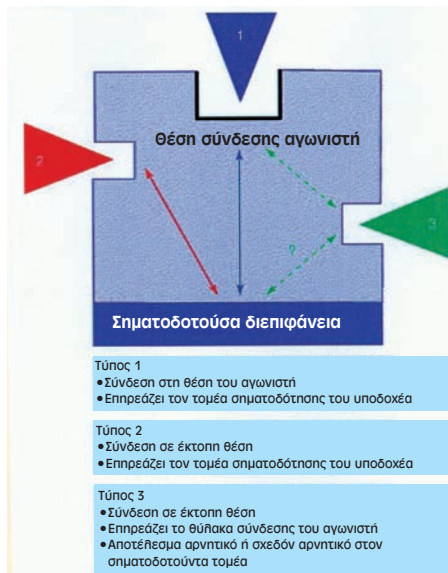
**Εικόνα 3.14: Μηχανισμοί μοριακών επαφών αγωνιστών και υποδοχέων GPCRs.** Το παράδειγμα της εικόνας αφορά τη σύνδεση του μορίου του οκταπεπτιδίου (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe) αγγειοτασίνη II με το μόριο του AT<sub>1</sub>-υποδοχέα. Για την αρχική σύνδεση του αγωνιστή με τον υποδοχέα βασικό ρόλο έχουν τα υπόλοιπα αμινοξέων στα εξωκυττάρια τμήματα του υποδοχέα. Η ενεργοποίηση, όμως, του υποδοχέα απαιτεί αλληλεπιδράσεις των αμινοξέων του μορίου του αγωνιστή με τα αμινοξέα των διαμεμβρανικών ελίκων. Στην αρχή, η Asp1 του μορίου της αγγειοτασίνης II και η His 183 στο εξωκυττάριο τμήμα του μορίου του υποδοχέα παρουσιάζουν μια ασθενή αλληλεπίδραση. Στη συνέχεια, η γουανιδική ομάδα της Arg2, οι αρωματικές πλευρικές ομάδες της Tyr4 και His6 και το φορτισμένο καρβοξυλικό πέρας του μορίου της αγγειοτασίνης II προάγουν τη σύνδεση αυτή, ενώ οι αρωματικές ομάδες των Tyr4 και Phe8 μεταφέρουν την πληροφορία για τη βιολογική απάντηση. Κατά τη διάρκεια της σύνδεσης, η Arg2 δημιουργεί μια γέφυρα άλατος με την Asp281 η οποία ευρίσκεται στο σημείο σύνδεσης της τρίτης εξωκυττάριας αγκύλης με το διαμεμβρανικό τμήμα. Η αντίδραση αυτή είναι βασική για τη διαδικασία σύνδεσης και για την έναρξη της διαδικασίας ενεργοποίησης του υποδοχέα. Η πλευρική αλυσίδα της Tyr4 του μορίου της αγγειοτασίνης II δημιουργεί επίσης μια αμινο-αρωματική αλληλεπίδραση με την Asn111 στην τρίτη ενδοκυττάρια έλικα του μορίου του υποδοχέα που είναι επίσης σημαντική για τη σύνδεση και κλειδί για την ενεργοποίηση του υποδοχέα. Επίσης, το ελεύθερο καρβοξύλιο της Phe8 στο C-πέρας του μορίου της αγγειοτασίνης II δημιουργεί μια γέφυρα άλατος με τη Lys199 στην πέμπτη ενδοκυττάρια έλικα του μορίου του υποδοχέα που συμβάλλει τα μέγιστα στην ενεργοποίησή του. Τέλος, η σωστή τοποθέτηση της πλευρικής αλυσίδας Phe8 δημιουργεί μια συσσωρευμένη αλληλεπίδραση με την His256 στην έκτη ενδοκυττάρια έλικα του μορίου του υποδοχέα, που αν και προμηθεύει μεν πολύ λίγη ενέργεια για τη σύνδεση της αργινίνης ωστόσο προάγει τα μέγιστα την ενεργοποίηση του υποδοχέα. Τα κύρια αμινοξέα που συμβάλλουν στη σύνδεση της αγγειοτασίνης II χρωματίζονται πορφυρά. Τα υπόλοιπα αμινοξέων που είναι σταθερά σε όλους τους υποδοχείς GPCRs είναι χρωματισμένα πράσινα.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24,2003



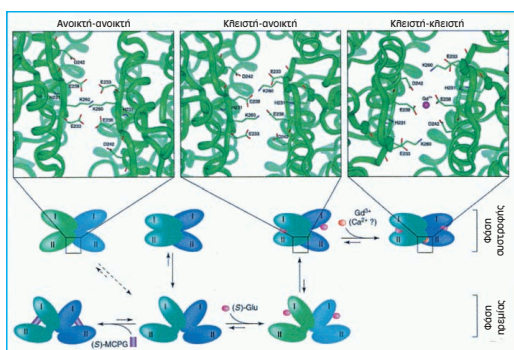
Εικόνα 3.15: Μετασχηματισμοί του μορίου των υποδοχέων GPCRs κατά τη σύνδεσή τους με τον αγωνιστή. Το παράδειγμα της εικόνας αφορά τη σύνδεση της αγγειοτασίνης II με το μόριο του AT<sub>1</sub>-υποδοχέα.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24,2003



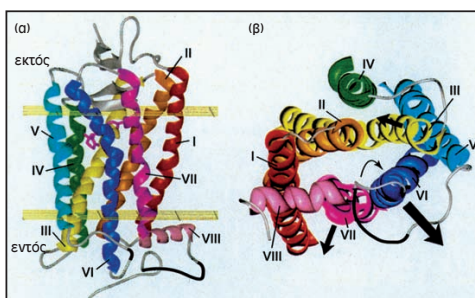
Εικόνα 3.16: Σχηματική παράσταση των τριών διαφορετικών θέσεων δυναμικής σύνδεσης των αντιστροφών αγωνιστών των υποδοχέων GPCRs. Τα βέλη αντιπροσωπεύουν τις κύριες συζεύξεις συνεργασίας ανάμεσα στις θέσεις σύνδεσης. **Τύπου 1 πρόσδεση.** Γίνεται στο θύλακα του μορίου του υποδοχέα, στη θέση σύνδεσης του ενδογενούς αγωνιστή. Αναστέλλεται τόσο η αυτόματη διέγερση του υποδοχέα όσο και η προκαλούμενη από τον αγωνιστή. **Τύπου 2 πρόσδεση.** Η σύνδεση με το μόριο του υποδοχέα γίνεται σε διαφορετική θέση από εκείνη όπου συνδέεται ο ενδογενής αγωνιστής. Και στην περίπτωση αυτή αναστέλλονται και τα δύο είδη διέγερσης του υποδοχέα. **Τύπου 3 πρόσδεση.** Η σύνδεση με το μόριο του υποδοχέα γίνεται πάλι σε διαφορετική θέση από εκείνη όπου συνδέεται ο ενδογενής αγωνιστής. Στην περίπτωση όμως αυτή δεν επηρεάζονται αρνητικά οι ενδογενείς ιδιότητες σηματοδότησης αλλά η ενεργοποίηση του υποδοχέα από τον αγωνιστή.

*Trends Pharmacol. Sci.* 26,2005



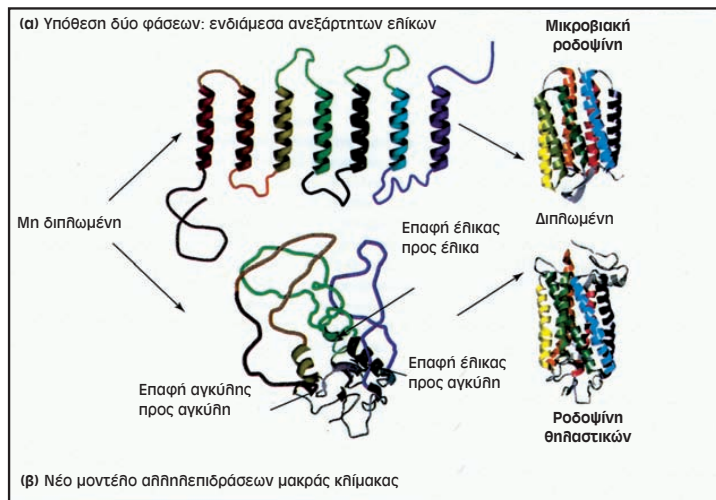
**Εικόνα 3.17: Μετασηματισμοί του ομοιοδιμερούς της οικογένειας C των υποδοχών GPCRs στο επίπεδο των N-περάτων.** Καταγράφονται οι συνδέσεις των εξωκυττάρων N-περάτων (ATD: Amino Terminal Domain). Καθένα από τα δύο συζευγμένα ATD (πράσινο το ένα και μπλε το άλλο) παρουσιάζουν σφαιρικούς λοβούς, I και II, που συνδέονται με μια αρθρώνουσα περιοχή. Οι μετασηματισμοί που διαπιστώθηκαν κατά την κρυσταλλογραφία με ακτίνες X και έχουν επιβεβαιωθεί σημειώνονται με έντονα βέλη και εκείνοι που δεν έχουν επιβεβαιωθεί με ασθενή μαύρα βέλη. Κάθε ATD μπορεί να ευρίσκεται είτε σε ανοικτή κατάσταση (open state) είτε σε κλειστή κατάσταση (closed state), ενώ το διμερές μπορεί να ευρίσκεται είτε σε φάση μετασηματισμού ηρεμίας (resting) είτε σε φάση μετασηματισμού συστροφής (twist). Καταγράφονται οι προτεινόμενοι μετασηματισμοί με ροζ χρώμα από τον αγωνιστή S-Glu (S-γλουταμάτη), με μωβ χρώμα από τον συναγωνιστικό αποκλειστή S-MCPG (S-α-methyl-4-carboxymethylglycine) και με πορτοκαλί χρώμα από τον αλλοστερικό ενεργοποιητή  $\text{Cd}^{3+}$ . Στο άνω μέρος καταγράφονται οι αντίστοιχες περιοχές σύνδεσης των δύο λοβών II σε φάσεις συστροφής και σε καταστάσεις ανοικτής-ανοικτής, κλειστής-ανοικτής και κλειστής-κλειστής με παράλληλη καταγραφή των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων των αμινοξέων.

*Trends Pharmacol. Sci.* 22,2002



**Εικόνα 3.18: Διάταξη των διαμεμβρανικών ελίκων των υποδοχών που συνδέονται με G-πρωτεΐνη.** Κλασικό παράδειγμα των στερεοχημικών μεταβολών των υποδοχών αυτών αποτελεί ο υποδοχέας της ροδοψίνης όπου έχουν γίνει και οι καλύτερες μέχρι σήμερα μελέτες. **(α) Διάταξη πριν από τη διέγερση του υποδοχέα.** Η καθεμία από τις διαμεμβρανικές έλικες ή τμήματα χαρακτηρίζεται με ένα χρώμα. Η 1<sup>η</sup> (I: κόκκινο), η 2<sup>η</sup> (II: πορτοκαλί), η 3<sup>η</sup> (III: κίτρινο), η 4<sup>η</sup> (IV: πράσινο, η 5<sup>η</sup> (V: κυανούν, η 6<sup>η</sup> (VI: σκούρο μπλε) και η 7<sup>η</sup> (VII: ζωηρό κόκκινο). **(β) Διάταξη μετά τη διέγερση του υποδοχέα.** Διαπιστώνεται η αναδιάταξη των ελίκων που οφείλεται στη στερεοχημική αλλαγή του μορίου του υποδοχέα.

*Trends Pharmacol. Sci.* 22,2001



Εικόνα 3.19: Σχηματική παράσταση που αφορά την αναδιάταξη των ελίκων κατά τη στερεοχημική αναδιάταξη του μορίου του υποδοχέα που συνδέεται με G-πρωτεΐνη. Πρόκειται για τον υποδοχέα της ροδοψίνης, ο οποίος έχει μελετηθεί καλύτερα. (α) Διάταξη με βάση την υπόθεση των δύο φάσεων. Βλέπε κείμενο. (β) Διάταξη με βάση το νέο μοντέλο των αλληλεπιδράσεων μακράς κλίμακας. Βλέπε κείμενο.

*Trends Pharmacol. Sci.* 26,2005

Εδώ και αρκετά χρόνια ήταν γνωστό ότι υπάρχουν ουσίες που συνδέονται με το μόριο των υποδοχέων GPCRs σε φάση μη ενεργό κατά τη διάρκεια των φάσεων μετασχηματισμού των υποδοχέων αυτών από ενεργούς σε μη ενεργούς καταστάσεις. Η σύνδεση αυτή είχε ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση του υποδοχέα σε μη ενεργό κατάσταση και οι ουσίες αυτές, που στην πραγματικότητα ενεργούσαν ως αποκλειστές, είχαν πάρει την ονομασία αντίστροφοι αγωνιστές (inverse agonists) ή αρνητικοί ανταγωνιστές (negative antagonists).

Σήμερα γνωρίζουμε περισσότερες λεπτομέρειες για τους μηχανισμούς αυτών. Υπάρχουν τρεις διαφορετικοί τρόποι με τους οποίους μια ουσία μπορεί να συνδεθεί με τον υποδοχέα GPCR και να δράσει ως αντίστροφος αγωνιστής. Στην τύπου 1 πρόσδεση, ο αντίστροφος αγωνιστής συνδέεται στο θύλακα του μορίου του υποδοχέα με τη θέση σύνδεσης του ενδογενούς αγωνιστή. Η σύνδεση αυτή ονομάζεται ομότοπη (syntopic) και το αποτέλεσμα είναι ότι αναστέλλεται τόσο η αυτόματη ενδογενής διέγερση του υποδοχέα όσο και η προκαλούμενη από τον αγωνιστή. Στην τύπου 2 πρόσδεση, ο αντίστροφος αγωνιστής συνδέεται με το μόριο του υποδοχέα σε διαφορετική θέση από εκείνη όπου συνδέεται ο ενδογενής αγωνιστής. Η σύνδεση αυτή ονομάζεται έκτοπη (ectopic). Και στην περίπτωση αυτή αναστέλλονται και τα δύο είδη διέγερσης του υποδοχέα. Στην

τύπου 3 πρόσδεση, η σύνδεση του κατ' ευφημισμὸν αντίστροφου αγωνιστή με το μόριο του υποδοχέα είναι πάλι έκτοπη, αλλά στην περίπτωση αυτή δεν επηρεάζονται αρνητικά οι ενδογενείς ιδιότητες σηματοδότησης. Επηρεάζεται όμως, κατά τρόπο ψευδώς ανταγωνιστικό η ενεργοποίηση του υποδοχέα από τον ενδογενή αγωνιστή. Επηρεάζεται, επίσης, κατά τρόπο μη ανταγωνιστικό η ενεργοποίηση του υποδοχέα από τους εξωγενείς συνθετικούς αγωνιστές (25).

Ακόμη, υπάρχουν ενδείξεις ότι ουσίες που δρουν ως αντίστροφοι αγωνιστές μπορεί να παρεμβαίνουν στην αλληλεπίδραση των υποδοχέων GPCRs με τις G-πρωτεΐνες. Αν μία από τις ιδιότητες των αγωνιστών είναι να ωθούν του υποδοχείς GPCRs να συνδέονται με τις G-πρωτεΐνες, τότε οι αντίστροφοι αγωνιστές είτε αναστέλλουν τη σύνδεση αυτή είτε καθιστούν το σχηματιζόμενο σύμπλοκο ανενεργό (25).

Όμως, οι υποδοχείς GPCRs δεν αντιδρούν μόνο με τις G-πρωτεΐνες αλλά και με πλήθος άλλων πρωτεϊνών. Παράδειγμα αποτελούν οι αρεστίνες οι οποίες μεθοδεύουν την ενδοκυττάρωσή τους. Έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχουν αντίστροφοι αγωνιστές που μπορεί να αποκλείουν τις πλειοτροπικές δράσεις που συνδέονται με τη διέγερση ενός υποδοχέα και να δρουν συγχρόνως ως αγωνιστές για μία μόνο οδό που σηματοδοτείται από την ένωση των υποδοχέων αυτών με μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη (25).

Ερώτημα είναι πώς γίνεται η επιλογή των σημάτων. Τα κύτταρα έχουν ποικίλους τρόπους να ελέγχουν τα εισερχόμενα σήματα. Ελέγχουν τα επίπεδα των μορίων, δηλαδή των υποδοχέων, που πρωτοαναγνωρίζουν το ερχόμενο χημικό σήμα, μεταβάλλουν τη συμπεριφορά των μορίων με τα οποία θα αλληλεπιδράσει ο υποδοχέας, επιλέγουν κυρίαρχες ποικιλίες μορίων που προέρχονται από την αποκοπή αρχικών μορίων για να ελέγχουν την ενδοκυττάρια διαδρομή του σήματος και αλλάζουν την αναλογία των κυτταροπλασματικών αντιδρώντων μορίων (22).

Η κλασική αντίληψη ότι οι υποδοχείς GPCR απλώς μεταδίδουν τη διέγερση στην G-πρωτεΐνη και αυτή με τη σειρά της στον ενεργοποιητή ο οποίος θα μεθοδεύσει την παραγωγή του ενδοκυττάριου σήματος φαντάζει σήμερα πολύ απλοϊκή. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές δεν είναι οι μοναδικές. Οι υποδοχείς GPCR έχουν στο μόριό τους αλληλουχίες πρωτεϊνών οι οποίες είναι σε θέση να αναγνωρίζουν και να αλληλεπιδρούν με άλλες πρωτεΐνες. Τα πιο τυπικά σημεία αλληλεπιδράσεων στους υποδοχείς αυτούς αποτελούν στο μεν ενδοκυττάριο τμήμα του μορίου τους η αγκύλη III και το καρβοξυλοτελικό ή C-πέρας, στο δε εξωκυττάριο τμήμα το αμινοτελικό ή N-πέρας. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές ποικίλουν από υποδοχέα σε υποδοχέα και από κύτταρο σε κύτταρο. Χρησιμεύουν δε για πολλές λειτουργίες του υποδοχέα, όπως είναι η θέση που θα καταλάβει στην κυτταρική μεμβράνη, η ρύθμιση της λειτουργίας του, η επιλογή του σήματος και η ενδοκυττάρωσή του. Άλλες από τις αλληλεπιδράσεις αυτές είναι γνωστές και άλλες είναι άγνωστες ή είναι άγνωστο τι ακριβώς εξυπηρετούν (26).

## Δομή των G-πρωτεϊνών

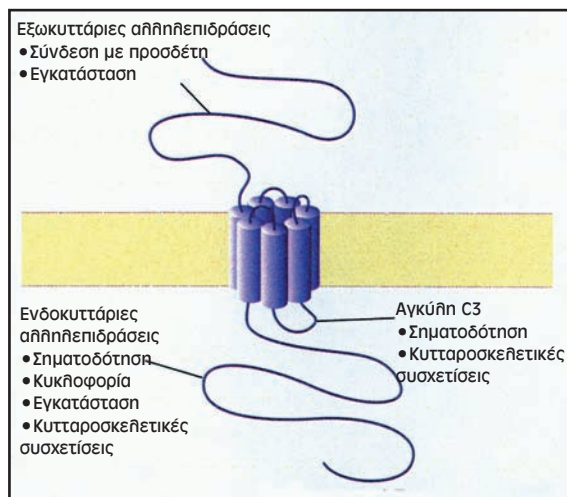
Οι G-πρωτεΐνες, που αποκαλούνται έτσι γιατί συνδέονται με γουανινονουκλεοτίδια, ενεργούν ως μεταδότες της πληροφορίας από τους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης και κατά μήκος αυτής προς τους αντίστοιχους ενεργοποιητές. Τέτοιοι είναι διάφορα ενζυμικά συστήματα, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται οι αδενυλοκυκλάσες, οι κινάσες των υποδοχέων, οι φωσφολιπάσες, οι φωσφοδιεστεράσες και οι κινάσες της τυροσίνης. Μεταξύ, επίσης, των ενεργοποιητών περιλαμβάνονται διάυλοι διαφόρων ιόντων καθώς και ορισμένες πρωτεΐνες μεταφορείς. Ανάλογα με τη φύση της G-πρωτεΐνης, το μήνυμα προς τον ενεργοποιητή μπορεί να είναι διεγερτικό ή ανασταλτικό (7,27-31).

Μέχρι σήμερα είναι γνωστές τέσσερις οικογένειες G-πρωτεϊνών ( $G_s$ ,  $G_i$ ,  $G_q$  και  $G_{12}$ ). Κάθε G-πρωτεΐνη είναι ετεροτριμερής και αποτελείται από τρεις υπομονάδες, τις  $\alpha$ ,  $\beta$  και  $\gamma$ , που συνδέονται ισχυρά με την κυτταροπλασματική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης, χωρίς όμως να είναι ενσωματωμένες σε αυτήν, και δεν περιέχουν υδρόφοβες περιοχές. Η  $\alpha$ -υπομονάδα είναι ο φορέας της μετάδοσης της πληροφορίας από τον υποδοχέα στον ενεργοποιητή, πλην όμως η επαφή G-πρωτεΐνης και υποδοχέα δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί χωρίς την παρουσία του συμπλόκου των υπομονάδων  $\beta$  και  $\gamma$ . Σήμερα είναι παραδεκτό ότι και το σύμπλοκο  $\beta\gamma$  έχει λειτουργικό ρόλο στη μετάδοση του σήματος, δεδομένου ότι συνδέεται με πολλά από τα σηματοδοτούντα μόρια (7,29-35).

Πειραματικά δεδομένα συνηγορούν για το ότι η  $\alpha$ -υπομονάδα απαρτίζεται από επιμέρους υποομάδες όπως  $G_{\alpha_1}$ ,  $G_{\alpha_2}$ ,  $G_{\alpha_3}$  και ότι καθεμία από αυτές παίζει κάποιο ρόλο στη μετάδοση του σήματος. Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη χαρακτηρίζονται από το γεγονός ότι έχουν επτά διαμεμβρανικά τμήματα (7-TM: 7-Trans Membrane). Όταν ένας αγωνιστής συνδέεται με έναν από τους υποδοχείς αυτούς, τότε η μοριακή επίδραση αναμεταδίδεται από τις μεμβρανικές έλικες του υποδοχέα στο κυτταροπλασματικό τμήμα του πρωτεϊνικού μορίου του υποδοχέα. Το C-τελικό τμήμα της τρίτης ενδοκυττάριας αγκύλης έχει πολύ σημαντική συμμετοχή στην ενεργοποίηση των G-πρωτεϊνών (7,29-35).

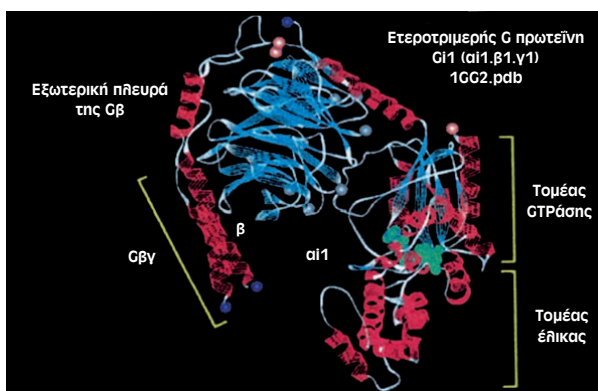
Κάθε κύτταρο μπορεί να περιέχει διάφορες G-πρωτεΐνες. Όσο αυξάνουν οι γνώσεις για τις σχέσεις υποδοχέων και G-πρωτεϊνών, τόσο ενισχύεται η άποψη ότι ένας υποδοχέας μπορεί να αναγνωρίζει και να συνδέεται με διαφορετικές G-πρωτεΐνες. Πράγματι, ένας υποδοχέας μπορεί να διεγείρει πολλές G-πρωτεΐνες δίνοντας γένεση σε μεγάλο και ποικίλο αριθμό βιολογικών αντιδράσεων, ενώ πολλοί υποδοχείς μπορούν να διεγείρουν μια συγκεκριμένη G-πρωτεΐνη. Πολλές φορές τα σήματα μπορεί να είναι αλληλοσυγκρουόμενα. Το τι θα επικρατήσει εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η πυκνότητα των υποδοχέων, ο ρυθμός απευαισθητοποίησής τους, οι συγκεντρώσεις του αγωνιστή, η ποσότητα των διαθέσιμων G-πρωτεϊνών και ο συναγωνισμός μεταξύ των για





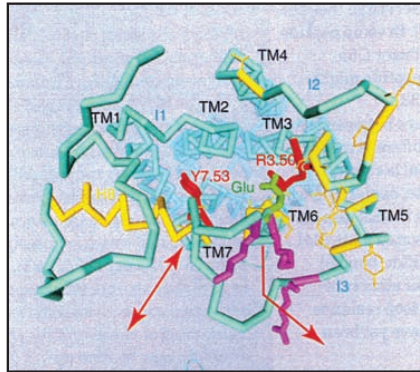
**Εικόνα 3.20: Θέσεις αλληλεπιδράσεων στο μόριο του υποδοχέα GPCR.** Απεικονίζονται οι θέσεις στο μόριο του υποδοχέα GPCR (G Protein Coupled Receptor: Υποδοχέας συνδεδεμένος με G-πρωτεΐνη) που αλληλεπιδρούν με άλλες πρωτεΐνες. Οι κυριότερες θέσεις είναι στο μεν ενδοκυττάριο τμήμα του μορίου τους η αγκύλη III και το C-πέρας, στο δε εξωκυττάριο τμήμα το N-πέρας. Καταγράφεται επίσης η λειτουργική σημασία των αλληλεπιδράσεων αυτών.

*Trends Pharmacol. Sci 22, 2001*



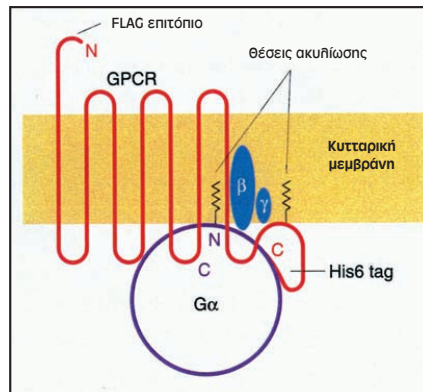
**Εικόνα 3.21: Σχηματική παράσταση του μορίου της G-πρωτεΐνης.** Η G-πρωτεΐνη αποτελεί ένα ετεροτριμερές που αποτελείται από τις υπομονάδες α, β και γ. Η α-υπομονάδα μεταφέρει το μήνυμα στον ενεργοποιητή. Οι β και γ υπομονάδες υπάρχουν με τη μορφή συμπλόκου στο μόριο της G-πρωτεΐνης και συμμετέχουν πολλαπλά στη σηματοδότηση.

*Δ. Γιαννακίδης- Internet, 2005*



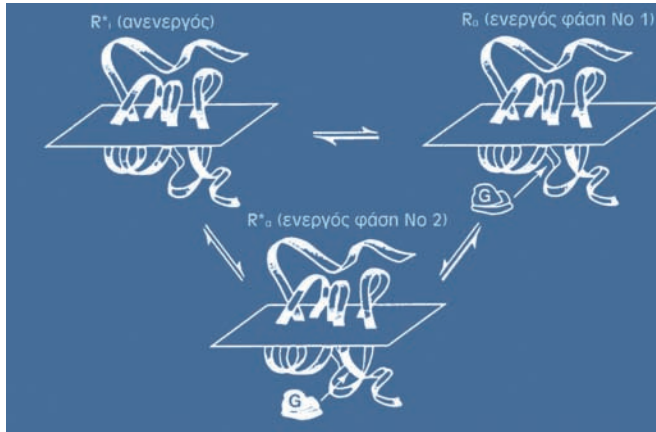
**Εικόνα 3.22: Αλληλεπιδράσεις του μορίου του υποδοχέα GPCR με την G-πρωτεΐνη.** Θέσεις στην κυτταροπλασματική πλευρά του μορίου του μουσκαρινικού M<sub>1</sub> υποδοχέα που πιστεύεται ότι συμμετέχουν στην αναγνώριση της G-πρωτεΐνης. Σημαντικά για τη σύνδεση είναι τα θετικά φορτισμένα υπόλοιπα αμινοξέων (ζωηρό κόκκινο) που ευρίσκονται στην 3<sup>η</sup> ενδοκυττάρια αγκύλη (I3), ενώ καταγράφονται και άλλες δυναμικές επαφές (κίτρινα). Καταγράφεται επίσης το πλήρως διατηρούμενο υπόλοιπο της Arg350 (κόκκινο). Τα βέλη επισημαίνουν την αυξημένη κινητικότητα του διαμεμβρανικού τμήματος (TM7) του υποδοχέα και της έλικας 8, καθώς και την προς τα έξω κίνηση του διαμεμβρανικού τμήματος (TM7), τα οποία φαίνεται να συνοδεύουν την ενεργοποίηση του υποδοχέα.

*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*



**Εικόνα 3.23: Πειραματικό μοντέλο σύντηξης του υποδοχέα GPCR και της α<sub>1</sub>-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης.** Η σύντηξη αυτή επιτυγχάνεται με την ένωση του ενδοκυττάριου C-πέρατος του υποδοχέα GPCR με το N-πέρας της α<sub>1</sub>-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης (Gα) με τη χρήση ειδικών τεχνικών. Η σύντηξη αυτή δίνει πληροφορίες για τους μηχανισμούς που διέπουν τη σύνδεση του υποδοχέα GPCR και της G-πρωτεΐνης. Απεικονίζονται ο υποδοχέας GPCR (κόκκινος), η Gα-υπομονάδα (μώβ κύκλος), οι θέσεις των N και C-περάτων του υποδοχέα GPCR (κόκκινο) και τα αντίστοιχα πέρατα της Gα υπομονάδας της G-πρωτεΐνης (μωβ). Το C-πέρας του υποδοχέα GPCR είναι παλμιτοϋλιωμένο και το N-πέρας της Gα-υπομονάδας μυριστοϋλιωμένο ή παλμιτοϋλιωμένο, ή και τα δύο. Η ακιλίσση στις θέσεις σύνδεσης διατηρεί τις δύο πρωτεΐνες στην κυτταρική μεμβράνη. Οι β και γ υπομονάδες της G-πρωτεΐνης (μπλε) μπορούν και αντιδρούν με τις GPCR-Gα πρωτεΐνες τήξης, δεν είναι όμως γνωστό αν χρειάζονται για τη σύντηξη. FLAG και His6 tag επιτρέπουν την ανοσολογική διερεύνηση των πρωτεϊνών τήξης με μονοκλωνικά αντισώματα.

*Trends Pharmacol. Sci 20, 1999*



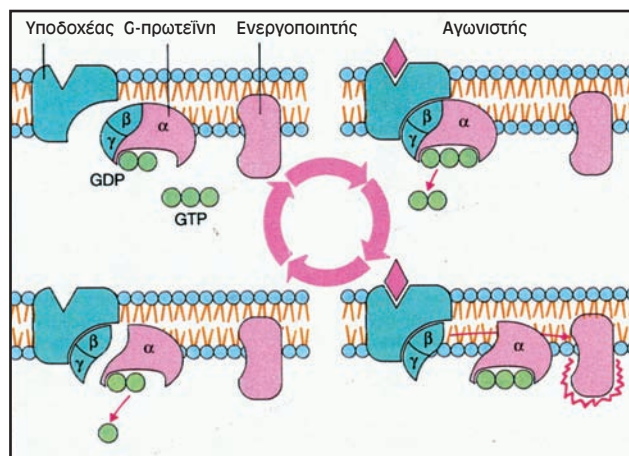
**Εικόνα 3.24: Παραδείγματα εκλεκτικότητας ενεργών θέσεων των υποδοχών GPCR με συγκεκριμένες G-πρωτεΐνες.** Διαφορετικοί ενεργείς στερεοχημικοί μετασχηματισμοί του ίδιου υποδοχέα δημιουργούν εκλεκτικότητα για διαφορετικές, κάθε φορά, G-πρωτεΐνες. Εάν οι προσδότες προάγουν διαφορετικούς μετασχηματισμούς του υποδοχέα, τότε μπορούν να διοχετεύσουν το σήμα μέσα από διαφορετικές σηματοδοτικές οδούς που εξαρτώνται από τις G-πρωτεΐνες. *Trends Pharmacol. Sci* 20, 1999

την κατάληψη του υποδοχέα. Ο υποδοχέας αντιδρά με τις G-πρωτεΐνες στην κυτταροπλασματική πλευρά των τελευταίων και πιθανόν προσδιορίζει ειδικές περιοχές στη δομή τους που είναι υπεύθυνες για την εκλεκτικότητα του υποδοχέα ανάμεσα σε διαφορετικές G-πρωτεΐνες. Παράλληλα, και μία G-πρωτεΐνη μπορεί να απευθύνεται σε περισσότερους του ενός ενεργοποιητές (1,9,36-38).

Ένα άλλο ερώτημα είναι πώς ο υποδοχέας ξεχωρίζει τα διάφορα μηνύματα που δέχεται και διαλέγει το πιο κατάλληλο. Πιθανόν εδώ να παίζουν ρόλο οι υποομάδες της κάθε  $\alpha$ -υπομονάδας της G-πρωτεΐνης (19,33,39,40).

### Μετάδοση του σήματος από τον υποδοχέα στα ενζυμικά συστήματα

Κατά τη φάση της ηρεμίας, ο υποδοχέας δεν έχει καμία σχέση με το υπόλοιπο σύστημα μετάδοσης της διέγερσης και η G-πρωτεΐνη παραμένει ενωμένη με τη διφωσφορική γουανοσίνη (GDP:Guanine Diphosphate) σε αδρανή μορφή. Κατά τη διέγερση του υποδοχέα, η ένωση με τον αγωνιστή οδηγεί σε αλλαγή της διαμόρφωσης του πρώτου και το σχηματιζόμενο σύμπλοκο “αγωνιστής-υποδοχέας” παρουσιάζει μεγάλη χημική συγγένεια με την G-πρωτεΐνη, με την οποία ενώνεται εκδιώκοντας συγχρόνως τη GDP. Το νέο σύμπλοκο που σχηματίζεται, δηλαδή “αγωνιστής-υποδοχέας-G πρωτεΐνη”, διατηρείται για ελάχιστο χρόνο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η G-πρωτεΐνη παρουσιάζει μετά τη λήψη του σήματος μεγαλύτερη συγγένεια προς την τριφωσφορική γουανοσίνη



**Εικόνα 3.25: Κύκλος μετασχηματισμών της G-πρωτεΐνης.** Κατά τη φάση ηρεμίας, η G-πρωτεΐνη (α-υπομονάδα και σύμπλοκο βγ) δεν είναι συνδεδεμένη με τον υποδοχέα. Κατά τη διέγερση του υποδοχέα, η ένωση με τον αγωνιστή οδηγεί σε αλλαγή της διαμόρφωσης του μορίου του πρώτου και το σχηματιζόμενο σύμπλοκο "αγωνιστής - υποδοχέας" παρουσιάζει μεγάλη χημική συγγένεια με την G-πρωτεΐνη με την οποία ενώνεται προσωρινά εκδιώκοντας συγχρόνως την GDP. Στη συνέχεια, η α-υπομονάδα ενωμένη πάντα με την GTP έρχεται και διεγείρει τον ενεργοποιητή. Ακολούθως, η ενεργοποίηση της G-πρωτεΐνης τερματίζεται από την ενδογενή ενεργότητα της GTP-άσης της α-υπομονάδας που διασπά την GTP προς την GDP. Τέλος, το σύμπλοκο βγ επανενώνεται με την α-υπομονάδα που είναι επίσης συνδεδεμένη με την GDP.

Lullman H. et al.:*Color Atlas of Pharmacology*, 1993

(GTP:Guanine Triphosphate) με την οποία ενώνεται παρουσία  $Mg^{2+}$ , αφού πρώτα αποχωρισθεί από το υπόλοιπο σύμπλοκο. Ήδη, όμως, το σήμα έχει περάσει και ένας υποδοχέας μπορεί να περάσει το σήμα, όπως ήδη αναφέρθηκε, σε απείρως μεγάλο αριθμό G-πρωτεϊνών (7,19,29-32,35,41,42).

Υπάρχει η άποψη ότι κατά τη σύνδεση των υποδοχέων GPCRs με τις G-πρωτεΐνες, οι τελευταίες μεταφέρουν πρωτόνια από τον εξωκυττάριο χώρο δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα την εκ νέου σύνθεση της GTP από την GDP με την ενζυματική δράση της καταλυτικής  $\alpha 1$ -υπομονάδας της G-πρωτεΐνης. Επίσης, μια νουκλεοτιδική διφωσφορική κίνηση ίσως είναι υπεύθυνη για τις μεγάλες συγκεντρώσεις της GTP κοντά στις G-πρωτεΐνες (42,43).

Η σύνδεση της GTP οδηγεί σε τροποποίηση του μορίου της α-υπομονάδας, με αποτέλεσμα να προκαλείται ενεργοποίηση της G-πρωτεΐνης, ενώ σε δεύτερο στάδιο η α-υπομονάδα αποσπάται από το σύμπλοκο βγ. Στη συνέχεια, η α-υπομονάδα ενωμένη πάντα με την GTP έρχεται και διεγείρει τον ενεργοποιητή. Στην περίπτωση που ο ενεργοποιητής είναι ενζυμικό σύστημα και η G-πρωτεΐνη δρα διεγερτικά, όπως στη συγκεκριμένη περιγραφή, καταλύεται μια βιοχημική αντίδραση που έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μίας ή περισσότερων

ουσιών που εγκαταλείπουν την κυτταρική μεμβράνη και περνούν στο κυτταρόπλασμα. Οι ουσίες αυτές ονομάζονται “δεύτεροι αγγελιαφόροι” γιατί είναι οι συνεχιστές του μηνύματος που έρχεται με τον αγωνιστή στον υποδοχέα. Με το μηχανισμό αυτό μεθοδεύεται η συνέχεια του μηνύματος ενδοκυτταρίως. Ακολούθως, η ενεργοποίηση της G-πρωτεΐνης τερματίζεται από την ενδογενή δραστικότητα της GTP-άσης της α-υπομονάδας η οποία διασπά την GTP προς την GDP. Χρειάζεται χρόνος 15 sec για να γίνει αυτή η διάσπαση και αυτός είναι ο χρόνος που έχει προνοήσει η φύση για να διατηρεί τον κυτταρικό μηχανισμό σε ενεργό φάση. Μετά την υδρόλυση της GTP προς GDP, η α-υπομονάδα αλλάζει στερεοδιαμόρφωση και αποκτά υψηλή χημική συγγένεια για το σύμπλοκο βγ. Τέλος, το σύμπλοκο βγ επανενώνεται με την α-υπομονάδα που είναι ήδη συνδεδεμένη με την GDP, η μορφή αυτή σταθεροποιείται από τις αλληλεπιδράσεις των συνιστώντων μορίων και έτσι το σύνολο της G-πρωτεΐνης σε αδρανή πλέον μορφή περιμένει την εκ νέου διέγερση του υποδοχέα. Ο σχηματισμός του ετεροτριμερούς είναι απαραίτητος για να υπάρξει υψηλή χημική συγγένεια μεταξύ της G-πρωτεΐνης και του υποδοχέα ευθύς μετά τη διέγερση του τελευταίου (7,19,29-32,35,41,42).

Η ένωση του αγωνιστή με τον υποδοχέα προκαλεί, όπως ήδη αναφέρθηκε, τη στερεοχημική αναδιάταξη του μορίου του τελευταίου. Οι μετασχηματισμοί που συμβαίνουν περιγράφονται στην “υπόθεση των δύο φάσεων: two-stage hypothesis” και αφορούν τα διαμεμβρανικά τμήματα ή έλικες του υποδοχέα. Στην πρώτη φάση, το λιπιδικό περιβάλλον της κυτταρικής μεμβράνης ευνοεί θερμοδυναμικά το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου με αποτέλεσμα τη δημιουργία αναξάρτητων σταθερών α-ελίκων. Κατά τη δεύτερη φάση, δημιουργούνται επαφές μεταξύ των ελίκων. Οι γέφυρες αυτές μεταξύ των ελίκων του μορίου του υποδοχέα σταθεροποιούν το μόριο αυτό στην κατάσταση αυτή και περιορίζουν τη συνέχιση της συγκεκριμένης στερεοχημικής μεταβολής (1,36).

Πρόσφατα διατυπώθηκε και η “υπόθεση των τριών φάσεων: three-stage hypothesis”, όπου κατά την τρίτη φάση συμβαίνουν διάφορα γεγονότα όπως η σύνδεση με προσθετικές ομάδες ή η πτύχωση και η εισδοχή των αγκυλών ή/και των περιφερικών τμημάτων του υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη και ο σχηματισμός μιας τεταρτοταγούς δομής. Υπάρχει επίσης η άποψη ότι δημιουργούνται τεταρτοταγείς επαφές μεταξύ των αμινοξέων τόσο των περιοχών των ελίκων όσο και των περιοχών των αγκυλών του υποδοχέα και ότι οι επαφές αυτές έχουν σπουδαίο ρόλο κατά τη διάρκεια της πτύχωσης του υποδοχέα. Σήμερα πιστεύεται ότι το όλο φαινόμενο του στερεοχημικού μετασχηματισμού του υποδοχέα οφείλεται σε αλληλεπιδράσεις μακράς κλίμακας (long range interactions) μεταξύ των διαφόρων τμημάτων που συνιστούν το μόριο του υποδοχέα. Τα υποθετικά αυτά μοντέλα που ωστόσο βασίζονται σε πειραματικά ευρήματα, κυρίως στο επίπεδο του υποδοχέα της ροδοψίνης, δεν μπορούν να

δώσουν πάντα πλήρεις εξηγήσεις στα ερωτήματα που συνδέονται με τη λειτουργία των υποδοχέων αυτών (1).

Κατά τις στερεοχημικές μεταβολές του μορίου του υποδοχέα αναδεικνύονται περισσότερες της μίας ενεργοί θέσεις. Πιστεύεται ότι καθεμία από αυτές τις ενεργούς θέσεις είναι και ένας από τους παράγοντες που προσδιορίζουν την εκλεκτικότητα προς μία συγκεκριμένη G- πρωτεΐνη (43).

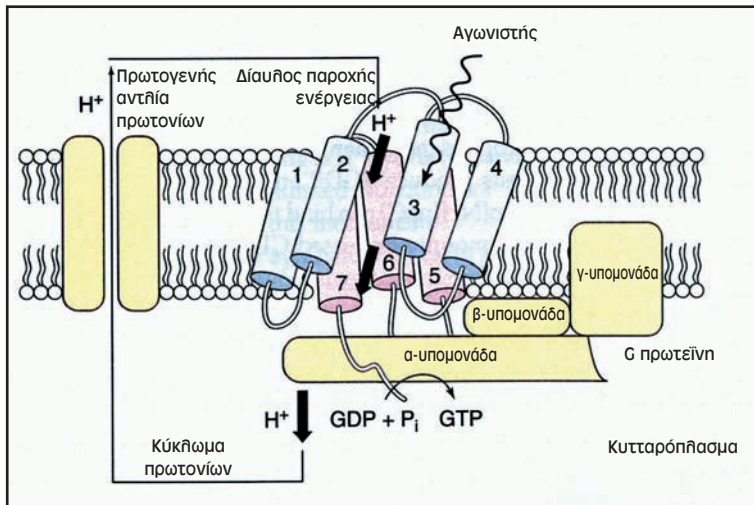
### **Ανακεφαλαιώνοντας επισημαίνονται τα ακόλουθα:**

Η αποτελεσματικότητα της σύνδεσης των υποδοχέων GPCR με την ετεροτριμερή G-πρωτεΐνη επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την πυκνότητα των πρωτεϊνών αυτών στην κυτταρική μεμβράνη. Ο προσδέτης είναι ο σταθεροποιητικός παράγοντας του συμπλόκου “προσδέτης-υποδοχέας GPCR-G πρωτεΐνη” που εκδιώκει την GDP από τη σύνδεσή της με την G-πρωτεΐνη. Η GTP αναγνωρίζει την κενή θέση που άφησε στο μόριο της G-πρωτεΐνης η απομάκρυνση της GDP. Το σχηματιζόμενο τετραπλό σύμπλοκο “προσδέτης-υποδοχέας GPCR-G πρωτεΐνη+GTP” είναι ιδιαίτερα ασταθές. Ως εκ τούτου, το επόμενο βήμα είναι η απόσπαση του συμπλόκου “G πρωτεΐνη+GTP” το οποίο με τη μορφή “α<sub>γ</sub>-υπομονάδα της G-πρωτεΐνης+GTP” θα διεγείρει τον ενεργοποιητή. Η, στη συνέχεια, απευαισθητοποίηση και ενδοκυττάρωση του υποδοχέα GPCR δίνει τη δυνατότητα στον προσδέτη να δημιουργήσει έναν νέο κύκλο σηματοδότησης που ξεκινά από τον ίδιο υποδοχέα, καθώς αυτός επιστρέφει στην κυτταρική μεμβράνη (44,45).

Ο ενεργοποιηθείς υποδοχέας GPCR διευκολύνει την ανταλλαγή της GDP προς GTP στην α-υπομονάδα της G-πρωτεΐνης, προάγει τις δομικές μεταβολές της υπομονάδας αυτής και διευκολύνει την απόσπαση της α-υπομονάδας της ενωμένης με την GTP από το σύμπλοκο βγ. Τόσο η α-υπομονάδα, η ενωμένη με την GTP, όσο και το σύμπλοκο βγ μπορούν να ρυθμίσουν πολλά ενεργοποιητικά μόρια. Η ένταση και η διάρκεια του παραγόμενου σήματος εξαρτώνται από τον ακριβή έλεγχο της ποσότητας της GTP που είναι συνδεδεμένη με την α-υπομονάδα της G-πρωτεΐνης. Η διάσπαση της GTP που είναι συνδεδεμένη με την α-υπομονάδα της G-πρωτεΐνης προς GDP γίνεται, όπως ήδη αναφέρθηκε, από την GTPάση, η οποία, με τη σειρά της, ενεργοποιείται από τις GAPs (GTPase-Activating Proteins: Πρωτεΐνες που ενεργοποιούν τις GTPάσες) μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και οι πρωτεΐνες RGS (Regulators of G-protein Signals: Ρυθμιστές των σημάτων της G-πρωτεΐνης) (46).

### **Τα ενζυμικά συστήματα**

Η κυτταρική μεμβράνη αποτελεί ένα ετερογενές σύμπλεγμα λιπιδίων και πρω-



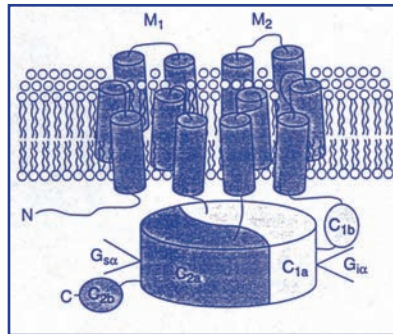
**Εικόνα 3.26: Προταθείς μηχανισμός επανασύνθεσης της GTP.** Το εξωστρεφές ρεύμα των πρωτονίων δημιουργείται από μία πρωτογενή αντλία. Η σύνδεση του αγωνιστή με τον υποδοχέα GPCR προκαλεί την εσωστρεφή ροή των πρωτονίων και τη σύνθεση της GTP από την GDP με την ενζυματική δράση της α1-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης με την παρεχόμενη ενέργεια από το ηλεκτροχημικό δυναμικό των H<sup>+</sup>.

*Trends Pharmacol. Sci.* 16,1995

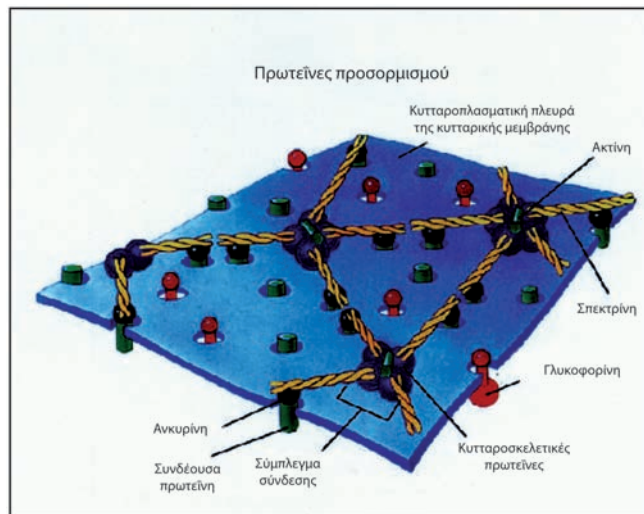
τεϊνών. Μέσα στο ετερογενές αυτό σύμπλεγμα απαντούν διακριτά μικροδιαμερίσματα με διαφορετική κάθε φορά, σύνθεση σε λιπίδια και πρωτεΐνες. Οι λιπιδικοί αυτοί χώροι (rafts) αποτελούν δυναμικές δομές με μεταβαλλόμενη σύνθεση, πλούσιες σε χοληστερόλη και σφιγγολιπίδια, και συνιστούν βασικά σημεία οργάνωσης και μετάδοσης σημάτων. Μια υποδιαίρεση αυτών αποτελούν οι θύλακες (caveolae) οι οποίοι χαρακτηρίζονται από το ότι παρουσιάζουν μια μορφολογία εγκόλπωσης η οποία οφείλεται στις διασταυρούμενες συνδέσεις της πρωτεΐνης καβεολίνης την οποία περιέχουν (47).

Τα ενζυμικά συστήματα στην κυτταρική μεμβράνη που δρουν ως ενεργοποιητές καθώς δέχονται το μήνυμα από την G-πρωτεΐνη είναι δύο. Το ένα είναι το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenyl Cyclase) το οποίο δέχεται και διεγερτικά και ανασταλτικά μηνύματα. Το άλλο είναι το σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C) το οποίο δέχεται μόνο διεγερτικά μηνύματα.

Η AC αποτελεί μέλος της υπεροικογένειας των ABC (ATP-binding cassette), δηλαδή των ενδογενών μορίων που συνδέονται με την ATP. Το μόριο της αδενυλοκυκλάσης αποτελείται από πέντε τομείς σε αλληλουχία, δηλαδή ένα αμινικό κυτταροπλασματικό N-πέρας (Nt: N-terminus), έναν διαμεμβρανικό (TM1: Transmembrane 1) τομέα που αποτελείται από έξι έλικες, έναν ευμεγέθη κυτταροπλασματικό τομέα με τη μορφή αγκύλης (C1 domain: C1 τομέας),



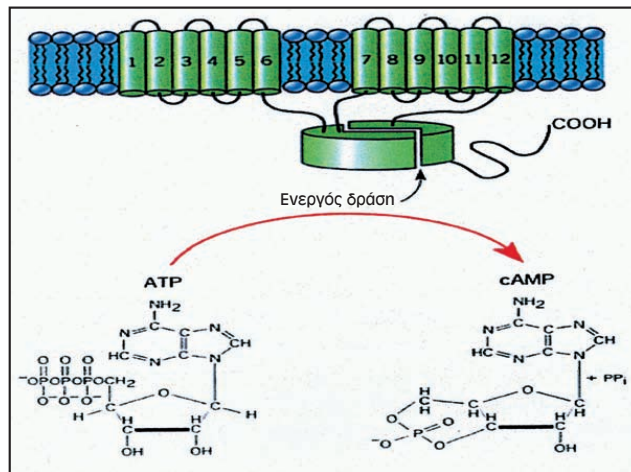
**Εικόνα 3.27:** Σχεδιάγραμμα το οποίο απεικονίζει τη μοριακή δομή της αδενυλοκυκλάσης. Το μόριο της αδενυλοκυκλάσης αποτελείται από πέντε τομείς σε αλληλουχία, δηλαδή ένα αμινικό κυτταροπλασματικό N-πέρας, έναν διαμεμβρανικό τομέα (M1) που αποτελείται από έξι έλικες, ένα ευμέγεθες κυτταροπλασματικό τμήμα (C1a), έναν δεύτερο διαμεμβρανικό τομέα (M2) που αποτελείται επίσης από έξι έλικες, ένα δεύτερο κυτταροπλασματικό τμήμα ομόλογο προς το πρώτο (C2a) και ένα καρβοξυλικό κυτταροπλασματικό C-πέρας. Απεικονίζονται επίσης οι θέσεις σύνδεσης με τις  $G_s$  και  $G_i$  -πρωτεΐνες. Ο πυρήνας του καταλυτικού τομέα ευρίσκεται στο βάθος μιας σχισμής στην επιφάνεια που είναι στραμμένη προς το κυτταρόπλασμα.  
*Trends Pharmacol. Sci 20,1999*



**Εικόνα 3.28:** Κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες και κυτταρική μεμβράνη. Οι κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες (scaffolding proteins) προάγουν, μεταξύ άλλων, τη συγκεκριμένη κάθε φορά διάταξη των κατιόντων ρευμάτων των μορίων ενεργοποιητών και την εξειδίκευση του βιοχημικού σήματος. Οι πρωτεΐνες αυτές αποτελούν μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών προσορμισμού (anchoring proteins).

*Google-Internet, 2006*





**Εικόνα 3.29: Ενζυματική δράση της αδενυλοκυκλάσης.** Η αδενυλοκυκλάση προάγει τη μετατροπή της ATP (Adenosine Triphosphate:Τριφωσφορική Αδενοσίνη) σε cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate:κυκλική Μονοφωσφορική Αδενοσίνη) η οποία ενεργοποιεί την PKA (Protein Kinase A:Πρωτεϊνική Κινάση Α) και μέσω των φωσφορυλιώσεων που αυτή πραγματοποιεί μεθοδεύεται η βιολογική απάντηση του κυττάρου.

Δ. Γιαννακίδης, Medline-Internet, 2005

έναν δεύτερο διαμεμβρανικό (TM2: Transmembrane 2) τομέα που αποτελείται επίσης από έξι έλικες και έναν δεύτερο κυτταροπλασματικό τομέα ομόλογο προς τον πρώτο (C2 domain: C2 τομέας), που καταλήγει σε ένα καρβοξυλικό κυτταροπλασματικό C-πέρας. Στο μόριο αυτό υπάρχουν, μεταξύ άλλων, οι θέσεις σύνδεσης με τις  $G_s$  και  $G_i$ -πρωτεΐνες και ο πυρήνας του καταλυτικού τομέα, ο οποίος ευρίσκεται στο βάθος μιας σχισμής στην επιφάνεια που είναι στραμμένη προς το κυτταρόπλασμα (47,48).

Η AC απαντά σε εννέα ισομορφές, συνδεδεμένες με την κυτταρική μεμβράνη. Οι ισομορφές της AC διατηρούν όλες σταθερά την ίδια δομή των τομέων C1 και C2, δηλαδή των τομέων που συνδέονται με την ATP, και η αλληλεπίδραση των οποίων δημιουργεί τον καταλυτικό πυρήνα του ενζύμου. Οι διαφορές στην αλληλουχία των αμινοξέων μεταξύ των ισομορφών της AC απαντούν εκτός του καταλυτικού πυρήνα και αυτό είναι λογικό για τη διαφοροποίηση και εκλεκτικότητα της κάθε ισομορφής (47).

Η AC οργανώνεται σε τρία επίπεδα προκειμένου να προαγάγει την ενζυμική υδρόλυση της ATP (Adenosine Triphosphate: τριφωσφορική αδενοσίνη) προς cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate:κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη). Τα επίπεδα αυτά περιλαμβάνουν την οργάνωση και τον ολιγομερισμό του μορίου της, την εγκατάστασή του σε ειδικούς λιπιδικούς χώρους (rafts: σχεδίες) και τη συμμετοχή της σε πολυπρωτεϊνικά σηματοδοτούντα σύμπλοκα. Αυτή η οργάνωση της AC σε συνδυασμό με τη δράση των εξειδικευμέ-



Εικόνα 3.30: Σχεδιάγραμμα το οποίο απεικονίζει τη μοριακή δομή της φωσφολιπάσης C. Το μόριο αυτό αφορά το *ratus norvegicus*.  
*Yahoo-Internet, 2005*

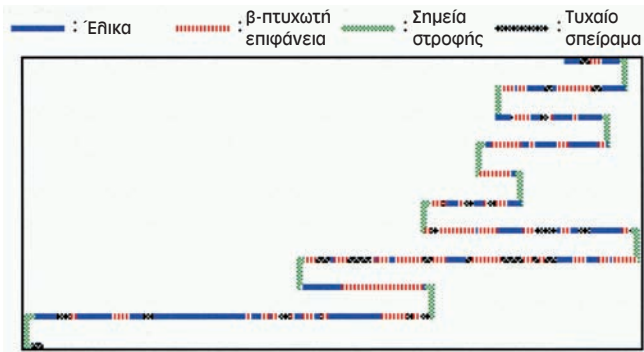
ων κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών (scaffolding proteins) έχει ως αποτέλεσμα τη συγκεκριμένη, κάθε φορά, διάταξη των κατιόντων ρευμάτων των μορίων ενεργοποιητών που διεγείρονται από την cAMP. Οι μηχανισμοί αυτοί επιτρέπουν τη σωστή αναγνώριση των σχηματιζόμενων μοριακών συμπλόκων και την κατά συνέπεια ακριβή μετάφραση της ενζυμικής δράσης της AC σε τοπικές κυτταρικές απαντήσεις (47).

Η δυνατότητα ενός υποδοχέα GPCR να ενεργοποιήσει την AC εξαρτάται από τη θέση του υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη. Οι β-αδρενεργικοί υποδοχείς στην καρδιά ευρίσκονται στους θύλακες (caveolae) στα καρδιομυοκύτταρα και διεγείρουν πιο έντονα το ένζυμο αυτό σε σχέση με άλλους υποδοχείς οι οποίοι ευρίσκονται εκτός των χώρων αυτών (47).

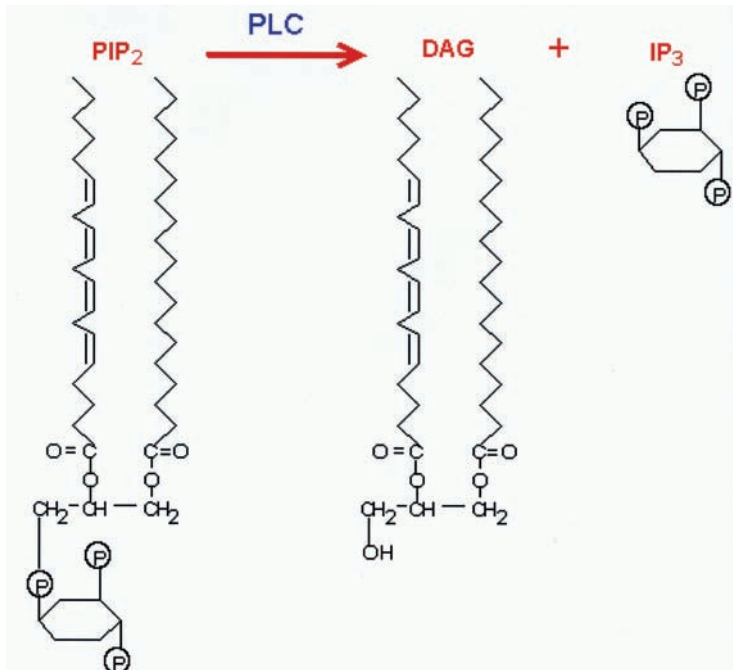
Οι ισομορφές της AC οι οποίες είναι ευαίσθητες στο  $Ca^{2+}$  ευρίσκονται σε γειτνίαση εντός των προαναφερθέντων λιπιδικών χώρων (rafts) με τους διαύλους CCE (Capacitive  $Ca^{2+}$  Entry) του  $Ca^{2+}$ , δηλαδή τους διαύλους του  $Ca^{2+}$  της κυτταρικής μεμβράνης που ανοίγουν με την απελευθέρωση  $Ca^{2+}$  εκ των ενδοκυττάρων αποθηκών. Οι ισομορφές αυτές της AC ρυθμίζονται αυστηρά μόνο από τους διαύλους CCE αυτούς και όχι από την αύξηση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  από άλλες πηγές.

Η PLC είναι μια υδρολάση η οποία έχει ως υπόστρωμα την 4,5 διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη  $PI(4,5)P_2$ . Παράλληλα, η  $PI(4,5)P_2$  είναι υπεύθυνη για πολλές άλλες ρυθμιστικές δράσεις, μεταξύ των οποίων είναι και η συγκέντρωση πολλαπλών σηματοδοτούντων συμπλόκων σε συγκεκριμένες θέσεις της κυτταρικής μεμβράνης (49).

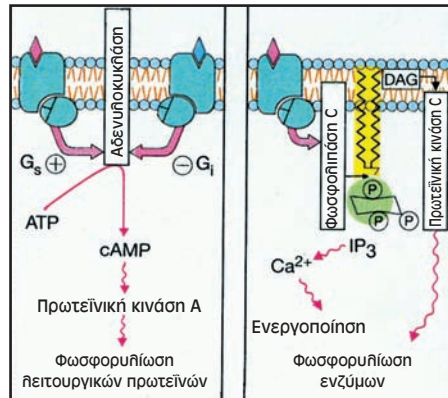
Το μόριο της PLC διατιτραίνει την κυτταρική μεμβράνη και παρουσιάζει



**Εικόνα 3.31: Δευτερογενής δομή του μορίου της φωσφολιπάσης C.** Προβλεπόμενη δομή της φωσφολιπάσης C του ανθρώπου με βάση την ανάλυση του DNA. α-έλικα (μπλε), β-πτυχωτή περιοχή (κόκκινο), σημεία συστροφής (πράσινο) και άτακτο σπείραμα (γκρί).  
Yahoo-Internet 2005



**Εικόνα 3.32: Ενζυματική δράση της φωσφολιπάσης C.** Η PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C) καταλύει τη μετατροπή της  $PIP_2$  (Inositol Biphosphate: Διφωσφορική φωσφατιδυλινωσιτόλη) προς  $IP_3$  (Inositol Triphosphate: Τριφωσφορική φωσφατιδυλοϊνωσιτόλη) και DAG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη).  
Biol. Chem., 1999



Εικόνα 3.33: Υποδοχείς που συνδέονται με την G-πρωτεΐνη και ενζυμικά συστήματα της αδενυλοκυκλάσης (AC) και της φωσφολιπάσης C (PLC). Ανάλογα με το είδος του υποδοχέα, το ενζυμικό σύστημα της AC μπορεί να διεγερθεί ή να αδρανοποιηθεί, ενώ το σύστημα της PLC μόνο διεγείρεται. (βλέπε κείμενο).

Lullman H. et al.:*Color Atlas of Pharmacology*, 1993

εξωκυττάριο, διαμεμβρανικό και ενδοκυττάριο τμήμα. Το μόριο αυτό απαντά σε πολλές ισομορφές. Η ανθρώπινη PLC αποτελείται από 982 υπόλοιπα αμινοξέων και οι περιοχές μεταξύ 450-970 χαρακτηρίζονται από αυξημένη υδροφιλία. Είναι γνωστό ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός υδροφιλίας τόσο μεγαλύτερος είναι και ο βαθμός έκθεσης τμημάτων του μορίου προς τα εκτός και προς τα εντός της κυτταρικής μεμβράνης, γεγονός που διευκολύνει τις συνδέσεις. Η προβλεπόμενη δομή του μορίου της PLC εικάζει έναν μεγάλο βαθμό συστροφής του πρωτεϊνικού μορίου και μια εκτεταμένη περιοχή α-έλικας προς το πέρας της πρωτεΐνης. Από την ανάλυση του DNA της PLC του ανθρώπου και το σχεδιασμό της δευτερογενούς δομής του μορίου καταγράφονται μια α-έλικα, μια β-πτυχωτή επιφάνεια, τα σημεία συστροφής και ένα άτακτο σπείραμα. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία μιας καταλυτικής τριάδας που αποτελείται από τα υπόλοιπα των αμινοξέων αργινίνη (Arg), ασπαρτικό οξύ (Asp) και ιστιδίνη (His). Η τριάδα αυτή συμμετέχει τόσο στη φωσφορική πρωτονίωση όσο και στην ηλεκτροφιλική σχέση με την αποχωρούσα ομάδα του καταλυόμενου υποστρώματος (50).

### Ενδοκυττάριοι βιοχημικοί δρόμοι

Οι υποδοχείς GPCR παρουσιάζουν μια ποικιλία συνδέσεων με ανάλογη διαφοροποίηση των βιοχημικών δρόμων που αναπτύσσονται (6,19,27-33,39,40,41,51-54).

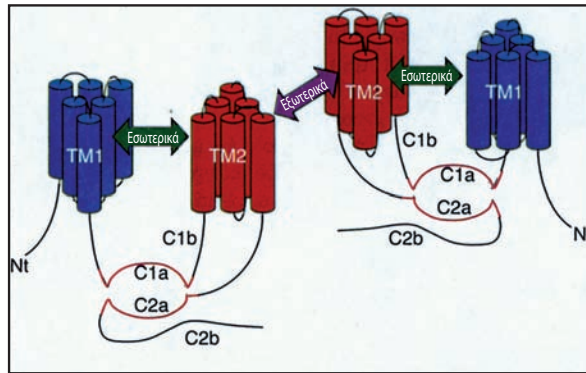
- α. Ένας μεγάλος αριθμός υποδοχέων της κατηγορίας αυτής διεγείρει το σύ-

στημα της AC μέσω της  $G_s$ -πρωτεΐνης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση της ATP προς την cAMP η οποία περνά ως δεύτερος αγγελιαφόρος στο κυτταρόπλασμα. Η cAMP ενεργοποιεί μια σειρά από κινάσες που εξαρτώνται από αυτήν, μεταξύ των οποίων και η πρωτεϊνική κινάση A (PKA), και μέσω της φωσφορυλίωσης που προκαλούν οι τελευταίες σε πρωτεϊνικά υποστρώματα μεσολαβεί σε διάφορες λειτουργίες. Μία από τις ενέργειες της cAMP είναι η ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  μέσα από διάφορους μηχανισμούς που θα αναφερθούν σε άλλα κεφάλαια. Μέρος της cAMP αδρανοποιείται από ένα ένζυμο που ανήκει στην τάξη των φωσφοδιεστερασών (PE: Phosphodiesterase), ενώ ένα άλλο μέρος του κυκλικού αυτού νουκλεοτιδίου εξέρχεται του κυττάρου.

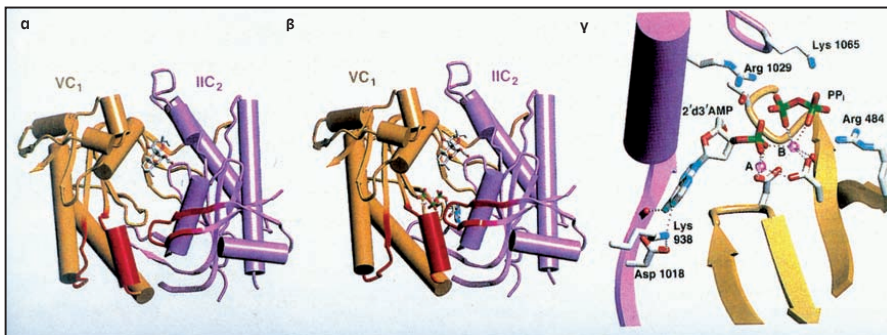
Η AC αποτελεί το κεντρικό μόριο το οποίο προάγει τη διαμερισματοποίηση του σήματος που εκπορεύεται από την cAMP (compartmentalization of cAMP signaling). Με τον όρο αυτό εννοούμε το γεγονός ότι μεταβολές των επιπέδων της cAMP σε διακριτές περιοχές του κυττάρου συνεπάγονται και εξειδικευμένες σηματοδοτήσεις. Πιστεύεται ότι ισομορφές της AC οι οποίες είναι ευαίσθητες στο  $Ca^{2+}$  καταλαμβάνουν ειδικές θέσεις σε σύμπλοκα τα οποία, εκτός των ενζύμων αυτών, περιέχουν επίσης διαύλους του  $Ca^{2+}$  καθώς και ρυθμιστές και ενεργοποιητές των υποδοχέων GPCR. Μέσω αυτών των διατάξεων, οι ACs είναι πλέον σε θέση να ρυθμίζουν την εξειδικευμένη διαμερισματοποίηση του σήματος της cAMP. Δεν είναι, επίσης, γνωστοί οι μηχανισμοί οι οποίοι περιορίζουν τη διάχυση της cAMP, ώστε η τελευταία να συγκεντρώνεται αυξημένη στις ενδεικνυόμενες περιοχές. Οι θέσεις των διαύλων των ιόντων, που εξαρτώνται από τα κυκλικά νουκλεοτίδια, σε σχέση με τους ειδικούς αυτούς λιπιδικούς χώρους (rafts) φαίνεται ότι παίζει ρόλο (47).

Η αδενυλοκυκλάση ναι μεν ενεργοποιείται ή αδρανοποιείται άμεσα μέσω των G-πρωτεϊνών, μπορεί όμως να ενεργοποιηθεί και έμμεσα από μεταβολές της ιοντικής ισορροπίας μέσα στο κυτταρόπλασμα ή από την ενεργοποίηση κινασών την οποία προκαλούν ενδογενείς αγωνιστές και φάρμακα.

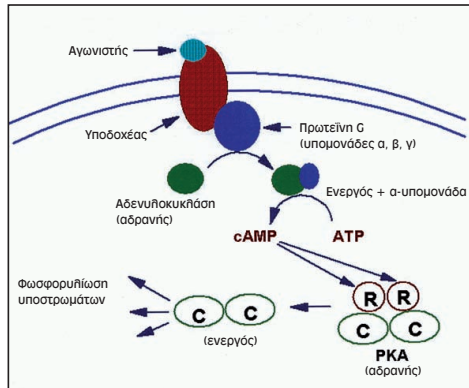
Η PKA εμφανίζεται ως διμερές και παρουσιάζει στο μόριο της δύο καταλυτικές υπομονάδες ή C-υπομονάδες (C:Catalytic:Καταλυτική), καθεμία από τις οποίες συνδέεται κατά αντίστροφο τρόπο με τη ρυθμιστική υπομονάδα ή R-υπομονάδα (R: Regulatory: Ρυθμιστική) του διμερούς. Οι R-υπομονάδες εμφανίζονται με δύο ισομορφές, την RI και την RII, ενώ οι C-υπομονάδες υπάρχουν με τις ισομορφές  $C\alpha$ ,  $C\beta$  και  $C\gamma$ . Οι R-υπομονάδες εμφανίζουν διαφοροποίηση ως προς τη συγγένεια σύνδεσης με την cAMP και το γεγονός αυτό δίνει τη δυνατότητα στο ολοένζυμο της PKA να αποκτά κάθε φορά διαφορετικό ουδό ενεργεοποίησης. Η PKA ως ολοένζυμο είναι αδρανής. Με τη σύνδεση τεσσάρων μορίων της cAMP με το μόριο του ολοενζύμου, δύο για κάθε υπομονάδα R, διασπάται το ολοένζυμο και απελευθερώνονται οι δύο καταλυτικά ενεργοί



**Εικόνα 3.34: Διμερισμός της αδενυλοκυκλάσης.** Ο διμερισμός είναι αποτέλεσμα της εσωτερικής αλληλεπίδρασης των τομέων TM1 και TM2 αντίστοιχα ή της εξωτερικής αλληλεπίδρασης των διασθενών TM2 τομέων. Το μόριο της αδενυλοκυκλάσης αποτελείται από πέντε τομείς σε αλληλουχία, δηλαδή ένα αμινικό κυτταροπλασματικό N-πέρας (Nt: N-terminus), έναν διαμεμβρανικό (TM1: Transmembrane 1) τομέα που αποτελείται από έξι έλικες, έναν ευμεγέθη κυτταροπλασματικό τομέα με τη μορφή αγκύλης (C1 domain: C1 τομέας), έναν δεύτερο διαμεμβρανικό (TM2: Transmembrane 2) τομέα που αποτελείται επίσης από έξι έλικες, και ένα δεύτερο κυτταροπλασματικό τομέα ομόλογο προς τον πρώτο (C2 domain: C2 τομέας) που καταλήγει σε ένα καρβοξυλικό κυτταροπλασματικό C-πέρας. Η αλληλεπίδραση των τομέων C1a και C2a και δημιουργεί τον καταλυτικό πυρήνα του ενζύμου. Το παράδειγμα αφορά την ισομορφή AC8 (AC: Adenylyl cyclase). *Trends Pharmacol. Sci* 27,2006

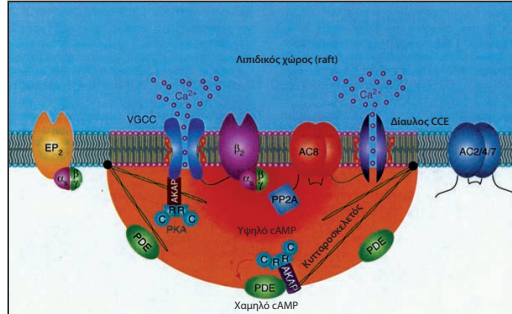


**Εικόνα 3.35: Μοριακή δομή του καταλυτικού πυρήνα της αδενυλοκυκλάσης.** Κρυσταλλογραφική δομή με όψη από την πλευρά του κυτταροπλάσματος. Το κυτταροπλασματικό τμήμα (C1a) απεικονίζεται μπλε και το κυτταροπλασματικό τμήμα (C2a) απεικονίζεται μωβ. Η περιοχή του καταλυτικού πυρήνα του μορίου απεικονίζεται σε φάση ανοικτή (α) και σε φάση κλειστή (β), καθώς το ένζυμο ενεργοποιείται και απενεργοποιείται. (γ) Σχηματική απεικόνιση της ενεργού περιοχής. Το υπόστρωμα ευρίσκει πρόσβαση στην κοιλιακή σχισμή του καταλυτικού πυρήνα. *Trends Pharmacol. Sci* 20,1999



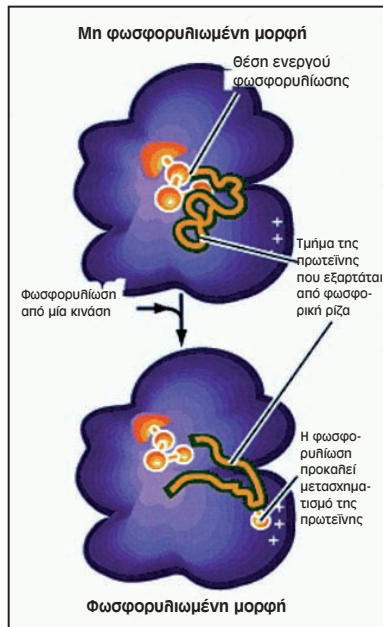
**Εικόνα 3.36: Ενεργοποίηση της PKA και φωσφορυλιώσεις υποστρωμάτων.** Οι υποδοχείς GPCRs (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη) που διεγείρουν το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylcyclase) μέσω της G<sub>s</sub>-πρωτεΐνης (α,β,γ υπομονάδες) προάγουν την υδρόλυση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP:Adenosine Triphosphate) προς την κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP:cyclic Adenosine Monophosphate) που περνά ως δεύτερος αγγελιαφόρος στο κυτταρόπλασμα. Η cAMP ενεργοποιεί μια σειρά από κινάσες που εξαρτώνται από αυτήν μεταξύ των οποίων και η πρωτεϊνική κινάση A (PKA:Protein Kinase A), και μέσω της φωσφορυλίωσης που προκαλούν οι τελευταίες σε πρωτεϊνικά υποστρώματα μεθοδεύει διάφορες κυτταρικές λειτουργίες.

*M. King, Google-Internet, 1996*



**Εικόνα 3.37: Οι ACs οι οποίες είναι ευαίσθητες στο Ca<sup>2+</sup> συμμετέχουν σε πολυπρωτεϊνικά σηματοδοτικά μόρια.** Οι ισομορφές της AC (Adenylcyclase:Αδενυλοκυκλάση) οι οποίες είναι ευαίσθητες στο Ca<sup>2+</sup> ευρίσκονται εντός λιπιδικών χώρων (rafts) στην κυτταρική μεμβράνη σε γειτνίαση με τους διαύλους CCE (Capacitive Ca<sup>2+</sup> Entry) του Ca<sup>2+</sup>, δηλαδή τους διαύλους του Ca<sup>2+</sup> της κυτταρικής μεμβράνης που ανοίγουν με την κένωση των ενδοκυττάρων αποθηκών του Ca<sup>2+</sup>, εικάζεται δε ότι αποτελούν τμήμα του πρωτεϊνικού αυτού σχηματισμού. Η εγκατάσταση των Acs γίνεται με τη δράση ειδικών πρωτεϊνών που ενώνονται με το κυτταροπλασματικό τμήμα των Acs και τις κατευθύνουν προς τους λιπιδικούς αυτούς χώρους. Οι β<sub>2</sub>-αδρενεργικοί υποδοχείς που ευρίσκονται στους λιπιδικούς αυτούς χώρους συνδέονται πιο αποτελεσματικά με την AC απ’ ό,τι οι EP<sub>2</sub>-προστανοειδείς υποδοχείς που ευρίσκονται εκτός των χώρων αυτών. Σηματοδοτικές πρωτεΐνες όπως οι AKAPs (A-Kinase-Anchoring Proteins: Πρωτεΐνες προσορμισμού της A-κινάσης), η PKA (Protein Kinase A: Πρωτεϊνική κινάση A) και οι προσορμισμένες PDEs (Phosphodiesterases: Φωσφοδιεστεράσες) σε συνεργασία με την AC παρέχουν μικροχώρους για την cAMP που διαφοροποιούνται από το υπόλοιπο κυτταρόπλασμα, με αποτέλεσμα να προάγονται τοπικές ρυθμιστικές απαντήσεις. Το παράδειγμα αφορά την ισομορφή AC8 (AC: Adenylcyclase).

*Trends Pharmacol. Sci 27,2006*



**Εικόνα 3.38:** Φωσφορυλιωμένη και μη φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη. Η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης οδηγεί σε στερεοχημική αναδιάταξη του μορίου της και ανάλογα με τη θέση της φωσφορυλίωσης την ενεργοποιεί ή την απενεργοποιεί.

*Google-Internet, 2005*

C-υπομονάδες της κινάσης PKA οι οποίες φωσφορυλιώνουν υπόλοιπα σερίνης και θρεονίνης σε ειδικές πρωτεΐνες που χρησιμεύουν ως υποστρώματα. Επιπλέον της διαφορετικής έκφρασης των R και C ισομορφών στα διάφορα κύτταρα και ιστούς, η λειτουργική δράση της PKA ρυθμίζεται ανάλογα με τη θέση της στην περιοχή κάτω από τη μεμβράνη η οποία καθορίζεται από τις πρωτεΐνες προσορισμού AKAPs (A-Kinase-Anchoring Proteins). Οι πρωτεΐνες αυτές προάγουν και τη σύνδεση της PKA με τα μόρια των οποίων προάγει τη φωσφορυλίωση (47,48,53).

Με την  $G_s$ - πρωτεΐνη που διεγείρει το σύστημα της AC είναι συνδεδεμένοι οι εξής υποδοχείς:

Ο  $A_2$  της αδενοσίνης, οι  $\beta_1$  και  $\beta_2$  - αδρενεργικοί, οι  $D_1$  και  $D_5$  της δοπαμίνης, οι  $VIP_1$  και  $VIP_2$  του αγγειοκινητικού εντερικού πεπτιδίου και ο  $V_2$  της βασοπρεσίνης.

β. Ένας επίσης μεγάλος αριθμός υποδοχέων GPCR συνδέεται με την πρωτεΐνη  $G_{q/11}$  η οποία μεταφέρει τη διέγερση στο σύστημα της PLC. Στην κυτταρική μεμβράνη διεξάγεται ένας κυκλικός μετασχηματισμός των φωσφολιπιδίων. Η PLC δρα καταλυτικά κατά τη φάση σχηματισμού της  $PI(4,5)P_2$ . Η βιοχημική αυτή αντίδραση οδηγεί στο σχηματισμό της (1,4,5) τριφωσφορικής φωσφατι-



δυλοϊνοσιτόλης [(1,4,5)IP<sub>3</sub>: (1,4,5) Inositol Triphosphate] και της διακυλογλυκερόλης (DAG:Diacylglycerol). Η μεν (1,4,5)IP<sub>3</sub> περνά στο κυτταρόπλασμα όπου διεγείρει τους υποδοχείς της στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και απελευθερώνει Ca<sup>2+</sup>, η δε DAG κινείται στην κυτταρική μεμβράνη και διεγείρει την πρωτεϊνική κινάση C (PKC:Protein Kinase C). Η αύξηση του Ca<sup>2+</sup> διεγείρει το κύτταρο, ενώ η PKC φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη μετάδοση του σήματος. Όσον αφορά τους μηχανισμούς σύσπασης των λείων μυϊκών ινών των αγγείων, η αύξηση του Ca<sup>2+</sup> προάγει τη σύσπαση, ενώ οι φωσφορυλιώσεις από την PKC έχουν ανασταλτικό και προφανώς εξισοροπιστικό χαρακτήρα.

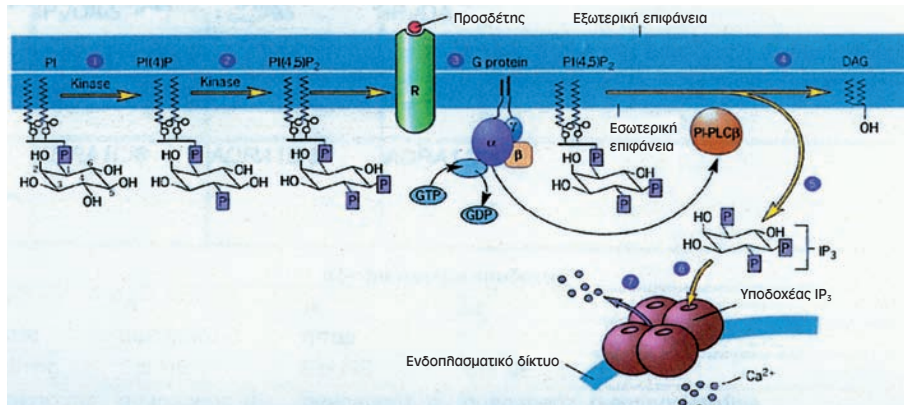
Η DAG αποτελεί έναν λιπιδικό δεύτερο αγγελιαφόρο που σχηματίζεται στιγμιαία από την ενεργοποίηση της τυροσινικής κινάσης και των υποδοχών GPCRs και στη συνέχεια συνδέεται με τον τομέα C1 της cPKA (classic PKC) και της nPKC (novel PKC), προάγοντας πολυάριθμες κυτταρικές λειτουργίες, όπως είναι η επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση των κυττάρων. Το ίδιο πράττουν και οι εστέρες της φορβόλης που είναι φυσικά προϊόντα και οι οποίοι συνδέονται επίσης με τον τομέα C1 των ισοενζύμων της PKA. Παράλληλα, η DAG και οι εστέρες της φορβόλης πυροδοτούν ενδοκυττάρια σήματα που είναι ανεξάρτητα της PKA διεγείροντας το λιγότερο έξι διαφορετικούς ενδοκυττάριους υποδοχείς (55).

Με την G<sub>q/11</sub> - πρωτεΐνη που διεγείρει το σύστημα της PLC είναι συνδεδεμένοι οι εξής υποδοχείς:

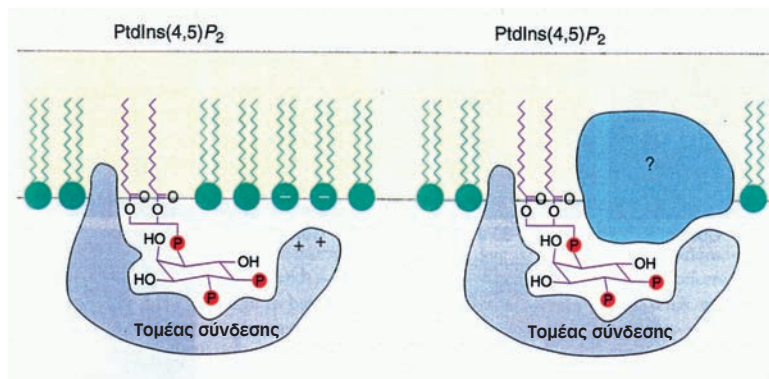
Οι μουσκαρινικοί M<sub>1</sub>, M<sub>3</sub> και M<sub>5</sub> της ακετυλοχολίνης, οι α<sub>1</sub> - αδρενεργικοί, ο AT<sub>1</sub> της αγγειοτασίνης II, οι B<sub>1</sub> και B<sub>2</sub> της βραδυκινίνης, οι ET<sub>A</sub> και ET<sub>B</sub> των ενδοθηλινών, οι H<sub>1</sub> και H<sub>2</sub> της ισταμίνης, οι 5-HT<sub>2</sub> και 5-HT<sub>4</sub> της 5-υδροξυτρυπταμίνης, οι P<sub>2V</sub> και P<sub>2Y</sub> πουρινεργικοί και ο V<sub>A</sub> της βασοπρεσίνης.

γ. Στην περίπτωση της G<sub>i/o</sub> πρωτεΐνης και των υποδοχών που σχετίζονται με την αδρανοποίηση της AC, πιστεύεται ότι στη φάση ηρεμίας υπάρχει ένα σταθερό σύμπλοκο "υποδοχέας- G<sub>i</sub> πρωτεΐνη" που δεν ανταγωνίζεται η GTP. Με το σχηματισμό, όμως, του νέου συμπλόκου "αγωνιστής-υποδοχέας-G<sub>i</sub> πρωτεΐνη", το σύστημα αποκτά μεγάλη συγγένεια με τη GTP που έρχεται και ενώνεται με την α<sub>1</sub> υπομονάδα της G<sub>i</sub> πρωτεΐνης. Το νέο σύμπλοκο "α<sub>1</sub> υπομονάδα+GTP" αποδεσμεύεται και έρχεται για να μεταδώσει το αρνητικό σήμα στην AC. Δεν είναι γνωστός ο μηχανισμός με τον οποίο γίνεται αυτό. Πιστεύεται ότι οι ομάδες β και γ της G<sub>i</sub> πρωτεΐνης ενώνονται με τη α<sub>s</sub> της G<sub>i</sub> πρωτεΐνης τη φορά αυτή και ελαττώνουν τη διέγερση της τελευταίας στο σύστημα της AC. Υπάρχουν όμως και άλλες εξηγήσεις που αναφέρονται σε άλλα κεφάλαια. Με την αδρανοποίηση της AC δίδεται η ευκαιρία να υπερισχύσει το σύστημα της PLC και να επικρατήσουν διεγερτικά φαινόμενα στο κύτταρο.

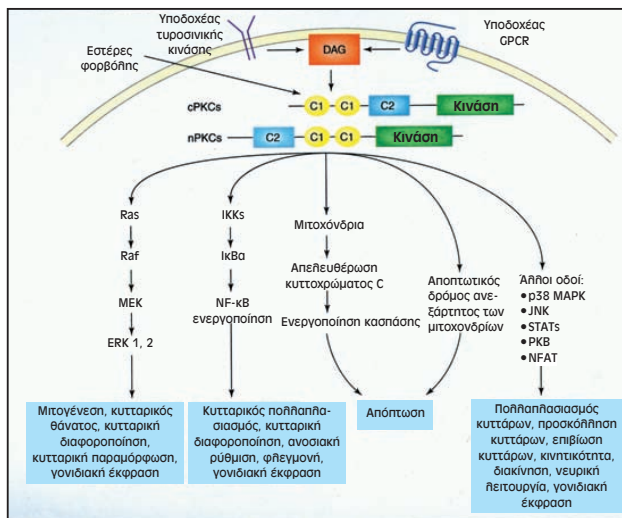
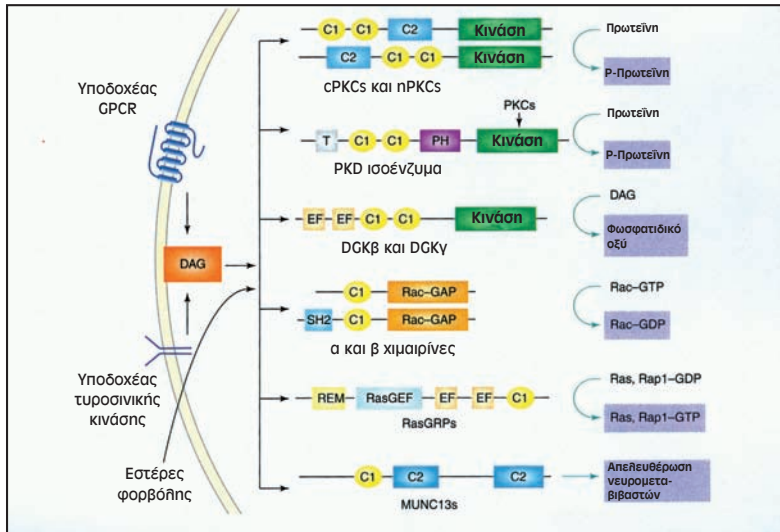
Με την G<sub>i/o</sub> πρωτεΐνη που αδρανοποιεί το σύστημα της AC είναι συνδεδεμένοι οι εξής υποδοχείς:



**Εικόνα 3.39: Βιοχημική οδός η οποία πυροδοτείται από τη διέγερση των υποδοχών που συνδέονται με το ενζυμικό σύστημα της PLC.:** Οι υποδοχείς αυτοί συνδέονται με την πρωτεΐνη  $G_{q/11}$  η οποία μεταφέρει τη διέγερση στο σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C). Στην κυτταρική μεμβράνη διεξάγεται ένας κυκλικός μετασχηματισμός των φωσφολιπιδίων. Η PLC δρα καταλυτικά κατά τη φάση σχηματισμού της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης  $PI(4,5)P_2$ . Η βιοχημική αυτή αντίδραση οδηγεί στο σχηματισμό της τριφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης ( $IP_3$ ) και της διακυλογλυκερόλης (DAG). Η  $IP_3$  περνά στο κυτταρόπλασμα και διεγείρει τους υποδοχείς της στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και απελευθερώνει  $Ca^{2+}$  ενώ η διακυλογλυκερόλη κινείται στην κυτταρική μεμβράνη και διεγείρει την πρωτεϊνική κινάση C (PKC). Η αύξηση του  $Ca^{2+}$  διεγείρει το κύτταρο, η δε PKC φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες που συμμετέχουν στους μηχανισμούς μετάδοσης του σήματος.  
 Δ. Γιαννακίδης- Internet, 2005

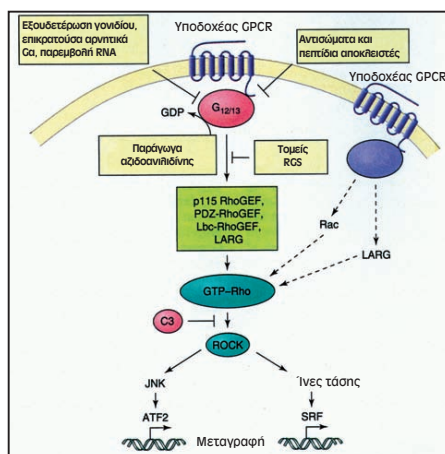


**Εικόνα 3.40: Ρυθμιστικοί ρόλοι της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης.** Η  $PI(1,4,5)P_2$  (4,5 Phosphatidylinositol Biphosphate: 4,5 διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη) εκτός του ότι είναι το υπόστρωμα της φωσφολιπάσης C, είναι υπεύθυνη για πολλές άλλες ρυθμιστικές δράσεις, μεταξύ των οποίων η συγκέντρωση πολλαπλών σηματοδοτικών συμπλόκων σε συγκεκριμένες θέσεις της κυτταρικής μεμβράνης. (αριστερά) Απεικονίζεται η περιοχή της  $PI(1,4,5)P_2$  που συνδέεται με σύμπλοκα όπως τα προαναφερθέντα. (δεξιά) Πιθανές δευτερεύουσες αλληλεπιδράσεις με μεμβρανικές πρωτεΐνες περιορίζουν τη δράση αυτή.  
 Trends Pharmacol. Sci 21,2000



**Εικόνα 3.41: Ρύθμιση σηματοδοτικών οδών από τη DAG.** Άνω. Η DAG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη) η οποία αποτελεί ένα λιπιδικό δευτερο αγγελιαφόρο που σχηματίζεται στιγμιαία από την ενεργοποίηση της τυροσινικής κινάσης και των υποδοχέων GPCRs και οι εστέρες της φορβόλης που είναι φυσικά προϊόντα συνδέονται με τον τομέα C1 τόσο των cPKC (classic PKC) όσο και των nPKC (nonclass PKC) των πρωτεϊνικών κινασών C (PKC) προάγοντας πολυάριθμες κυτταρικές λειτουργίες μεταξύ των οποίων είναι η επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση των κυττάρων. Κάτω. Βιοχημικές ενδοκυττάρειες οδοί που πυροδοτούνται από τη DAG και τους εστέρες της φορβόλης και οι οποίες είναι άλλες μεν εξαρτώμενες άλλες δε ανεξάρτητες της PKC.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24, 2003

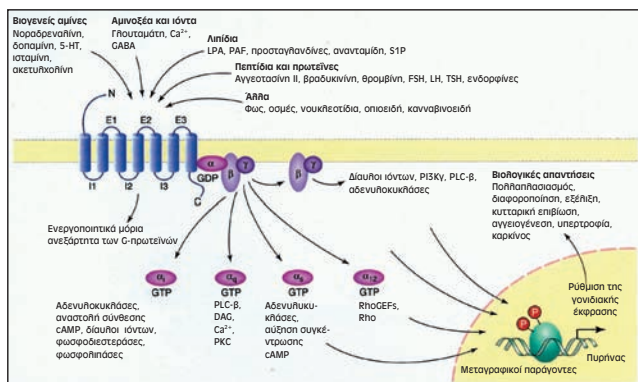


**Εικόνα 3.42:** Προτεινόμενο μοντέλλο ενδοκυττάρου σήματος που πυροδοτείται από τους υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνες και οι οποίες ανήκουν στην οικογένεια των  $G_{12/13}$ -πρωτεϊνών. Στην οικογένεια των  $G_{12}$ -πρωτεϊνών ανήκουν οι  $G_{12}$  και  $G_{13}$ -πρωτεΐνες. Η κινητοποίηση της οδού αυτής ενεργοποιεί διάφορους παράγοντες ανταλλαγής γουανινονουκλεοτιδίων που συνδέονται με Rho πρωτεΐνες (RhoGEFs: Rho Guanine Nucleotide Exchange Factors). Καταγράφονται οι πειραματικά επιτευχθείσες κατασταλτικές δράσεις στη βιοχημική οδό που οι  $G_{12}$ -πρωτεΐνες κινητοποιούν. Κινάσες που εξαρτώνται από τις Rho πρωτεΐνες (ROCK: Rho-dependent Kinase) διεγείρουν τις κινάσες JNK (c-Jun N-terminal Kinase) και το σχηματισμό των ινών τάσης (Stress fibers) και μέσω των μηχανισμών αυτών διεγείρουν τους μεταγραφικούς παράγοντες ATF2 (Activating Transcription Factor 2) και SRF (Serum Response Factor). Όπου LARG (Leukemia Associate RhoGEF), RGS (Regulators of G-Protein Signaling), Rac (small GTP binding proteins Rac).

*Trends Pharmacol. Sci.* 26, 2005

Οι μουσκαρινικοί  $M_2$  και  $M_4$ , οι  $A_1$  και  $A_3$  της αδενοσίνης, ο  $\alpha_2$ -αδρενεργικός, ο  $CB_1$  των κανναβινοειδών, οι  $CCCK_1$ ,  $CCK_2$ ,  $CCK_3$  των χημειοκινών, οι  $D_2$ ,  $D_3$ ,  $D_4$  της δοπαμίνης, οι μεταβοτροπικοί των διεγερτικών αμινοξέων  $mGlu_6$ ,  $mGlu_7$ ,  $mGlu_8$  και ο  $GABA_B$  του  $\gamma$ -αμινοβουτυρικού οξέος. Επίσης στην ίδια κατηγορία ανήκουν οι  $5-HT_{1A}$ ,  $5-HT_{1B}$ ,  $5-HT_{1D}$  της 5-υδροξυτρυπταμίνης, οι  $\gamma_1$  και  $\gamma_2$  του νευροπεπτιδίου  $\gamma$ , οι  $\mu$ ,  $\delta$  και  $\kappa$  οπιοειδείς και ο  $P_{2T}$  πουρινεργικός υποδοχέας.

δ. Στην περίπτωση των υποδοχέων GPCR που συνδέονται με μέλη της οικογένειας των  $G_{12/13}$  πρωτεϊνών, εκείνο το οποίο είναι γνωστό είναι ότι οι βιοχημικοί δρόμοι τους οποίους κινητοποιούν συνδέονται με τις μικρού Μ.Β. μονομερείς πρωτεΐνες Rho, και ότι σχετίζονται με τη επιτέλεση λειτουργιών όπως η σύνθεση του DNA, ο πολλαπλασιασμός και η κακοήθης εξαλλαγή των κυττάρων, οι μεταβολές του σχήματος κυττάρων που καταλήγουν σε σχηματισμό των ινών τάσεως και των τοπικών προσκολλήσεων καθώς και αρνητικές και θετικές ενέργειες στην αντλία  $Na^+/H^+$ . Υπάρχουν πολλές διχογνωμίες τόσο για τη φύση των αγωνιστών όσο και για εκείνη των ενεργοποιητών που έχουν σχέση με το είδος αυτό της διέγερσης. Ιδιαίτερα για το αγγειακό τοίχωμα, οι πρωτεΐνες Rho



**Εικόνα 3.43: Ποικιλία υποδοχών που συνδέονται με G-πρωτεΐνη.** Μια μεγάλη ποικιλία προσδετών που περιλαμβάνει βιολογικές αμίνες, αμινοξέα, λιπίδια, πεπτιδία και πρωτεΐνες, ενεργοποιούν τους υποδοχείς αυτούς ώστε να διεγερθούν κυτταροπλασματικοί και πυρηνικοί στόχοι μέσω βιοχημικών οδών που εξαρτώνται ή είναι ανεξάρτητες από τις ετεροτριμερείς G-πρωτεΐνες (α-υπομονάδα+σύμπλοκο βγ). Οι βιοχημικοί αυτοί δρόμοι ρυθμίζουν βασικές βιολογικές λειτουργίες όπως είναι η κυτταρική διαίρεση, η κυτταρική επιβίωση και η αγγειογένεση. DAG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη), FSH (Follicle Stimulating Hormone: Ωοθυλακιοτρόπος Ορμόνη), GEF (Guanine Nucleotide Exchange Factor: Παράγοντας Ανταλλαγής του Γουανινονουκλεοτιδίου), LH (Leuteinizing Hormone: Ωχρινότροπος Ορμόνη), LPA (Lisosphosphatidic Acid: Λισοφωσφατιδικό Οξύ), PAF (Platelet Activating Factor: Παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων), P13K (Phosphoinositide 3-kinase: Φωσφοϊνοσιτιδική-3-Κινάση), PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική Κινάση C), PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C), S1P (Sphingosine-1-phosphatase: Σφιγγοσινική-1-Φωσφατάση), TSH (Thyroid-Stimulating Hormone: Θυρεοτρόπος Ορμόνη), cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική Μονοφωσφορική Αδεοσίνη), Rho (Rho κινάση). *Trends Pharmacol. Sci.* 22,2001

μεθοδεύουν την ευαισθητοποίηση στο ασβέστιο για την οποία θα γίνει εκτενής περιγραφή σε άλλο κεφάλαιο (35).

Στην περίπτωση των φαρμάκων αποκλειστών ενός υποδοχέα, το σύμπλοκο “αποκλειστής- υποδοχέας-G πρωτεΐνη” δεν υφίσταται κανέναν ανταγωνισμό από την GTP και το σύμπλοκο παραμένει ως έχει, και, φυσικά, κανένα σήμα δεν μεταδίδεται. Στην περίπτωση των φαρμάκων που καταλαμβάνουν τον υποδοχέα και τον ακινητοποιούν σε ανενεργό μορφή, τα φάρμακα αυτά δρουν ως αντίστροφοι αγωνιστές. Στην κλινική πράξη, η δράση τους είναι δράση αποκλειστή (17,18).

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, πολλοί διάλυτοι ιόντων αποτελούν, επίσης, μέρος της οικογένειας των μορίων που ρυθμίζονται από τις G-πρωτεΐνες. Ήταν από παλαιότερα γνωστό ότι ορισμένοι από τους διαύλους αυτούς ήταν υπό τον έλεγχο υποδοχών συνδεδεμένων με G-πρωτεΐνες με μηχανισμό που δεν είχε σχέση με τη μεσολάβηση δεύτερων αγγελιαφόρων. Ο μηχανισμός αυτός οριοθετείται στην κυτταρική μεμβράνη και είναι ανεξάρτητος από κάθε μορφή φωσφορυλίωσης ή από αλλαγές στο κυτταρόπλασμα των επιπέδων των δεύτερων αγγελιαφόρων cAMP, Ca<sup>2+</sup> και IP<sub>3</sub>. Φαίνεται ότι υπάρχει απευθείας αντίδρα-

ση μεταξύ της πρωτεΐνης του διαύλου και της α-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης, ενώ, κατ' άλλους, το σύμπλοκο βγ της πρωτεΐνης αυτής έχει το ρόλο του μεταβιαστή (40,56).)

Νεότερες αναφορές ομιλούν για τη δυνατότητα κινητοποίησης βιοχημικών οδών από τις G-πρωτεΐνες χωρίς τη μεσολάβηση των υποδοχέων-GPCR. Η ενέργεια αυτή πραγματοποιείται μέσω των πρωτεϊνών AGS, στις οποίες έχει ήδη γίνει αναφορά, που κινητοποιούν υπομονάδες της G-πρωτεΐνης. Μέχρι σήμερα έχουν εντοπισθεί τρεις ομάδες πρωτεϊνών AGS. Οι ενέργειες που μεθοδεύονται από τις ενεργοποιήσεις αυτές αφορούν την κυτταρική διαίρεση, διαφοροποίηση και δομή των οργανυλίων. Θεωρείται πιθανόν ότι οι πρωτεΐνες AGS διεγείρουν ακόμη και βιοχημικές οδούς ανεξάρτητες από τις G-πρωτεΐνες (57).

### **Μηχανισμοί παρατεταμένης ενέργειας των αγωνιστών στους υποδοχείς και ρύθμιση του παραγόμενου σήματος**

Υπάρχουν διάφορες θεωρίες που βασίζονται σε εργαστηριακά ευρήματα και οι οποίες προσπαθούν να ερμηνεύσουν τους μηχανισμούς με τους οποίους εμφανίζεται η παρατεταμένη δράση ορισμένων ουσιών οι οποίες συνδέονται με το είδος των υποδοχέων που περιγράφονται παραπάνω (7,52).

Σύμφωνα με τη θεωρία της κινητικής των υποδοχέων, μια συγκεκριμένη ουσία που δρα είτε ως αγωνιστής είτε ως αποκλειστής παρουσιάζει υψηλό βαθμό σύνδεσης με τον υποδοχέα. Η συγγένεια αυτή προσδιορίζεται από δύο σταθερές, την  $k_{on}$  και την  $k_{off}$ , που δίνουν τις τιμές σύνδεσης και αποσύνδεσης της συγκεκριμένης ουσίας από τον υποδοχέα. Για να είναι μακρά και επίμονη μια παρόμοια σύνδεση, θα πρέπει η  $k_{off}$  να είναι πολύ χαμηλή. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται μια ψευδής, μη αντιστρεπτή σύνδεση, κατά την οποία δεν μπορεί άλλη ουσία να εκτοπίσει την πρώτη από τον υποδοχέα. Η κατάσταση αυτή λαμβάνει τέλος με την απώλεια της λειτουργικότητας του υποδοχέα συνεπεία της υποβάθμισής του και της εισόδου του στο κυτταρόπλασμα.

Σύμφωνα με τη μακροκινητική θεωρία, η παρατεταμένη δράση μιας ουσίας βασίζεται στην αντίσταση της τελευταίας στον καταβολισμό της και στην απομάκρυνσή της από το πλάσμα. Η διατήρηση υψηλών συγκεντρώσεων πλάσματος της ουσίας εξασφαλίζει παράλληλα υψηλές συγκεντρώσεις στο επίπεδο των υποδοχέων.

Σύμφωνα με τη μικροκινητική θεωρία, υπάρχει η άποψη ότι μια ουσία διαχωρίζεται σε δύο φάσεις. Μία υδατική, που αφορά τα εξωκυτάρια υγρά, και μία λιπώδη μεμβρανική. Υπάρχει μια απότομη κλίση μεταξύ των συγκεντρώσεων των δύο αυτών χώρων, με τον κύριο όγκο των λιπόφιλων ουσιών ή φαρμάκων να ευρίσκεται στη μεμβράνη που δρα ως δεξαμενή. Υπάρχει μια δυναμική

ισορροπία μεταξύ των δύο αυτών χώρων που εξαρτάται από το συντελεστή διαχωρισμού του κάθε φαρμάκου. Ο υποδοχέας διεγείρεται τόσο από τα μόρια της υδατικής φάσης της ουσίας όσο και από τα μόρια που ευρίσκονται στη μεμβράνη. Τα πρώτα φθάνουν τα ενεργά σημεία του υποδοχέα εισδύοντας μέσα στον πόρο που περιέχει, ενώ τα δεύτερα φθάνουν στα ίδια σημεία μέσα από ανοίγματα των διαμεμβρανικών περιοχών του υποδοχέα. Μόνο, όμως, τα μόρια του φαρμάκου που ευρίσκονται στην υδατική φάση απομακρύνονται εύκολα. Με το μηχανισμό αυτό τα λιπόφιλα φάρμακα παραμένουν επί μακρόν και η ενέργειά τους είναι παρατεταμένη.

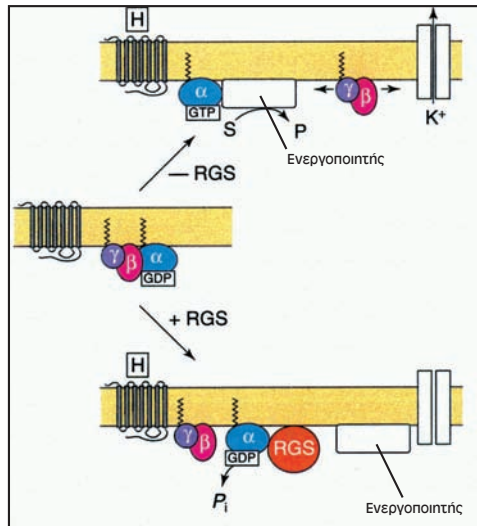
Τέλος, σύμφωνα με τη θεωρία της εξωτερικής θέσης, πιστεύεται ότι υπάρχουν επιπρόσθετα σημεία πρόσδεσης των διαφόρων ουσιών είτε στον υποδοχέα είτε σε άμεσα γειτονικές περιοχές. Με τον τρόπο αυτό το φάρμακο παγιδεύεται και, ενώ είναι ελεύθερο να συνδέεται ή να αποσυνδέεται από τα ενεργά σημεία του υποδοχέα δεν μπορεί να ξεφύγει εύκολα από την περιοχή αυτή όπου και παραμένει επί μακρόν. Η διαφορά με την προηγούμενη θεωρία είναι ότι εδώ το φάρμακο δεν μπορεί να εναλλάσσεται μεταξύ υδατικής και λιπώδους μεμβρανικής φάσης.

Υπάρχουν, όμως, και οι μηχανισμοί εξασθένησης και τροποποίησης του παραγόμενου από τη διέγερση των υποδοχέων σήματος. Οι πρωτεΐνες RGS, στις οποίες έχει ήδη γίνει αναφορά, φαίνεται να έχουν βασικό ρόλο στους μηχανισμούς αυτούς (46).

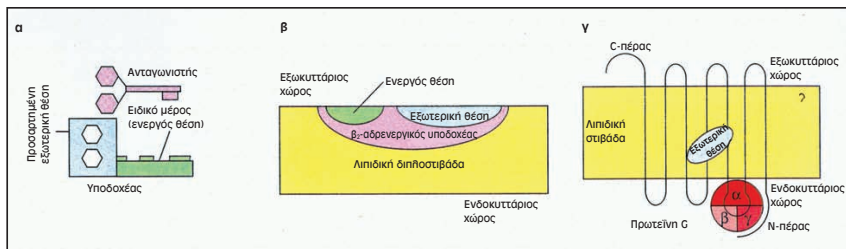
Οι πρωτεΐνες RGS αποτελούν μια οικογένεια διαφορετικών σηματοδοτούσων πρωτεϊνών, οι οποίες, όμως, έχουν ένα κοινό τμήμα από 120 αμινοξέα στο μόριό τους. Οι πρωτεΐνες αυτές ενώνονται με την α-υπομονάδα της G-πρωτεΐνης και εξασθενούν ή τροποποιούν το βιοχημικό σήμα που παράγεται στους υποδοχείς. Η εξασθένηση του σήματος οφείλεται είτε σε αναστολή της απελευθέρωσης της GDP και κατ' επέκταση αδυναμία σύνδεσης της α-υπομονάδας με την GTP, γεγονός που μεταφράζεται σε αδυναμία επικοινωνίας με τον ενεργοποιητή, είτε σε ενεργοποίηση του μηχανισμού διάσπασης της GTP, οπότε μικραίνει ο χρόνος ενεργού επαφής με τον ενεργοποιητή. Παράλληλα, οι πρωτεΐνες RGS μπορούν να τροποποιούν και το είδος του σήματος, μεταβάλλοντας τη δράση δεύτερων ενδοκυττάρων αγγελιαφόρων όπως είναι η AC, η MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase: πρωτεϊνική κινάση που ενεργοποιείται από το μιτογόνο), μηχανισμών όπως αυτοί που κινητοποιούνται από το σύστημα  $IP_3/Ca^{2+}$  καθώς επίσης και την αγωγιμότητα των διαύλων όπως εκείνων του  $K^+$ .

### **Απευαισθητοποίηση και ενδοκυττάρωση του υποδοχέα**

Καθώς κινητοποιούνται οι μηχανισμοί διέγερσης των υποδοχέων GPCR από τον

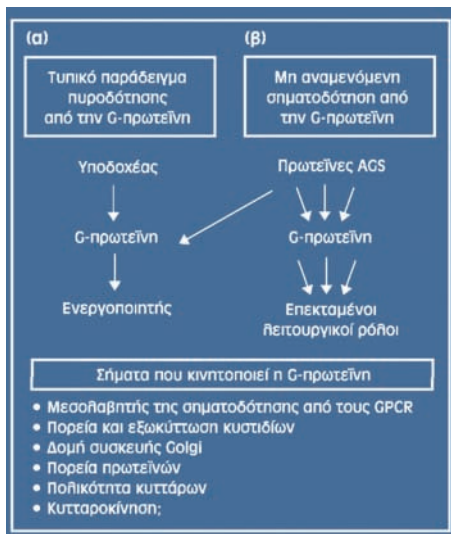


**Εικόνα 3.44: Ρύθμιση της α-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης από την πρωτεΐνη RGS. (μέσον)** Στη φάση ηρεμίας δεν υπάρχει επαφή μεταξύ υποδοχέα και G-πρωτεΐνης (α-υπομονάδα+βγ σύμπλοκο), η δε α-υπομονάδα ευρίσκεται ενωμένη με την GDP. **(άνω)** Με την ένωση του αγωνιστή (A) με τον υποδοχέα, ο τελευταίος μεταδίδει το σήμα στον ενεργοποιητή μέσω της G-πρωτεΐνης η οποία ενώνεται με την GTP εκδιώκοντας συγχρόνως την GDP. Στη συνέχεια, η α-υπομονάδα, ενωμένη πάντα με την GTP, έρχεται και διεγείρει τον ενεργοποιητή που προάγει τη μετατροπή μορίων του υποστρώματος της κυτταρικής μεμβράνης σε δεύτερους αγγελιαφόρους (S&P), ενώ το σύμπλοκο βγ προάγει τη διάνοιξη διαύλων. **(κάτω)** Οι πρωτεΐνες RGS (Regulator of G-protein Signals: Ρυθμιστής των σημάτων της G-πρωτεΐνης) εξασθενίζουν το βιοχημικό σήμα που παράγεται στους υποδοχείς. Η εξασθένιση του σήματος οφείλεται είτε σε αναστολή της απελευθέρωσης της GDP και κατ' επέκταση αδυναμία σύνδεσης της α-υπομονάδας με την GTP, γεγονός που μεταφράζεται σε αδυναμία επικοινωνίας με τον ενεργοποιητή, είτε σε ενεργοποίηση του μηχανισμού διάσπασης της GTP, οπότε σμικραίνει ο χρόνος ενεργού επαφής με τον ενεργοποιητή. *Trends Pharmacol. Sci 20,1999.*



**Εικόνα 3.45: Η εξέλιξη της θεωρίας της εξωτερικής θέσης για τη μακρά δράση των αποκλειστών ενός υποδοχέα GPCR.** (α) Η μία άκρη του μορίου του αποκλειστή συνδέεται χαλαρά σε μια ειδική θέση του υποδοχέα και η άλλη άκρη συνδέεται με ένα προσαρτημένο (εξωτερικό) τμήμα του υποδοχέα. (β) Κατά την εξέλιξη της θεωρίας, το "εξωτερικό τμήμα" θεωρήθηκε τμήμα του υποδοχέα. (γ) Ενσωμάτωση της θεωρίας στο μοντέλο του υποδοχέα GPCR (G Protein Coupled Receptor: Υποδοχέας συνδεόμενος με G-πρωτεΐνη). Το παράδειγμα αφορά τη σαλμετερόλη, εκλεκτικό αγωνιστή των β<sub>2</sub>-αδρενεργικών υποδοχέων. *Trends Pharmacol. Sci. 17, 1996*





**Εικόνα 3.46: Διπλοί μηχανισμοί διέγερσης των G-πρωτεϊνών.** Οι G-πρωτεΐνες μπορούν να διεγερθούν είτε μέσω των υποδοχέων είτε μέσω των πρωτεϊνών AGS (Activators of G-protein Signaling: Πρωτεΐνες ενεργοποιητές του σήματος της G- πρωτεΐνης) χωρίς να μεσολαβήσουν οι υποδοχείς-GPCR.

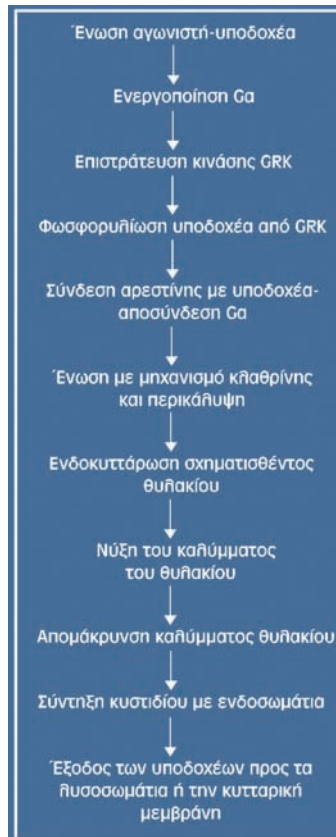
*Trends Pharmacol. Sci 26,2005*

αγωνιστή και το σήμα μεταδίδεται από τις G-πρωτεΐνες προς τους ενεργοποιητές, παράλληλα κινητοποιούνται και οι μηχανισμοί απευαισθητοποίησης που συνίστανται στη φωσφορυλίωση των υποδοχέων από τις κινάσες GRK, την ένωση της αρεστίνης με τους υποδοχείς στις φωσφορυλιωμένες θέσεις, γεγονός που εμποδίζει νέα σύνδεση με τις G-πρωτεΐνες, και τη σύνδεση της αρεστίνης με τους μηχανισμούς ενδοκυττάρωσης του υποδοχέα.

Η απευαισθητοποίηση των υποδοχέων είναι μια βιολογική συμπεριφορά που δίνει το χρόνο στο κύτταρο να ηρεμεί και να αντιδρά σωστά στα πολλαπλά εξωκυττάρια ερεθίσματα τα οποία δέχεται (7,39,58-62).

### **Ο ρόλος των κινασών GRKs**

Οι περισσότεροι, αλλά όχι όλοι, οι υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη χάνουν τη δραστηριότητά τους όταν διεγείρονται συνεχώς ή κατά επαναλαμβανόμενο τρόπο από έναν αγωνιστή ή άλλο ερέθισμα. Σήμερα γνωρίζουμε πλέον ότι η απευαισθητοποίηση αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι η σύνδεση με τον προσδέτη προάγει τη φωσφορυλίωση των υπολοίπων της σερίνης και της θρεονίνης τα οποία ευρίσκονται στο C-πέρας και/ ή στην τρίτη ενδοκυττάρια αγκύλη του υποδοχέα. Η φωσφορυλίωση αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί από δύο οικογένειες κινασών. Η ομόλογη φωσφορυλίωση του υποδοχέα κατα-

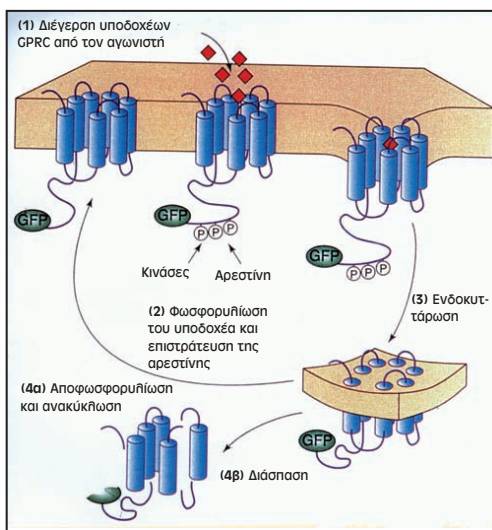


**Εικόνα 3.47: Απευαισθητοποίηση των υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνη.** Καταγράφονται τα στάδια της ενδοκυττάρωσης των υποδοχέων αυτών και της πορείας που στη συνέχεια ακολουθούν.

*Trends Pharmacol. Sci 20,1999*

λύεται από τις GRKs (G-Protein Coupled Kinases: Κινάσες που συνδέονται με G-πρωτεΐνη) και η αντίστοιχη ετερόλογη φωσφορυλίωση γίνεται από τις κινάσες δευτέρους αγγελιαφόρους όπως είναι η PKA και PKC που φωσφορυλιώνουν τόσο τον ενωμένο όσο και τον μη ενωμένο με προσδέτη υποδοχέα (61).

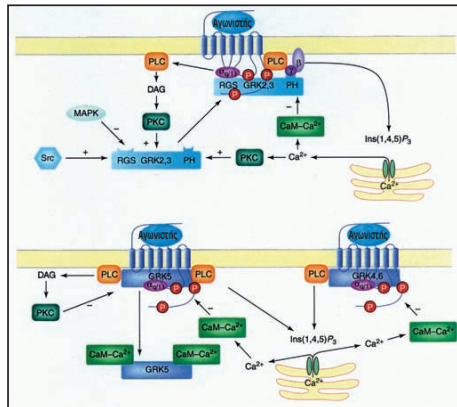
Υπάρχουν επτά είδη GRKs (GRK1-7). Όλες αυτές οι κινάσες περιλαμβάνουν στο μόριό τους ένα N-πέρας το οποίο περιέχει την ίδια για όλους ομολογία αμινοξέων, την πρωτεΐνη RGS, στην οποία έχει γίνει ήδη αναφορά, και στο κέντρο έναν τομέα κίνησης. Η διαφορά από GRK σε GRK αφορά το C-πέρας το οποίο έχει σπουδαίο ρόλο για τη θέση που θα καταλάβει η κίνηση στην κυτταρική



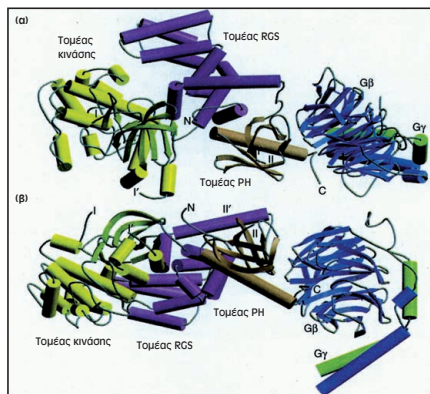
**Εικόνα 3.48: Μηχανισμοί απευαισθητοποίησης και ενδοκυττάρωσης των υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνη.** (1) Τη διέγερση του υποδοχέα GPCR από τον αγωνιστή ακολουθεί η μετάδοση του σήματος προς τους ενεργοποιητές. (2) Παράλληλα κινητοποιούνται και οι μηχανισμοί απευαισθητοποίησης που συνίστανται στη φωσφορυλίωση των υποδοχέων από τις κινάσες GRKs (G Protein Coupled Kinases: Κινάσες που συνδέονται με G-πρωτεΐνη) και την ένωση της αρεστίνης με τους υποδοχείς στις φωσφορυλιωμένες θέσεις. (3) Η αρεστίνη κινητοποιεί τους μηχανισμούς ενδοκυττάρωσης του υποδοχέα. (4α) Ο υποδοχέας αποφωσφορυλιώνεται και ανακύκλωση. (4β) Διάσπαση.  
*Trends Pharmacol. Sci 20, 1999.*

μεμβράνη. Οι κινάσες GRK2 και GRK3 περιέχουν στο C-πέρας του μορίου τους ένα τομέα με ομολογία αμινοξέων πλεκστρίνης (PH: Pleckstrin Homology) που αλληλεπιδρά με το σύμπλοκο βγ της G-πρωτεΐνης. Η αλληλεπίδραση αυτή βοηθά τον προσανατολισμό των κινασών αυτών προς την κυτταρική μεμβράνη και τη φωσφορυλίωση του ενωμένου με τον αγωνιστή υποδοχέα. Οι υπόλοιπες κινάσες διαθέτουν στο C-πέρας του μορίου τους θέσεις σύνδεσης με λιπίδια ή θέσεις τροποποίησης λιπιδίων που επίσης μεθοδεύουν τον προσανατολισμό των κινασών αυτών προς τη μεμβράνη (63).

Οι κινάσες GRKs διακρίνονται σε διάφορους τύπους που διαφέρουν ως προς την ιστική κατανομή, τη θέση κάτω από την κυτταρική μεμβράνη και την ενδογενή ρύθμιση. Έχουν σημαντικό ρόλο στην απευαισθητοποίηση των υποδοχέων αυτών, είτε η απευαισθητοποίηση εξαρτάται από τη διαδικασία της φωσφορυλίωσης είτε όχι. Φαίνεται ότι η αλλαγή της στερεοχημικής δομής του υποδοχέα κατά την ένωσή του με τον αγωνιστή εκθέτει τμήματα του μορίου του προς τις κινάσες αυτές. Ενώ, όμως, είναι γνωστό ότι η ενεργοποίηση του υποδοχέα από τον αγωνιστή είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των κινά-



**Εικόνα 3.49: Μοντέλο φωσφορυλίωσης από τις κινάσες GRK (G protein-coupled Receptor Kinase) των υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνη και που ενεργοποιούν το σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC). (α)** Τόσο η κινάση GRK2 όσο και η κινάση GRK3 είναι κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες που επιστρατεύονται και πορευούνται προς την κυτταρική μεμβράνη μετά τη διέγερση του υποδοχέα. Η δράση της κινάσης GRK2 επιτείνεται καθώς φωσφορυλιώνεται από την PKC (Protein Kinase C) και από τη μη υποδοχέακή τυροσινική κινάση Src. Η δράση της κινάσης GRK2 εξασθενεί από το σύμπλοκο Ca<sup>2+</sup>-καλμοδουλίνης (CaM-Ca<sup>2+</sup>) και από την κινάση MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase: Πρωτεϊνική Κινάση που ενεργοποιείται από το μιτογόνο) με μηχανισμό ανατροφοδότησης. **(β)** Η σύνδεση του συμπλόκου “Ca<sup>2+</sup>-καλμοδουλίνη” με την κινάση GRK5 την αποδεσμεύει από την κυτταρική μεμβράνη, ενώ η φωσφορυλίωση από την PKC αδρανοποιεί την κινάση GRK5. Όπου α<sub>q/11</sub> και βγ είναι οι πρωτεΐνες που απαρτίζουν το σύμπλοκο της G-πρωτεΐνης., P (Phosphorylation: Φωσφορυλίωση), DAG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη), IP<sub>3</sub> (Inositol Triphosphate: Τριφωσφορική ινοσιτόλη), RGS (Regulators of G protein Signaling: Ρυθμιστές της σηματοδότησης της G-πρωτεΐνης). *Trends Pharmacol. Sci.* 24,2003



**Εικόνα 3.50: Απεικόνιση της δομής του συμπλόκου της κινάσης GRK2 (G protein-coupled Receptor Kinase 2) με το σύμπλοκο βγ της G-πρωτεΐνης. (α)** Επιφάνεια που βλέπει προς την κυτταρική μεμβράνη και **(β)** πλαγία όψη. Απεικονίζονται οι τρεις τομείς του μορίου της κινάσης GRK2. Το N-πέρασ περιέχει την RGS (Regulator of G-protein Signals) ή RH (Regulator Homology) τομέα (βιολετί). Ο τομέας της κινάσης με τις α-έλικες (ανοικτό πράσινο) και τις β-δέσμες (σκούρο πράσινο). Ο τομέας της πλεκστρίνης (PH: Pleckstrin Homology) στο C-πέρασ (γκρι-μπεζ). Η β-υπομονάδα (Gβ) της G-πρωτεΐνης (μπλε) και η γ-υπομονάδα (Gγ) της G-πρωτεΐνης (πράσινη). *Trends Pharmacol. Sci.* 25,2004

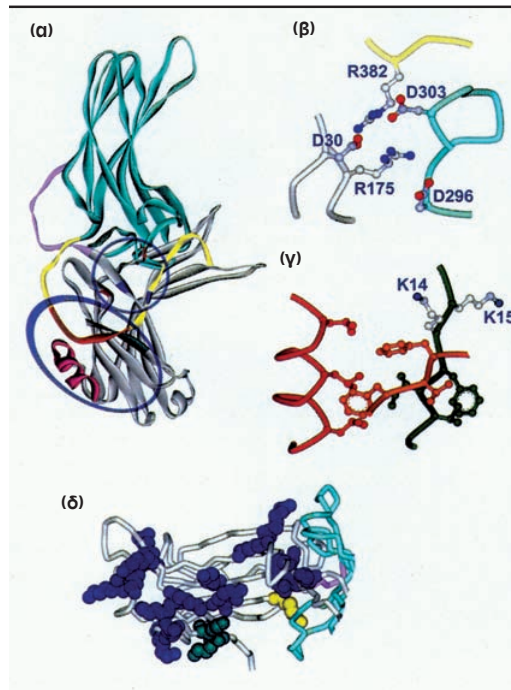
σών αυτών, ελάχιστα είναι γνωστά για τα σήματα που επιστρατεύουν την καθεμία από τις κινάσες αυτές. Μια μεγάλη σειρά πρωτεϊνών και λιπιδίων ρυθμίζει τη δραστηριότητα των κινασών αυτών είτε επηρεάζοντας τη θέση τους στην κυτταρική μεμβράνη είτε την ενεργότητά τους μέσω των φωσφορυλιώσεων που υφίστανται αυτές από άλλες κινάσες. Ειδικότερα για τις κινάσες GRK4 είναι γνωστό ότι είναι δομικά συνδεδεμένες με την κυτταρική μεμβράνη και ότι διαθέτουν στο μόριό τους έναν τομέα δέσμευσης με την PIP<sub>2</sub> που πιθανότατα χρησιμεύει για τη σκόπευση του υποδοχέα, τον οποίο στη συνέχεια θα φωσφορυλιώσουν (61).

### **Ο ρόλος της β-αρρεστίνης**

Οι αρρεστίνες είναι πρωτεΐνες οι οποίες έχουν ρόλο κλειδί στην απευαισθητοποίηση των υποδοχέων GPCR και στην αλλαγή κατεύθυνσης του σήματος που οι τελευταίοι πυροδοτούν προς άλλες βιοχημικές οδούς. Αυτό συμβαίνει διότι οι αρρεστίνες δεν συνδέονται μόνο με τους μηχανισμούς ενδοκυττάρωσης του υποδοχέα, όπως αυτοί που μεθοδεύονται από την κλαθρίνη, αλλά και με πλήθος άλλων πρωτεϊνών που επαναπροσδιορίζουν το βιοχημικό σήμα που εκπορεύεται από τους υποδοχείς, όπως οι πρωτεΐνες ανταπτίνη 2, NSF (N-ethylmaleimide-Sensitive Fusion protein), cSrc, ERK1 1,2 (Extracellular signal-Regulated Kinase 1,2), JNK3 (c-Jun N-terminal Kinase 3) (64,65).

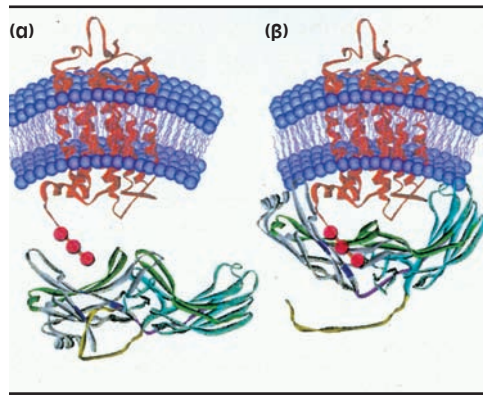
Τα θηλαστικά διαθέτουν τέσσερις αρρεστίνες εκ των οποίων οι δύο, που ονομάζονται και “μη ορατές αρρεστίνες” (non visual arestins), αντιδρούν με εκατοντάδες υποτύπων του υποδοχέα GPCR. Το μόριό τους είναι επίμηκες και αποτελείται από δύο ελαφρά κυρτωμένους, δίκην περύγων, τομείς, το N-τομέα και τον C-τομέα, με μια ενδιάμεση άρθρωση και μια C-απόληξη. Το γεγονός ότι τα στοιχεία σύνδεσης με τον υποδοχέα GPCR ευρίσκονται στην κοίλη πλευρά των τομέων που είναι προσανατολισμένες προς τον υποδοχέα υποδηλώνει ότι κατά τη σύνδεση αυτή οι δύο τομείς θα πρέπει να κινούνται ο ένας προς τον άλλο, ώστε να φέρουν ταυτόχρονα τα στοιχεία αυτά σε επαφή με τον υποδοχέα με μια κίνηση δίκην τανάλιας (64).

Στο τριδιάστατο μόριο της β-αρρεστίνης, η οποία προάγει και τη διαδικασία ενδοκυττάρωσης των υποδοχέων GPCR, υπάρχουν δύο θερμά σημεία (hot spots), ο πολικός πυρήνας και τα τρία δομικά στοιχεία ενδομοριακής αλληλεπίδρασης. Αυτά είναι η C-απόληξη, η β-δέσμη I και η α-έλικα I. Υπάρχουν ακόμη δύο αισθητήρες, εκ των οποίων ο ένας αναγνωρίζει τον διεγερμένο υποδοχέα και ο άλλος τον φωσφορυλιωμένο υποδοχέα. Ο δεύτερος έχει μελετηθεί ιδιαίτερα και πιστεύεται ότι ευρίσκεται μεταξύ των σωμάτων των δύο τομέων και δεν είναι τίποτε άλλο παρά ο πολικός πυρήνας. Τα στοιχεία σύνδεσης με τον υποδοχέα εντός των N και των C-τομέων που καθορίζουν την εξειδίκευση των πρωτεϊνών της β-αρρεστίνης για τον υποδοχέα εκτείνονται έως το σημείο της



**Εικόνα 3.51:** Οι υποδοχείς GPCR ενεργοποιούν τη β-αρρεστίνη με το να διασπών τις συνδέσεις των στοιχείων του μορίου της που το σταθεροποιούν στη φάση ηρεμίας. Το μόριο της β-αρρεστίνης είναι επίμηκες και αποτελείται από δύο τομείς αρθρούμενους μεταξύ τους. (α) Αναπαράσταση της δομής του μορίου της αρρεστίνης όπου διακρίνονται ο N-τομέας (γκρι), η άρθρωση (λιλά), ο C-τομέας (τιρκουάζ) και η C-απόληξη. Ο σχετικός προσανατολισμός των δύο τομών του μορίου της αρρεστίνης σταθεροποιείται από τρία δομικά στοιχεία που συμμετέχουν σε ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις. Δύο από τα δομικά αυτά στοιχεία διασπώνται από τις προσκολλημένες στον υποδοχέα GPCR φωσφορικές ομάδες. Τα θετικά (βαθύ μπλε) και τα αρνητικά (κόκκινο) φορτισμένα υπόλοιπα αμινοξέων στον πολικό πυρήνα σημειώνονται με έναν κύκλο. (β) Διακρίνεται η κύρια γέφυρα μεταξύ Arg175 και Asp296 στον πολικό πυρήνα του μορίου της αρρεστίνης ο οποίος χρησιμεύει ως ο κύριος αισθητήρας αναγνώρισης των φωσφορυλιωμένων θέσεων του υποδοχέα. (γ) Η αλληλεπίδραση των τριών δομικών στοιχείων, δηλαδή της β-δέσμης (σκούρο πράσινο), της α-έλικας I (κόκκινο) και της β-δέσμης XX της C-απόληξης (πορτοκαλί) συνεπάγεται τη δημιουργία τριπλών ογκωδών σχηματισμών υδρόφοβων υπολοίπων αμινοξέων σε κάθε δομικό στοιχείο. Δύο υψηλά συντηρούμενες λυσίνες (K) εμφανίζονται άμεσα κατά την καθοδική πορεία των συμμετεχόντων υδρόφοβων υπολοίπων της β-δέσμης 1 και συνδέονται με τις φωσφορυλιωμένες θέσεις του υποδοχέα οδηγούμενες από τον αισθητήρα που αναγνωρίζει τις θέσεις αυτές. (δ) Κατά τη φάση ηρεμίας, ο κύριος αισθητήρας Arg175 (κίτρινο) εντόπισης των θέσεων φωσφορυλίωσης του υποδοχέα ο οποίος ευρίσκεται στον πολικό πυρήνα του διαμορφωμένου μορίου της β-αρρεστίνης καλύπτεται, ενώ πολυάριθμα, θετικά φορτισμένα υπόλοιπα αμινοξέων στον N-τομέα (μπλε) είναι εκτεθειμένα. Κατά τη φάση που το μόριο της αρρεστίνης οδεύει προς τον υποδοχέα, οι ενδομοριακές κινήσεις που συνοδεύουν τη σύνδεση των Lys14 και Lys15 με τις φωσφορικές ομάδες του υποδοχέα διαλύουν τη β-δέσμη I διασπώντας την υδροφοβική αλληλεπίδραση των γειτνιαζόντων υπολοίπων αμινοξέων με τη C-απόληξη και την α-έλικα I, και μετασχηματίζουν και ενεργοποιούν το μόριο της αρρεστίνης.

*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*



**Εικόνα 3.52: (α) Σχεδιάγραμμα του υποδοχέα GPCR στην κυτταρική μεμβράνη και του μορίου της β-αρρεστίνης στο κυτταρόπλασμα κατά τη φάση της ηρεμίας.** Διακρίνονται τα στοιχεία και των δύο δίκην περύγων τομέων του μορίου της β-αρρεστίνης (βαθύ μπλε) που συνδέονται με τις φωσφορυλιωμένες θέσεις του υποδοχέα GPCR στις κοίλες πλευρές των τομέων της αρρεστίνης. Επίσης, διακρίνονται οι φωσφορυλιωμένες θέσεις του υποδοχέα (ελαφρύ πράσινο). Οι φωσφορικές ομάδες που είναι συνδεδεμένες με το μόριο του υποδοχέα αναπαρίστανται ως κύκλοι (κόκκινοι). **(β) Μοντέλο συμπλόκου αρρεστίνης υποδοχέα.** Οι Lys14 και Lys15 του μορίου της αρρεστίνης συνδέονται με τις φωσφορυλιωμένες θέσεις του υποδοχέα (σκούρο μπλε). Στη συνέχεια, δύο Lys κινούνται με τις φωσφορικές ομάδες προς τον πολικό πυρήνα, όπου οι φωσφορικές ομάδες ουδετεροποιούν τη θετικά φορτισμένη Arg175, διασπούν την αλληλεπίδρασή της με την Asp296, και αποσταθεροποιούν τον πολικό πυρήνα. Η διάσπαση των τριών δομικών στοιχείων του μορίου της αρρεστίνης (βλέπε κείμενο) απελευθερώνει τη C-απόληξη (κίτρινο) και μετακινεί την Arg382 από τον πολικό πυρήνα επιτείνοντας την αποσταθεροποίηση. Έχοντας μείνει χωρίς ενδομοριακές συνδέσεις, η α-έλικα I αιωρείται ελεύθερη και συμμετέχει στη σύνδεση με τον υποδοχέα ή την κυτταρική μεμβράνη. Στη συνέχεια, οι περιορισμένοι N-τομέας (γκρι) και C-τομέας (τιρκουάζ) του μορίου της β-αρρεστίνης κινούνται πλησιάζοντας ο ένας τον άλλο, καθώς διπλώνει το μαλακό μέρος της άρθρωσης (λιλά). Η κίνηση αυτή φέρνει σε επαφή όλα τα στοιχεία σύνδεσης του μορίου της β-αρρεστίνης με τον υποδοχέα και επιτρέπει στο άκαμπτο τμήμα του μορίου της να σφίξει το κυτταροπλασματικό άκρο του υποδοχέα όπως μια πένσα.  
*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*

διατομεακής επαφής. Κάθε στοιχείο περιέχει υπόλοιπα αμινοξέων που αλληλεπιδρούν με τα αντίστοιχα του άλλου τομέα.

Όταν το μόριο της β-αρρεστίνης πλησιάζει τον διεγερμένο υποδοχέα, τότε ο αισθητήρας που αναγνωρίζει τον υποδοχέα συνδέεται ενδοεπιφανειακά με τμήματα του τελευταίου και, καθώς ο αισθητήρας μετασχηματίζεται στα πλαίσια της ενεργοποίησής του, αποσταθεροποιούνται οι μεταξύ αυτού και του υποδοχέα ενδοεπιφανειακές αλληλεπιδράσεις. Την ίδια στιγμή, οι Lys14 και Lys15 του μορίου της β-αρρεστίνης συνδέονται με τις φωσφορυλιωμένες θέσεις του υποδοχέα οδηγούμενες από τον αισθητήρα που αναγνωρίζει τις θέσεις αυτές. Κατά τη διάρκεια της φάσης αυτής, η Lys14 περνά από πάνω και στη συνέχεια και οι δύο Lys κινούνται με τις φωσφορικές ομάδες προς τον πολικό πυρήνα κατά την κατεύθυνση της Arg175. Η κίνηση αυτή διαλύει τη β-δέσμη

I διασπώντας τις αλληλεπιδράσεις της με τη C-απόληξη και την α-έλικα I. Μία πρώτη συνέπεια είναι η απελευθέρωση της C-απόληξης η οποία ωθεί τη θετικά φορτισμένη Arg382 έξω από τον πολικό πυρήνα, ενώ οι ερχόμενες από τον υποδοχέα φωσφορικές ομάδες ουδετεροποιούν τη θετικά φορτισμένη Arg175. Με τον τρόπο αυτό μένουν στον πολικό πυρήνα τρεις αρνητικά φορτισμένες θέσεις χωρίς αντίθετα φορτισμένα ιόντα. Οι αμοιβαίες αυτές απωθήσεις αποτελούν μία από τις δυνάμεις που προάγουν τον μοριακό μετασχηματισμό της αρεστίνης. Μια δεύτερη συνέπεια είναι ότι η διάλυση της β-δέσμης I με την ταυτόχρονη απελευθέρωση της C-απόληξης, αφήνει την α-έλικα I χωρίς ενδομοριακές συνδέσεις με αποτέλεσμα αυτή να είναι ελεύθερη να κινηθεί και να συμμετάσχει στις διάφορες συνδέσεις.

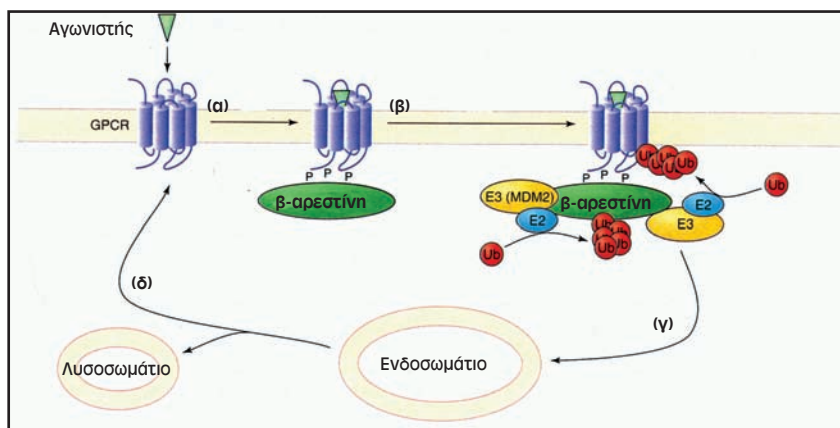
Όλοι οι προαναφερθέντες μηχανισμοί διασπούν κάθε σημαντική αλληλεπίδραση που σταθεροποιεί τον σχετικό προσανατολισμό των δύο τομέων του μορίου της β-αρεστίνης και αυξάνουν τις θέσεις σύνδεσης. Στη συνέχεια οι περιορισμένοι N και C-τομείς του μορίου της β-αρεστίνης κινούνται πλησιάζοντας ο ένας τον άλλο, καθώς διπλώνει το μαλακό μέρος της άρθρωσης. Η κίνηση αυτή φέρνει σε επαφή όλα τα στοιχεία σύνδεσης του μορίου της β-αρεστίνης με τον υποδοχέα και επιτρέπουν στο περί την άρθρωση άκαμπτο τμήμα του μορίου της να σφίξει το κυτταροπλασματικό άκρο του υποδοχέα όπως μια πένσα.

Η ουμπικουϊτίνη, για την οποία έχει γίνει ήδη αναφορά, έχει ρόλο και στους μηχανισμούς αδρανοποίησης υποδοχέων τόσο στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης όσο και στο επίπεδο της μεμβράνης του ενδοπλασματικού δικτύου. Ο βασικός της ρόλος είναι η σήμανση των πρωτεϊνικών αυτών μορίων προς αποδόμηση (15).

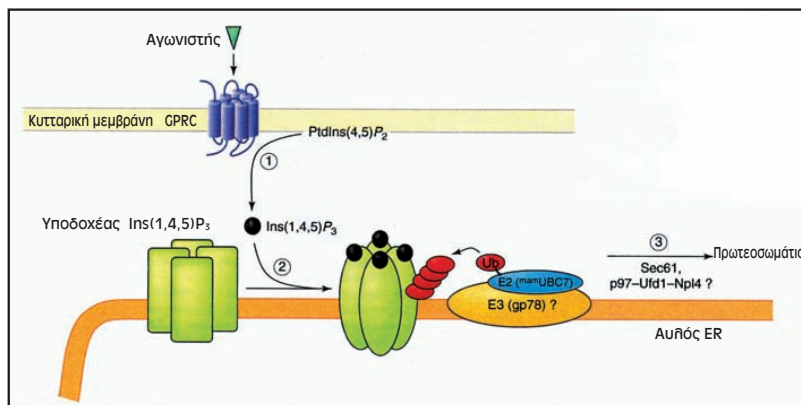
Η ουμπικουϊτίνωση του υποδοχέα GPCR δεν είναι απαραίτητη για την ενδοκυττάρωσή του, ωστόσο είναι απαραίτητη για την όδυσή του προς τα λυσοσωμάτια. Αντίθετα, η ουμπικουϊτίνωση της β-αρεστίνης είναι απαραίτητη για να επιτευχθεί η ενδοκυττάρωση του υποδοχέα GPCR. Ο ρόλος κλειδί για τη συνδεδεμένη με τα δύο παραπάνω πρωτεϊνικά μόρια ουμπικουϊτίνη είναι η δημιουργία σταθερών δεσμών ανάμεσα σε αυτά και τις ενδοκυττάρια πρωτεΐνες, οι οποίες όντως παρουσιάζουν σημεία σύνδεσης με ουμπικουϊτίνη. Μεταξύ των υποδοχέων που έχουν σχέση με τους μηχανισμούς αυτούς αναφέρονται οι β<sub>2</sub>-αδρενεργικοί υποδοχείς και οι V<sub>2</sub>-υποδοχείς της βασοπρεσίνης.

Η δράση της ουμπικουϊτίνης δεν περιορίζεται μόνο στην αποδόμηση των υποδοχέων GPCR της κυτταρικής μεμβράνης, αλλά στρέφεται και προς τον υποδοχέα της (1,4,5)IP<sub>3</sub> στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου. Ο υποδοχέας της (1,4,5)IP<sub>3</sub> ο οποίος ελέγχει τον αντίστοιχο δίαυλο εξόδου Ca<sup>2+</sup> στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου, ευθύς μετά τη διέγερσή του από τον δεύτερο αγγελιαφόρο (1,4,5) IP<sub>3</sub> οδεύει προς διάσπαση μέσω του μηχανισμού της ουμπικουϊτίνης.





**Εικόνα 3.53:** Σχεδιάγραμμα του υποδοχέα GPCR στην κυτταρική μεμβράνη και του μηχανισμού ενδοκυττάρωσης της συμπεκουϊτίνης. (α) Η σύνδεση του αγωνιστή με τον υποδοχέα GPCR έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίησή του, τη φωσφορυλίωσή του από την κινάση GRK2 (G protein-coupled Receptor Kinase 2) ή τις άλλες κινάσες και τη σύνδεσή του με τη β-αρρεστίνη. (β) Ο υποδοχέας GPCR και η β-αρρεστίνη πολυομπεκουϊτινούνται και η MDM2 αντιπροσωπεύει τη λιγκάση (E3) της ομπεκουϊτίνης (Ub) για τη β-αρρεστίνη. (γ) Το σύμπλοκο “υποδοχέας GPCR-β αρρεστίνη” ενδοκυττάρωνεται μέσω του μηχανισμού της κλαθρίνης και οδεύει προς τα ενδοσωμάτια όπου (δ) είτε ο υποδοχέας GPCR ανακυκλώνεται και επανέρχεται στην κυτταρική μεμβράνη (ε) είτε οδεύει προς τα λυσοσωμάτια όπου και αποδομείται. E2 (Ένζυμο σύνδεσης της ομπεκουϊτίνης), ER (Endoplasmic Reticulum: Ενδοπλασματικό Δίκτυο)  
*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*



**Εικόνα 3.54:** Σχεδιάγραμμα της αποδόμησης του υποδοχέα Ins(1,4,5)IP<sub>3</sub> στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου μέσω του μηχανισμού της ομπεκουϊτίνης. Ο υποδοχέας Ins(1,4,5)IP<sub>3</sub> ο οποίος ελέγχει τον αντίστοιχο διάλυο εξόδοο Ca<sup>2+</sup> στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου, ευθύς μετά τη διέγερσή του από τον δεύτερο αγγελιαφόρο Ins(1,4,5)IP<sub>3</sub> [Inositol (1,4,5) triphosphate: Τριφωσφορική (1,4,5) φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη] οδεύει προς διάσπαση μέσω του μηχανισμού της ομπεκουϊτίνης. ER (Endoplasmic Reticulum: Ενδοπλασματικό Δίκτυο). Βλέπε κείμενο.  
*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*

Ως εκ τούτου, η ουμπικουϊτίνη ασκεί έναν ρόλο ρυθμιστικό. Εξουδετερώνει τη δυνατότητα συνεχούς διέγερσης των υποδοχέων GPCR της κυτταρικής μεμβράνης και παράλληλα περιορίζει την ανεξέλεγκτη έξοδο  $\text{Ca}^{2+}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο συμβάλλοντας με τους μηχανισμούς αυτούς στην ομαλή λειτουργία του κυττάρου.

### **Μηχανισμός κλαθρίνης**

Η κλαθρίνη αποτελεί βασική πρωτεΐνη στο μηχανισμό ενδοκυττάρωσης πρωτεϊνικών μορίων της κυτταρικής μεμβράνης, συμπεριλαμβανόμενων των υποδοχέων GPCR (15,66-68).

Καθώς οι υποδοχείς είναι συνδεδεμένοι με το μόριο της β-αρεστίνης, η τελευταία λειτουργώντας ως ενδοκυττάριος προσαρμοστής (adaptor) μεθοδεύει τη σύνδεσή τους με τον εξαρτώμενο από την κλαθρίνη μηχανισμό ενδοκυττάρωσης και πιθανόν ενεργοποιεί κάποια στοιχεία του. Η ενδοκυττάρωση των υποδοχέων GPCR γίνεται μέσω κυστιδίων καλυμμένων με κλαθρίνη, τα οποία συλλαμβάνουν τους υποδοχείς αυτούς από την κυτταρική μεμβράνη, τους φέρουν στο κυτταρόπλασμα και τους αποθέτουν στο σύστημα ενδοσωματίων για ανακύκλωση ή καταστροφή. Οι φωσφοϊνοσιτίδες (Pis:Phosphoinositides) ελέγχουν το χρόνο και τη θέση διακίνησης των μορίων στην εσωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης επιστρατεύοντας προσαρμοστές και άλλα συνδεδεμένα με αυτούς στοιχεία του μηχανισμού μεταφοράς. Με τη δράση αυτή, αποτελούν τμήμα ενός διερευνητικού συστήματος συμπτώσεων (coincidence detection system) το οποίο λειτουργεί κατά την κυστιδιακή μεταφορά που μεθοδεύεται από τους προσαρμοστές.

Ο υποδοχέας ο οποίος εισέρχεται με το μηχανισμό αυτό στο κυτταρόπλασμα οδεύει προς τα ενδοσωμάτια, όπου αποφωσφορυλιώνεται, και τότε ξεκινά ένας μηχανισμός ανακύκλωσης με τελικό αποτέλεσμα ο υποδοχέας αυτός να ξαναέρχεται στην κυτταρική μεμβράνη έτοιμος να διεγερθεί. Παράλληλα, ένας αριθμός υποδοχέων που φθάνει στα ενδοσωμάτια οδεύει στη συνέχεια προς τα λυσοσωμάτια, όπου και διασπάται. Συγχρόνως, ένας αριθμός νέων υποδοχέων συντίθεται στη συσκευή Golgi και προωθείται προς τη κυτταρική μεμβράνη με βάση το μηχανισμό ανατροφοδότησης. Με τους μηχανισμούς αυτούς δημιουργείται μια σταθερή κατάσταση κατά την οποία ένας αριθμός υποδοχέων ευρίσκεται ενεργός στην κυτταρική μεμβράνη και ένας άλλος ανενεργός στο κυτταρόπλασμα. Ο κύκλος αυτός είναι βραδύς σε μη διεγερόμενα κύτταρα, ενώ οι ρυθμοί αυξάνουν δραματικά παρουσία ενός αγωνιστή και διέγερσης του υποδοχέα.

Κάθε φορά, η τύχη του υποδοχέα που θα εισέλθει στο κυτταρόπλασμα εξαρτάται από τα μηνύματα που φθάνουν μέσω των δευτέρων αγγελιαφόρων και των μεταγραφικών παραγόντων προς τον πυρήνα και τον πληροφορούν για

το τι συμβαίνει στον εξωκυττάριο χώρο, ώστε το κύτταρο να προσαρμόζεται ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες.

### **Είδη απευαισθητοποίησης**

Η ταχεία απευαισθητοποίηση του υποδοχέα διακρίνεται σε ομόλογη και ετερόλογη (19,69).

Κατά την ομόλογη απευαισθητοποίηση του υποδοχέα, η διέγερση του τελευταίου από έναν αγωνιστή έχει ως αποτέλεσμα το φαινόμενο αυτό να περιορίζεται μόνο στον συγκεκριμένο υποδοχέα. Πρόκειται για ένα φαινόμενο που ακολουθεί πολλά βήματα τα οποία έχουν ήδη αναπτυχθεί. Πρώτα ενώνεται ο αγωνιστής με τον υποδοχέα και στη συνέχεια ο υποδοχέας με την G-πρωτεΐνη. Η διάσπαση της G-πρωτεΐνης, στη συνέχεια, στις υπομονάδες α και το σύμπλοκο βγ έχει ως αποτέλεσμα οι δύο τελευταίες να προσελκύουν μία από τις κινάσες GRKs στην κυτταρική μεμβράνη. Η GRK προκαλεί την αρχική φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης του υποδοχέα, με αποτέλεσμα το μικρό βαθμό απευαισθητοποίησης του τελευταίου. Η αρχική αυτή φωσφορυλίωση προσελκύει μια άλλη πρωτεΐνη, την αρεστίνη. Η τελευταία ολοκληρώνει την απευαισθητοποίηση του υποδοχέα πιθανόν αποσυνδέοντάς τον από την G-πρωτεΐνη.

Οι αρεστίνες όχι μόνο καταστέλλουν κάθε αλληλεπίδραση υποδοχέων και G-πρωτεϊνών αλλά και πυροδοτούν τη μέσω της κλαθρίνης ενδοκυττάρωση των υποδοχέων, ενώ παράλληλα μπορεί να προάγουν επιπρόσθετα σηματοδοτούντα βιοχημικά μονοπάτια. Οι β-αρεστίνες συνδέονται αφενός με την κλαθρίνη, η οποία μεθοδεύει την ενδοκυττάρωση του υποδοχέα, αφετέρου δε με το μονοπάτι της MAP, στην οποία έχει ήδη γίνει αναφορά, το οποίο μεταφέρει το μήνυμα στον πυρήνα.

Κατά την ετερόλογη απευαισθητοποίηση του υποδοχέα, η διέγερση του τελευταίου από έναν αγωνιστή οδηγεί σε διαδικασίες απευαισθητοποίησης όχι μόνο του συγκεκριμένου υποδοχέα αλλά και ενός μεγάλου αριθμού διαφορετικών υποδοχέων. Αυτό γίνεται, όπως ήδη αναφέρθηκε, μέσα από κινάσες όπως η PKA και η PKC. Οι κινάσες αυτές εξαρτώνται από δεύτερους αγγελιαφόρους που δημιουργούνται κατά τη διέγερση, όπως ήδη έχει αναπτυχθεί αρκούντως. Αυτοί είναι η cAMP για την PKA και η DAG για την PKC. Οι κινάσες αυτές φωσφορυλιώνουν τους υποδοχείς σε διαφορετικές θέσεις απ' ό,τι οι GRKs κινάσες.

Φαίνεται όμως ότι οι PKA και PKC μπορούν να επηρεάσουν και τη συμπεριφορά των GRKs κινασών και της αρεστίνης. Στην προκειμένη περίπτωση ομιλούμε για ετερόλογη ρύθμιση ομόλογων μηχανισμών απευαισθητοποίησης.

Στις περιπτώσεις εκείνες που η διέγερση ενός υποδοχέα είναι χρόνια, αυτός υπόκειται σε μειορύθμιση λόγω διάσπασης της πρωτεΐνης και ελάττωσης των επιπέδων του αντίστοιχου mRNA. Στην περίπτωση αυτή αναπτύσσονται τα φαινόμενα της ανοχής. Κλασικό παράδειγμα για το καρδιαγγειακό σύστη-

μα οι β-αδρενεργικοί υποδοχείς της καρδιάς επί ανεπαρκείας αυτής λόγω της υψηλής συγκέντρωσης των κυκλοφορουσών κατεχολαμινών.

### Κατηγορίες υποδοχέων και αγγειοδραστικές ουσίες

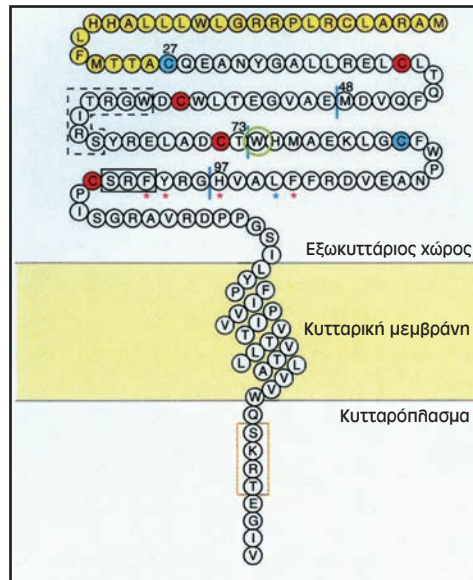
Οι αγγειοδραστικές ουσίες μπορεί να απελευθερώνονται από τα περιαγγειακά νεύρα, όπως η νοραδρεναλίνη, να συντίθενται τοπικά από το αγγειακό τοίχωμα, όπως η αγγειοτασίνη II, ή να εκκρίνονται τοπικά, όπως η 5-HT από τα αιμοπετάλια και η ισταμίνη από τα σιτευτικά κύτταρα. Διαφορετικοί υποτύποι του ίδιου υποδοχέα για τον ίδιο προσδέτη μπορεί να υπάρχουν στο ενδοθήλιο και τις λείες μυϊκές ίνες. Συνήθως, αυτοί οι υποτύποι υποδοχέων του ενδοθηλίου ασκούν αντιρροπιστικό αγγειοδιασταλτικό ρόλο στις αγγειοσυσπαστικές δράσεις που μεθοδεύονται από τον ίδιο προσδέτη μέσω των αντίστοιχων υποτύπων υποδοχέων στις λείες μυϊκές ίνες. Οι υποδοχείς GPCR διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες (5,70).

Η πρώτη κατηγορία, η οποία είναι και η μεγαλύτερη σε αριθμό υποδοχέων, περιλαμβάνει υποδοχείς που έχουν ως προσδέτες πεπτίδια, βιογενείς αμίνες, εικοσανοειδή, νουκλεοτίδια, νουκλεοσίδες, ακετυλοχολίνη και βιοενεργά λιπίδια. Η διέγερση των υποδοχέων αυτών μπορεί να οδηγήσει ανάλογα είτε σε αγγειοσύσπαση είτε σε αγγειοδιαστολή. Η αγγειοδιαστολή μπορεί να είναι έμμεση, δηλαδή αυτοί οι υποδοχείς να είναι στο ενδοθήλιο και να το διεγείρουν να απελευθερώσει αγγειοδιασταλτικές ουσίες, είτε άμεση, όταν οι διεγειρόμενοι υποδοχείς ευρίσκονται στις λείες μυϊκές ίνες.

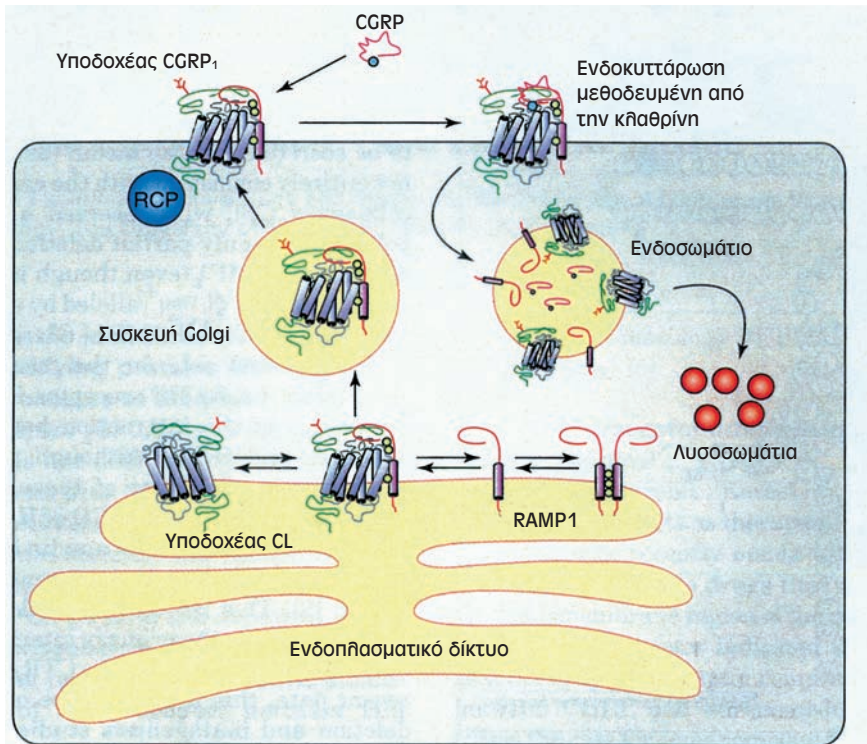
Ιδιαίτερης αναφοράς χρήζει η ομάδα των βιοενεργών λιπιδίων όπου ανήκει η φωσφορική σφιγγοσίνη-1 η οποία δρώντας και ως εξωκυττάριος αγωνιστής διεγείρει πέντε υποτύπους υποδοχέων GPCRs, δηλαδή τους SIP<sub>1-5</sub>. Το λιπίδιο αυτό συσπά τα αγγεία μέσω των SIP<sub>1</sub> και / ή των SIP<sub>2</sub> υποδοχέων στις λείες μυϊκές ίνες και προκαλεί ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή μέσω των SIP<sub>1</sub> και πιθανόν και των SIP<sub>3</sub> υποδοχέων των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η αγγειοσυσπαστική αυτή δράση ιδιαίτερα στα μικρά αγγεία έχει σημασία γιατί ο ρόλος τους είναι γνωστός στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης (71,72).

Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει υποδοχείς των οποίων η δραστηριότητα τροποποιείται από τις πρωτεΐνες RAMPs (Receptor Activity Modifying Proteins: Πρωτεΐνες που Τροποποιούν τη Δραστηριότητα των Υποδοχέων). Οι υποδοχείς αυτοί διεγείρονται από πεπτίδια της τάξης των 30-40 αμινοξέων, όπως είναι η αδρενομεδουλίνη, το VIP (Vasoactive Intestinal Peptide: Αγγειοδραστικό Εντερικό Πεπτίδιο), το CGRP (Calcitonine Gene Related Peptide: Πεπτίδιο Σχετιζόμενο με το Γονίδιο της Καλσιτονίνης), και οι ουροκορτίνες. Οι πρωτεΐνες RAMPs όχι μόνο έχουν συμμετοχή στην πτύχωση και την πορεία των υποδοχέων αυτών προς την κυτταρική μεμβράνη, αλλά προσδιορίζουν και τον τελικό τύπο του υποδοχέα (5,10,70).





**Εικόνα 3.56:** Σχηματική παράσταση του μορίου της πρωτεΐνης RAMP1 (Receptor Activity Modifying Protein: Τροποποιητική της Ενεργοποίησης του Υποδοχέα Πρωτεΐνη). Διακρίνονται η αλληλουχία των αμινοξέων που πιστεύεται ότι έχει σχέση με το σήμα (κίτρινα) και τα μόρια της κυστεΐνης που είναι σταθερά και στις τρεις RAMPs (κόκκινα). Επίσης, διακρίνονται οι κυστεΐνες που υπάρχουν στη RAMP1 και στη RAMP3 αλλά όχι και στη RAMP2 (μπλε) και οι περιοχές που είναι σημαντικές για την επαγωγή των υποδοχέων της αδρενομεδουλίνης και των αντίστοιχων του πεπτιδίου που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης (CGRP: Calcitonin Gene Related Peptide) (σταθερές γραμμές). Επίσης καταγράφονται τα αμινοξέα που ευρίσκονται στο N-πέρας και είναι υπεύθυνα για την επιφάνεια προς επιφάνεια επαφή με τον υποδοχέα CGRP (αστερίσκοι ρόδινοι για την επαφή και μπλε για την αποδυνάμωση της επαφής) και η αλληλουχία των αμινοξέων για τη συγκράτηση στο ενδοπλασματικό δίκτυο (σε ορθογώνιο). Η δράση των RAMPs αφορά τη δεύτερη κατηγορία υποδοχέων GPCRs.  
*Trends Pharmacol. Sci.* 24,200 3



**Εικόνα 3.57:** Πιθανοί κύκλοι αλληλεπίδρασης της πρωτεΐνης RAMP1 (Receptor Activity Modifying Protein: Τροποποιητική της Ενεργοποίησης του Υποδοχέα Πρωτεΐνη) και του υποδοχέα του πεπτιδίου που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης. Αρχικά η RAMP1 παραμένει στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου συγκρατούμενη από μια αλληλουχία των αμινοξέων που ευρίσκεται στο C-πέρας του μορίου της. Με την εμφάνιση του υποδοχέα CL (Calcitonin receptor Like: Υποδοχέας δίκην καλσιτονίνης) σχηματίζεται ένα ετεροδιμερές μεταξύ αυτού και της RAMP1 στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Στη συνέχεια, ο υποδοχέας βοηθά το σύμπλοκο να περάσει δια μέσου της συσκευής Golgi όπου ο υποδοχέας γλυκοζυλιώνεται και έρχεται ώριμος ως υποδοχέας CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide Receptor: Υποδοχέας του πεπτιδίου που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης) να λάβει θέση στην κυτταρική μεμβράνη. Η διέγερση του υποδοχέα από το CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide: Πεπτιδίο που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης) πυροδοτεί το σήμα που μεθοδεύεται από την G-πρωτεΐνη. Το σήμα αυτό ενδυναμώνεται από την πρωτεΐνη RCP (Receptor Component Protein: Πρωτεΐνη συστατικό του υποδοχέα). Στη συνέχεια, το σύμπλοκο "αγωνιστής- RAMP1- Υποδοχέας CL" ενδοκυτταρώνεται και παραμένει σταθερό μέχρι να διασπασθεί από τα λυσοσωμάτια. Η διαδικασία αυτή αφορά τη δεύτερη κατηγορία υποδοχέων GPCRs.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24,2003

Η τρίτη κατηγορία περιλαμβάνει μεταβοτροπικούς υποδοχείς που ευρίσκονται προσυναπτικά στα περιαγγειακά νεύρα, αλλά δεν εκφράζονται ούτε στα ενδοθηλιακά κύτταρα ούτε στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων. Μεταξύ των προσδετών περιλαμβάνονται το γλουταμινικό οξύ και το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA)· οιαδήποτε επίδρασή τους στον αγγειακό τόνο, αν υπάρχει, είναι έμμεση.

Η τέταρτη κατηγορία περιλαμβάνει τους υποδοχείς της οικογένειας που ελικώνονται (frizzled) και λειαίνονται (smoothened). Πρόκειται για υποδοχείς οι οποίοι ενεργοποιούνται από τις πλούσιες σε κυστεΐνη γλυκοζυλιωμένες πρωτεΐνες Wnt. Οι υποδοχείς αυτοί είναι ευρύτατα διεσπαρμένοι στο καρδιαγγειακό σύστημα και έχουν σχέση με τους μηχανισμούς αναδιαμόρφωσης, κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης και απόπτωσης. Δεν υπάρχουν αναφορές για επιδράσεις στον αγγειακό τόνο.

### Φαρμακολογικοί στόχοι

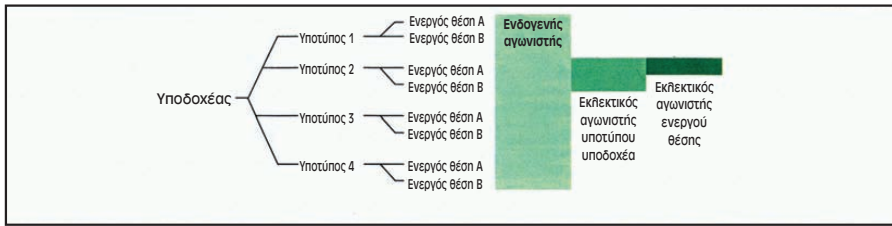
Το 40-60% των χρησιμοποιούμενων, σήμερα, στη θεραπευτική φαρμάκων δρα στους υποδοχείς που ήδη περιγράφηκαν. Ιδιαίτερα, όσον αφορά το αγγειακό τοίχωμα, ανάμεσα στα φάρμακα αυτά περιλαμβάνονται εν χρήση αντιυπερτασικά φάρμακα όπως οι α και β-αδρενεργικοί αποκλειστές, οι αποκλειστές των υποδοχέων της αγγειοτασίνης II και οι αποκλειστές των υποδοχέων της ενδοθελίνης-1. Η ανάπτυξη των μηχανισμών δράσης των φαρμάκων αυτών αποτελεί αντικείμενο άλλου κεφαλαίου. Αξίζει όμως να αναφερθούν ορισμένα πράγματα για τις εξελίξεις στον ερευνητικό τομέα που αφορούν φαρμακολογικούς στόχους οι οποίοι σχετίζονται με τους μηχανισμούς που διέπουν τη λειτουργία των υποδοχέων αυτών.

Οι ορφανοί υποδοχείς, στους οποίους ήδη έχει γίνει αναφορά, αποτελούν σήμερα αντικείμενο έρευνας. Ο εντοπισμός των φυσικών αγωνιστών τους και η μελέτη των ενδοκυττάρων βιοχημικών οδών που πυροδοτούνται από τη διέγερσή τους θα δώσει νέες γνώσεις για την ανθρώπινη φυσιολογία και νέους στόχους για φαρμακολογικές παρεμβάσεις (4).

Το γεγονός ότι υποδοχείς GPCR θεωρούνται σήμερα ως μόρια που παρουσιάζουν κυκλικά πολλές ενεργούς μετασχηματιζόμενες μορφές δίνει τη δυνατότητα σύνθεσης ακόμη πιο εκλεκτικών φαρμάκων. Η σύνθεση φαρμάκων τα οποία θα είναι όχι μόνο εκλεκτικά για έναν συγκεκριμένο υποτύπο ενός υποδοχέα, όπως συμβαίνει σήμερα, αλλά συγχρόνως και προς έναν συγκεκριμένο μετασχηματισμό του μορίου του υποτύπου του υποδοχέα θα αυξήσει την εκλεκτικότητα των φαρμάκων αυτών, καθώς θα προαγάγει την εκδήλωση μέρους μόνο της όλης συμπεριφοράς του υποδοχέα (73).

Οι G-πρωτεΐνες αποτελούν τον συνδετικό κρίκο ανάμεσα στους υποδοχείς



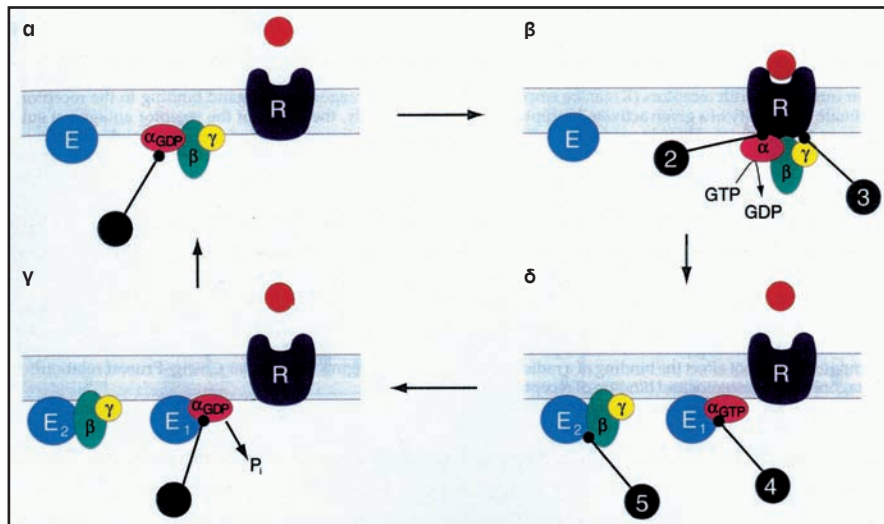


**Εικόνα 3.58: Εκλεκτικότητα των προσδετών με βάση τους μετασχηματισμούς του μορίου του υποδοχέα.** Στο παράδειγμα αυτό, ο ενδογενής αγωνιστής είναι σε θέση να αναγνωρίσει και τους 4 υποτύπους ενός υποδοχέα. Το φάρμακο που δρα ως εκλεκτικός αγωνιστής αναγνωρίζει και συνδέεται με τον έναν υποτύπο του υποδοχέα. Ο εκλεκτικός αγωνιστής που μπορεί να επιλέγει μόνο τη μία ενεργό μετασχηματισμένη μορφή του υποδοχέα θα έχει ακόμη πιο αυξημένη εκλεκτικότητα. *Trends Pharmacol. Sci 24, 2003*

GPCR και τους αντίστοιχους ενεργοποιητές που μεθοδεύουν τη βιολογική απάντηση του κυττάρου. Η φαρμακολογική έρευνα στοχεύει σε διάφορα σημεία του κύκλου των G-πρωτεϊνών, ώστε με εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις να τροποποιείται η ένταση του σήματος προς τους ενεργοποιητές. Ιδιαίτερα για το καρδιαγγειακό σύστημα οι δυνατότητες παρέμβασης θα είναι ιδιαίτερης σπουδαιότητας, δεδομένου ότι οι περισσότερες αγγειοδραστικές ενδογενείς ουσίες ασκούν τις ενέργειές τους μέσω υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνες. (37,46,74-76)

Μεταξύ των στόχων της έρευνας αυτής είναι οι θέσεις σύνδεσης των γουανινονουκλεοτιδίων, τα σημεία σύνδεσης υποδοχέα και G-πρωτεΐνης και τα σημεία σύνδεσης G-πρωτεΐνης και ενεργοποιητή. Οι στόχοι μπορεί να είναι τόσο οι ενδοεπιφάνειες της α-υπομονάδας και του ενεργοποιητή όσο και οι ενδοεπιφάνειες του βγ διμερούς και του ενεργοποιητή. Ένας άλλος στόχος είναι τα σημεία σύνδεσης των επιμέρους υπομονάδων του ετεροτριμερούς συμπλόκου το οποίο συνθέτει την G-πρωτεΐνη με τους ρυθμιστές RGS του σήματος που οι υπομονάδες αυτές μεθοδεύουν. Οι μέχρι τούδε υπάρχουσες ουσίες με παρόμοιες ενέργειες είναι πεπτιδικής δομής και δεν μπορούν να περάσουν εύκολα την κυτταρική μεμβράνη (55).

Εδώ και αρκετά χρόνια υπάρχει η δυνατότητα in vitro να ενισχύεται το σήμα που μεταφέρεται με τις G-πρωτεΐνες. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρησιμοποίηση τοξινών όπως η χολερική και εκείνη του κοκκύτη. Ο μηχανισμός ενίσχυσης του σήματος και για τις δύο τοξίνες οφείλεται στο γεγονός ότι μεταφέρουν από το Νικοταναμιδο-Αδενινοδινουκλεοτίδιο (NAD:Nicotinamide-Adenine-Dinucleotide) μια ομάδα ADP-ριβόζης προς μία κυστεΐνη που στη συνέχεια ενώνεται με τη G-πρωτεΐνη στο ίδιο σημείο σύνδεσης με την GTP. Η ενέργεια αυτή εμποδίζει τη σύνδεση της GTP με την G-πρωτεΐνη και ως εκ τούτου την ενεργοποίησή της. Επιπλέον, η χολερική τοξίνη αναστέλλει τη δράση της GTP-άσης και παρατείνει το χρόνο της δραστικής μορφής της G-πρωτεΐνης. Η μετα-



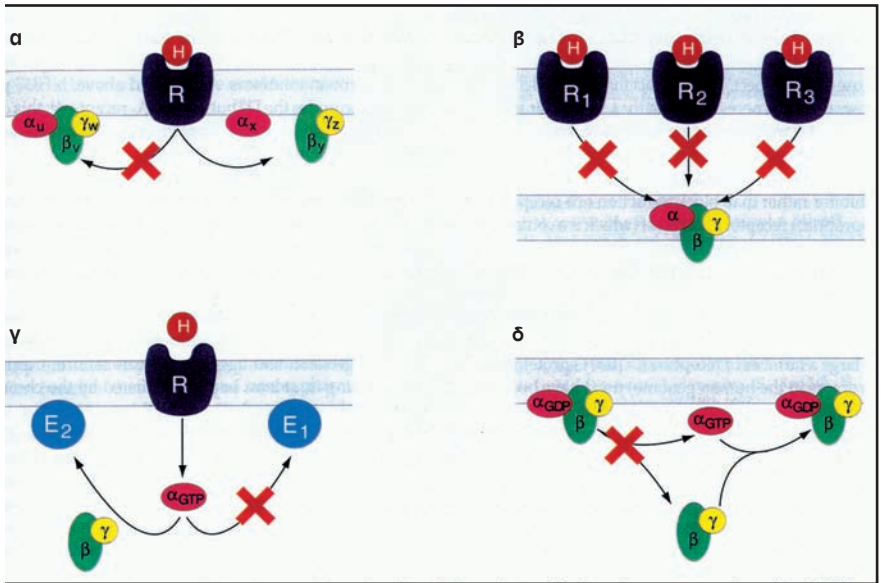
**Εικόνα 3.59:** Μηχανισμοί εκπομπής σήματος από την G-πρωτεΐνη και δυναμικές θέσεις φαρμακολογικών παρεμβάσεων. (α) Θέση ηρεμίας. (β) Απελευθέρωση της GDP κατά τη διέγερση του υποδοχέα. (γ) Απόσπαση υπομονάδας και ρύθμιση ενεργοποιητή. (δ) Απενεργοποίηση της υπομονάδας και επιστροφή στη θέση ηρεμίας. **Στόχοι:** (1α και 1β) Ο θύλακας σύνδεσης του γουανινονουκλεοτιδίου. (2) Η επιφάνεια επαφής του υποδοχέα με την α<sub>1</sub>-υπομονάδα της G-πρωτεΐνης. (3) Η επιφάνεια επαφής του υποδοχέα με το σύμπλοκο βγ της G-πρωτεΐνης. (4) Σημείο σύνδεσης α<sub>1</sub>-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης με τον ενεργοποιητή. (5) Σημείο σύνδεσης του συμπλόκου βγ της G-πρωτεΐνης με τον ενεργοποιητή. R (Receptor: Υποδοχέας), A (Agonist: Αγωνιστής), E (Effector: Ενεργοποιητής).

*Trends Pharmacol. Sci* 20, 1999

φορά των μεθόδων αυτών *in vivo* και η χρήση των τοξινών αυτών στην κλινική πράξη δεν κατέστη μέχρι σήμερα δυνατή (7,76).

Η σύνδεση υποδοχέα και G-πρωτεΐνης μπορεί να διευκολυνθεί με πεπτίδια που προέρχονται από τις αγκύλες του υποδοχέα και ιδιαίτερα από τα τμήματα που κείνται έναντι της κυτταρικής μεμβράνης. Κατάλληλη υποκατάσταση σε ορισμένες θέσεις των πεπτιδίων αυτών τα μετατρέπει σε ανταγωνιστές. Σε αντίθεση με τα πεπτίδια που προέρχονται από τις αγκύλες του υποδοχέα, τα πεπτίδια που προέρχονται από την α-υπομονάδα της G-πρωτεΐνης δρουν ως ανταγωνιστές της σύνδεσης του υποδοχέα με την πρωτεΐνη αυτή. Και τα δύο είδη πεπτιδίων δεν μπορούν να διεισδύσουν διά της κυτταρικής μεμβράνης και αυτό αποτελεί ένα σοβαρό πρόβλημα για μελλοντική κλινική χρήση. Είναι όμως δυνατόν *in vitro* να προκληθεί η σύνθεση αναλόγων των πεπτιδίων αυτών με τη διέγερση της έκφρασης αντίστοιχων γονιδίων. Ανάλογα πειράματα επετεύχθησαν και *in vivo* σε ποντίκια (77).

Ένας ακόμη από τους στόχους για φαρμακολογική παρέμβαση είναι ο θύλακας της α-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης ο οποίος αποτελεί και το σημείο σύνδεσης των γουανινονουκλεοτιδίων. Οι προσπάθειες αποκλεισμού της θέ-



**Εικόνα 3.60: Τύποι ανακοπής του σήματος από την G-πρωτεΐνη με τη χρήση πειραματικών αποκλειστών της πρωτεΐνης αυτής. (α) Εκλεκτικός αποκλεισμός της μίας G-πρωτεΐνης εκ των δύο ή περισσότερων G-πρωτεϊνών που συνδέονται με τον ίδιο υποδοχέα. (β) Ταυτόχρονος αποκλεισμός της μίας G-πρωτεΐνης που συνδέεται με πολλούς υποδοχείς. (γ) Εκλεκτικός αποκλεισμός της σύνδεσης της G-πρωτεΐνης με τον έναν από τους δύο ή περισσότερους ενεργοποιητές. (δ) Αναστολή της άνωμαλα υψηλής ενεργότητας στη φάση ηρεμίας. R (Receptor: Υποδοχέας), A (Agonist: Αγωνιστής), E (Effector: Ενεργοποιητής). *Trends Pharmacol. Sci* 20, 1999**

σης αυτής με τη χρησιμοποίηση παραγώγων της GTP απέβησαν μέχρι σήμερα άκαρπες. Οι λόγοι ήταν πολλοί, όπως η αδυναμία σύνθεσης παραγώγων με εκλεκτικότητα προς τη συγκεκριμένη, κάθε φορά, α-υπομονάδα, η δυσκολία διείσδυσης των προϊόντων αυτών διά της κυτταρικής μεμβράνης και η διάσπασή τους από τις νουκλεοτιδάσες (77).

Διάφορα πεπτιδία με προέλευση τους ιούς εντόμων έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά στο να διεγείρουν άμεσα *in vitro* την G-πρωτεΐνη. Από αυτά, η μαστοπαράνη-Χ και η μαστοπαράνη-S συνδέονται με την α<sub>1</sub>-υπομονάδα και την α<sub>2</sub>-υπομονάδα, αντίστοιχα, και σχηματίζουν η μεν πρώτη μια ορθή ευθεία α-έλικα η δε δεύτερη μια συνεστραμμένη α-έλικα. Πιστεύεται ότι με τη μορφή αυτή οι α-έλικες συνδέονται ευχερέστερα με τις ενδοκυττάρειες αγκύλες του υποδοχέα. Οι ανασυνδυασμένες αυτές πρωτεΐνες είναι σταθερές, πτυχώνονται σωστά, είναι πλήρως ενεργοί και ελπίζεται ότι έχουν όλες τις προϋποθέσεις για να περάσουν σε λειτουργικές δοκιμές. Ο προσδιορισμός της κατάλληλης συγκέντρωσης θα βοηθήσει ώστε να αποφευχθούν τοξικά φαινόμενα στην κυτταρική μεμβράνη (77).

Τα προβλήματα διεισδυτικότητας διά της κυτταρικής μεμβράνης έδωσαν ώθηση για τη σύνθεση ουσιών μη πεπτιδικής φύσεως οι οποίες ευρίσκονται στο στάδιο της έρευνας. Μεταξύ αυτών η σουμαρίνη, ένα φάρμακο που χρησιμοποιείται εναντίον των τρυπανοσωμάτων, θα μπορούσε να αποτελέσει τη βάση για τη σύνθεση προϊόντων που θα εμποδίζουν τη σύνδεση υποδοχέα και G-πρωτεΐνης ή, ακόμη περισσότερο, προϊόντων που θα είναι σε θέση να διασπούν το σύμπλοκο "αγωνιστής-υποδοχέα και G-πρωτεΐνη".

Η σύνθεση, επίσης, ουσιών που θα αναστέλλουν τη σύνδεση με τους ενεργοποιητές ευρίσκεται στο στάδιο της έρευνας. Χρειάζεται η εντόπιση και η μελέτη των σημείων σύνδεσης που διαφοροποιούν κάθε ενεργοποιητή, ώστε να καταστεί δυνατή η ανάπτυξη εκλεκτικών αναστολέων.

Ένα πολυδιάστατο πλέγμα ενδομοριακών και διαμοριακών αλληλεπιδράσεων κατευθύνει και ρυθμίζει την καταλυτική ενεργότητα της AC, τη διακίνησή της, την εγκατάστασή της στην κυτταρική μεμβράνη και τις υψηλού βαθμού συζεύξεις της με άλλα πρωτεϊνικά μόρια. Ειδικότερα, ο διμερισμός της AC φαίνεται να αποτελεί βασική προϋπόθεση για τη δυνατότητα του μορίου του ενζύμου αυτού να ενσωματώνεται σε ευμεγέθη πολυμερή σύμπλοκα. Ο διμερισμός αυτός σε συνδυασμό αφενός με τη δράση των ειδικών ρυθμιστών των διαφόρων ισομορφών της AC, αφετέρου με τους διαμερισματοποιητικούς μηχανισμούς της κυτταρικής μεμβράνης, αποτελούν τις συνιστώσες οι οποίες διέπουν την οργάνωση του ενζύμου αυτού στα σηματοδοτούντα συστήματα. Η εξακρίβωση των επιμέρους λεπτών μηχανισμών πιστεύεται ότι θα αναδείξει νέους μοριακούς στόχους για τη φαρμακολογική έρευνα (47).

Η ύπαρξη διαφορών δομής μεταξύ των διαφόρων GRKs κινάσων τις καθιστά στόχους φαρμακολογικής έρευνας για μελλοντικές εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Η διευκρίνιση των ακριβών μηχανισμών με τους οποίους οι κινάσες GRK αναγνωρίζουν τους συνδεδεμένους με τον αγωνιστή υποδοχείς και το πώς ακριβώς ενεργοποιούνται οι κινάσες αυτές για να φωσφορυλιώσουν τους υποδοχείς αυτούς, καθώς και η σαφής γνώση των ενεργών περιοχών της δομής του μορίου τους, θα δώσουν νέους φαρμακολογικούς στόχους για παρεμβάσεις που θα μπορούν να ρυθμίζουν τους μηχανισμούς απευαισθητοποίησης των υποδοχέων (63).

Ένα δυνητικό σημείο-στόχος της παραπάνω έρευνας είναι ο μηχανισμός σύνδεσης με την κυτταρική μεμβράνη. Ένα άλλο σημείο είναι αυτό της σύνδεσης με το σύμπλοκο  $Ca^{2+}$ -καλμοδουλίνης, το οποίο ασκεί ανασταλτική δράση στις κινάσες αυτές που κυμαίνεται σε ισχύ από είδος σε είδος κινάσης. Επίσης, άλλος στόχος είναι οι διάφορες κινάσες που φωσφορυλιώνουν τις GRKs οδηγώντας τις σε αδρανοποίηση και διάσπαση (61).

Τόσο η DAG όσο και οι εστέρες της φορβόλης μεθοδεύουν πολυάριθμες και βασικές κυτταρικές λειτουργίες. Η πλήρης διαλεύκανση των ενδοκυττάρων

υποδοχέων των ουσιών αυτών και η αξιολόγηση των μορίων που παρεμβάλλονται στις σηματοδοτικές αυτές οδούς πιστεύεται ότι θα θέσουν νέους στόχους στη φαρμακολογική έρευνα (55).

Όσον αφορά τους μηχανισμούς ενδοκυττάρωσης και αποδόμησης των υποδοχέων της  $(1,4,5)IP_3$  της μεμβράνης του ενδοπλασματικού δικτύου και τις σχέσεις τους με τους μηχανισμούς της ουμπικουϊτίνης, έχουν συντεθεί και κυκλοφορούν, όχι όμως για παθήσεις που έχουν σχέση με τα αγγεία, φάρμακα αναστολείς των πρωτεοσωματίων, όπως η βορτεζομίδη (15).

Τέλος, ο πολυμορφισμός των διαφόρων πρωτεϊνικών μορίων που συμμετέχουν στις σηματοδοτικές οδούς δημιουργεί ορισμένες φορές θεραπευτικά προβλήματα, ωστόσο, η πλήρης διερεύνηση του γενετικού κώδικα θα μπορέσει στο μέλλον να δώσει λύσεις για επιλεγμένες και πλέον αποδοτικές θεραπευτικές αγωγές. Το μέλλον της φαρμακογενετικής προοιωνίζεται λαμπρό (78).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Klein-Seetharaman J.: Dual role of interactions between membranous and soluble portions of helical membrane receptors for folding and signaling. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:183-189,2005
2. Marchese A., George S., Lee F.: Novel GPCRs and their endogenous ligands. Expanding the boundaries of physiology and pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:370-375,1999
3. Lefkowitz R.: Historical review. A brief history and personal retrospective of seven transmembrane receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 25: 413-422,2004
4. Howard A., McAlister G., Feighner S., Liu Q.: Orphan G-protein-coupled receptors and natural ligand discovery. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:132-140,2001
5. Maguire J., Devenport A.: Regulation of vascular reactivity by established and emerging GPCRs. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:448-454,2005
6. Buxton I.: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. In: Brunton L (ed). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw - Hill, New York pp 1-40,2006
7. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 2003
8. Durroux T.: Principles. A model for the allosteric interactions between ligand binding sites within a dimeric GPCR. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:376-384,2005
9. Bulenger S., Marullo S., Bouvier M.: Emerging role of homo-and heterodimerization in G-protein-coupled receptor biosynthesis and maturation. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:131-137, 2005
10. Morfis M., Christopoulos A., Sexton P.: RAMPs: 5 years on, where to now. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:596-601,2003
11. Κόκκας Β.: Διμερισμοί σε κυτταρικό επίπεδο και η πιθανή σημασία τους στη φαρμακολογική πράξη. *Επιστ. Επετ. Τμ. Ιατρ. Α.Π.Θ.* 29:153-159,2002
12. Devi L.: Heterodimerization of G-protein coupled receptors. Pharmacology, signaling and trafficking. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:532-537,2001
13. Marshall F., Jones K., Kaupmann K., Bettler B.: GABA<sub>B</sub> receptors. The first 7TM heterodimers. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:396-399,1999
14. Kilpatrick G., Dautzenberg F., Martin G., Eglen R.: 7TM receptors. The splicing on the cake. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:294-301,1999
15. Wojcikiewicz R.: Regulated ubiquitination of proteins in GPCR-initiated signaling pathways. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:35-41,2004
16. Hunyady L., Vauquelin G., Vanderheyden P.: Agonist induction and conformational selection during activation of a G-protein-coupled receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:81-85,2003
17. Milligan G., Bond R. and Lee M.: Inverse agonism. Pharmacological curiosity or potential therapeutic strategy? *Trends Pharmacol. Sci.* 16:10-13,1995
18. Perez M., Karnik S.: Multiple signaling states of G-protein coupled receptors. *Pharmacol. Rev.* 57:146-161,2005

19. Humphrey P., Spedding M., Vanhoute P.: Receptor classification and nomenclature. The revolution and the resolution. *Trends Pharmacol. Sci.* 15:203-204,1994
20. Κόκκας Β., Κουγιουμτζής Α.: Αντίστροφοι αγωνιστές των υποδοχέων που συνδέονται με πρωτεΐνη G. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 16: 133-143,1998
21. Adam R., Kas M.: Inverse agonism gains weight. *Trens Pharmacol. Sci.* 24:315-321,2003
22. Kenakin T.: Ligand-selective receptor conformations revisited. The promise and the problem. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:346-353,2003
23. Kenakin T.: Protean behavior. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:455,2002
24. Jensen A., Greenwood J., Brauner-Osborne H.: The dance of the clams. Twists and turns in the family C GPCR homodimer. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:491-493,2002
25. Costa T., Cotecchia S.: Historical review. Negative efficacy and constitutive activity of G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:618-624,2005
26. Milligam G., White J.: Protein-protein interactions at G-protein coupled receptors. *Sci.* 22:513518,2001
27. Schneider T., Igelmund P., Hescheler J.: G- protein interaction with K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> channels. *Trends Pharmacol. Sci.* 18: 8-11,1997
28. Spiegel A.: G- protein subtypes. Structural, identification and functional studies. In: Nahorski S (ed). "Transmembrane signalling. Intracellular messengers and implications for drug development" Wiley Interscience Publ., Νες Υορκ pp 31- 41,1990
29. Κόκκας Β.: G - Πρωτεΐνες. Προοπτικές της φαρμακολογίας του μέλλοντος. *Επιστ. Επετηρ. Ιατρ. Τμ. ΑΠΘ* 18, : 33-39,1991
30. Μακρυγιαννάκης Α., Γραβάνης Α.: Μοριακή φαρμακολογία των G - πρωτεϊνών. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.*, 1997, 15: 17-288
31. Kaziro Y., Itoh H., Kozasa T., Nakafuku M., Satoh T.: Structure and function of signal transducing GTP- binding proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 60: 349-400,1991
32. Dolphin A.: Nucleotide binding proteins in signal transduction and disease. *Trends Neurolog. Sci.* 10:53-57,1987
33. Albert P., Morris St.: Antisense knockouts. Molecular scalpels to the dissection of signal transduction. *Trends Pharmacol. Sci.* 15: 250-254,1994
34. Davis T., Bonacci T., Sprang S.:G-protein betagamma subunits associate with many partners in cellular signalling. *Biochemistry* 44:10593-10604,2005
35. Riobo N., Manning D.: Receptors coupled to heterotrimeric G proteins of the G<sub>12</sub> family. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:146-153, 2005
36. Meng E., Bourne H.: Receptor activation. What does the rhodopsin structure tell us?. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:587-593,2001
37. Freissmuth M., Waldhoer M., Bofill-Cardona E., Nanoff C.: G protein antagonists. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:237-245,1999

38. Kukkonen J., Nasman J., Akerman k.: Modelling of promiscuous receptor-G/ $G_s$  – protein coupling and effector response. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:616-622,2001
39. Birnbaumer L., Mattera R., Yatani A., VanDongen A., Graf R., Sanford J., Codina J., Brown A.: Roles of G- proteins in coupling of receptors to ionic channels. In: Nahorski St. (ed). "Transmembrane Signaling. Intracellular messengers and implications for drug development ". Wiley - Interscience Publ., New York pp 43- 71,1990
40. Cerione R.: Reconstitution of receptor / GTP - binding protein interactions. *Biochem. Biophys. Acta* 1071: 473-501,1991
41. Coleman R., Johnson M., Nials A., Vardey J.: Exosites. Their current status and their relevance to the duration of action of long-acting  $\beta$ -adrenoceptor agonists. *Trends Pharmacol. Sci.* 17: 324-329,1996
42. Nederkoon P., Timmerman H., Kelder G.: Does the ternary complex act as a secondary proton pump and a GTP synthase? *Trends Pharmacol. Sci.* 16:156-161,1995
43. Kenakin T.: Efficacy in drug receptor theory. Outdated concept or under-valued tool? *Trends Pharmacol. Sci.* 20:400-405,1999
44. Seifert R., Wenzel-Seifert K., Kobilka B.: GPCR-G $\alpha$  fusion proteins. Molecular analysis of receptor-G-protein coupling *Trends. Pharmacol. Sci.* 20:383-389,1999
45. Waelbvreck M.: Kinetics versus equilibrium. The importance of GTP in GRCP activation. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:477-481,1999
46. Helper J.: Emerging roles for RGS proteins in cell signalling. *Trends Pharmacol. Sci* 20: 376-381,1999
47. Cooper D., Crossthwaite A.: Higher-order organization and regulation of adenylyl cyclases. *Trends Pharmacol. Sci.* 27:426-432,2006
48. Dessauer C., Tesmer J., Sprang S., Gilman A.: The interactions of adenylate cyclase with P-site inhibitors. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:205-210,1999
49. Balla T., Bondeva T., Varnai P.: How accurately can we image inositol lipids in living cells? *Trends Pharmacol. Sci.* 21:238-241, 2000
50. College of Pharmacy, University of Michigan. Yahoo-Internet, 2005
51. Barnard E.: The transmitter - gated channels. A range of receptor types and structures. *Trends Pharmacol. Sci.* 17: 305 – 309,1996
52. Chuang T., Iacovelli L., Sallèse M. and Blasi A.: G - protein coupled receptors. Heterologous regulation of homologous desensitization and its implications. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:416-421,1996
53. Simonds W.: G protein regulation by adenylyl cyclase. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:6672,1999
54. Tucek S., Michal P., Vlachova V.: Modeling the consequences of receptor-G-protein promiscuity. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:171-176,2002
55. Yang C., Kazanietz M.: Divergence and complexities in DAG signaling. Looking beyond PKC *24:602-607,2003*



56. Jarvis S., Zamponi G.: Interactions between presynaptic Ca<sup>2+</sup> channels, cytoplasmic messengers and proteins of the synaptic vesicle release complex. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 519-525, 2001
57. Blumer J., Cismowski M., Sato M., Lanier S.: AGS proteins. Receptor-independent activators of G-protein signaling. *Trends Pharmacol. Sci.* 26: 470-475, 2005
58. Koenig J. and Edwardson J.: Endocytosis and recycling of G- protein - coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 18: 276 – 281, 1997
59. Smart D., Lambert D.: The stimulatory effects of opioids and their possible role in the development of tolerance. *Trends Pharmacol. Sci.* 17: 264-268, 1996
60. Wilkie T.: Treasures throughout the life-cycle of G-protein coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:396-397, 2001
61. Willets J., Challis J., Nahorski S.: Non-visual GRKs. Are we seeing the whole picture? *Trends Pharmacol. Sci.* 24:626-633, 2003
62. Clark R., Knoll b., Barber R.: Partial agonists G-protein-coupled receptor desensitization. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:279-286, 1999
63. Kozasa T.: The structure of the GRK2-Gβγ complex. Intimate association of G-protein signaling modules. *Trends Pharmacol. Sci.* 25: 61-63, 2004
64. Gurevich V., Gurevich E.: The molecular acrobatics of arrestin activation. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:105-11, 2004
65. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Μηχανισμοί διέγερσης και απευαισθητοποίησης των κυτταρικών υποδοχέων που είναι συνδεδεμένοι με πρωτεΐνη G. *Αρτηριακή Υπέρταση* 5: 69-75, 1996
66. Shenoy S., Lefkowitz R.: Seven-transmembrane signaling through beta-arrestin. *Sci STKE* 1:308-310, 2005
67. Hauke V.: Phosphoinoside regulation of clathrin-mediated endocytosis. *Biochim. Soc. Trans* 33:1285-1289, 2005
68. Kaksonen M., Toret C., Drubin D.: A modular design for the clathrin-and actin-mediated endocytosis machinery. *Cell* 123:305-320, 2005
69. Koenig J. and Edwardson J.: Endocytosis and recycling of G- protein - coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 1997, 18: 276-281, 1997.
70. Mortis M., Christopoulos A., Sexton P.: RAMPs. 5 years on, where to know? *Trends Pharmacol. Sci.* 24:596-601, 2003
71. Maguire J., Devenport A.: Regulation of vascular reactivity by established and emerging GPCRs. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:448-454, 2005
72. Clementi E., Borgese N., Meldolesi J.: Interactions between nitric oxide and sphingolipids and potential consequences in physiology and pathology. GPCRs. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:518-523, 2003
73. Hunyady L., Vauquelin G., Vanderheyden P.: Agonist induction and conformational selection during activation of a G-protein-coupled receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:81-85, 2003
74. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: G πρωτεΐνες και καρδιαγγειακό σύστημα.

- Στόχοι για φαρμακολογικές παρεμβάσεις. *Αρτηριακή Υπέρταση* 8: 55-61,1999
75. Freissmuth M., Waldhoer M., Cardona-Bofili M., Nanoff Ch.: G protein antagonists. *Trends Pharmacol. Sci.* 20: 237-245,1999
  76. O'Neal C., Jobling M., Holmes R., Hol W.: Structural basis for the activation of cholera toxin by human ARF6-GTP. *Science* 309:1093-1096,2005
  77. Saar K., Lindren M., Hansen M.: Cell penetrating peptides. A comparative membrane toxicity study. *Anal Biochem.* 345:55-65,2005
  78. Κόκκας Β.: Γενετικός πολυμορφισμός και φάρμακα. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 15: 157-166,1997

## ΤΕΤΑΡΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### **ΠΥΡΗΝΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ, ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΑ**

Β. Α. Κόκκας, Α. Γ. Γούλας και Κ. Α. Παπαδόπουλος

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι πυρηνικοί υποδοχείς αποτελούν μέλη μιας μεγάλης οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων που διεγείρόμενοι από κατάλληλους προσδέτες προάγουν τη μεταγραφή, επιδρώντας άμεσα στο επίπεδο του DNA. Πρόκειται για πρωτεΐνες που στο μόριό τους περιλαμβάνουν έναν τομέα σύνδεσης με το DNA και έναν άλλο για τη σύνδεση με τον προσδέτη. Τα γονίδια που ενεργοποιούν οι υποδοχείς των οιστρογόνων αφορούν τη σύνθεση πρωτεϊνών που τροποποιούν την κάθαρση των λιπιδίων καθώς, επίσης, και τη σύνθεση ουσιών που επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο, την καρδιακή συσταλτικότητα και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Οι πυρηνικοί υποδοχείς των γλυκοκορτικοειδών αναστέλλουν, μεταξύ άλλων, τη σύνθεση διαφόρων κυτταροκινών που έχουν σχέση με τη φλεγμονή. Οι υποδοχείς οι ενεργοποιούμενοι από τον πολλαπλασιαστή των υπεροξεισωματίων (PPAR: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors) ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων εκείνων τα οποία κωδικοποιούν παράγοντες που ελέγχουν την ενεργειακή ομοιόσταση και το μεταβολισμό των λιπιδίων και της γλυκόζης. Οι πυρηνικοί υποδοχείς αποτελούν έναν εξαιρετικό στόχο για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων που θα παρεμβάλλονται στη γονιδιακή μεταγραφή. Συνθετικοί αγωνιστές και αποκλειστές πολλών πυρηνικών υποδοχέων χρησιμοποιούνται σήμερα στην κλινική πράξη. Η καλύτερη γνώση της δομής και των λειτουργιών που επιτελούνται από τους υποδοχείς αυτούς θα επιτρέψει τη σύνθεση περισσότερο εκλεκτικών φαρμάκων με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες.

## Εισαγωγή

Οι πυρηνικοί υποδοχείς αποτελούν μέλη μιας μεγάλης οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων που διεγείρονται από κατάλληλους προσδέτες προάγουν τη μεταγραφή επιδρώντας άμεσα στο επίπεδο του DNA. Πρόκειται για πρωτεΐνες που στο μόριό τους περιλαμβάνουν έναν τομέα σύνδεσης με το DNA και έναν άλλο για τη σύνδεση με τον προσδέτη.

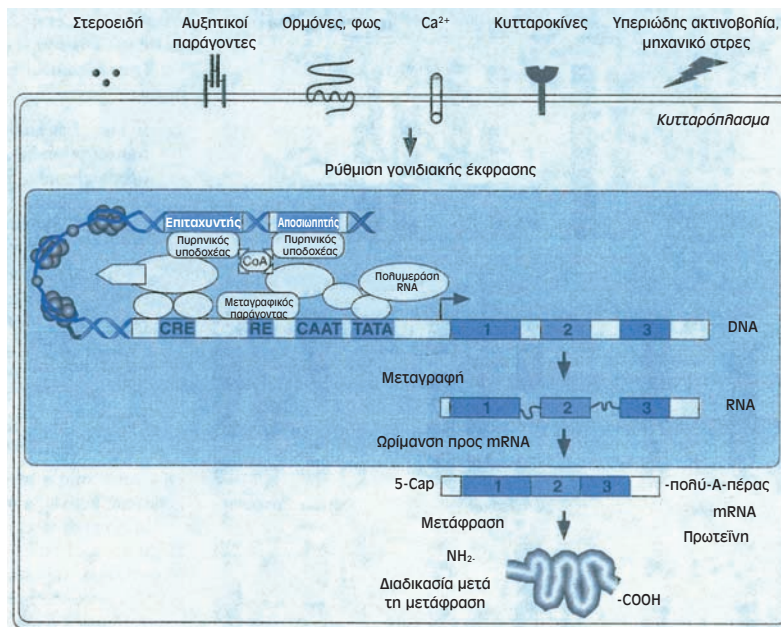
Το γονιδίωμα του ανθρώπου αποτελείται από 30.000-32.000 γονίδια τα οποία συνδυαζόμενα μεταξύ τους υπολογίζεται ότι κωδικοποιούν τη μεταγραφή και σύνθεση περίπου 200.000 πρωτεϊνών, πολλών από τις οποίες ο λειτουργικός ρόλος είναι άγνωστος. Η συντονισμένη έκφραση των γονιδίων είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική εξέλιξη και λειτουργία του οργανισμού. (1)

Η μεταγραφή γίνεται, ως γνωστόν, σε επίπεδο DNA, αλλά η πρωτεϊνική σύνθεση λαμβάνει χώρα στα ριβοσωμάτια. Η πληροφορία μεταδίδεται από το ένα σημείο στο άλλο με το mRNA το οποίο συντίθεται κατά τη φάση της μεταγραφής, που ακολουθεί τη φάση της διέγερσης των γονιδίων, και το ένζυμο που διέπει τη σύνθεση αυτή είναι η RNA πολυμεράση II (1,2).

Οι πυρηνικοί υποδοχείς αποτελούν μέλη της μεγάλης οικογένειας των μεταγραφικών παραγόντων. Ανήκουν στους μεταγραφικούς παράγοντες στους οποίους τα τμήματα που συνδέονται με το DNA συναρμολογούνται με  $Zn^{2+}$ . Ο  $Zn^{2+}$  βοηθά στη σταθεροποίηση μιας α-έλικας η οποία προβάλλει στο χώρο "δίκηνη δακτύλου" και έρχεται σε επαφή με την αύλακα της διπλής έλικας του DNA, γι' αυτό και η περιοχή αυτή του μεταγραφικού παράγοντα ονομάζεται "δάκτυλος ψευδαργύρου" (3-7).

Το χαρακτηριστικό γνώρισμα των πυρηνικών υποδοχέων που τους διαφοροποιεί από τους άλλους μεταγραφικούς παράγοντες είναι ότι αυτοί έχουν τη δυνατότητα να συνδέονται άμεσα με ορμονικούς παράγοντες ή μεταβολικά προϊόντα και να προάγουν τη μεταγραφή σε επίπεδο DNA αντιδρώντας άμεσα με το αντίστοιχο γονίδιο, ενώ μπορούν, επίσης, να ρυθμίζουν τις δραστηριότητες και άλλων βιοχημικών οδών. Μέχρι στιγμής είναι οι μόνοι μεταγραφικοί παράγοντες που ρυθμίζονται απευθείας από τα κυκλοφορούντα φάρμακα (3,4).

Στις γραμμές που ακολουθούν γίνεται εν συντομία μια αναφορά στη δομή και τους μηχανισμούς ενεργοποίησης των πυρηνικών υποδοχέων και στη συνέχεια περιγράφονται οι ενέργειες δύο εξ αυτών που ενδιαφέρουν το καρδιαγγειακό σύστημα. Πρόκειται για τους υποδοχείς των στεροειδών ορμονών και τους υποδοχείς που ενεργοποιούνται από τον πολλαπλασιαστή των υπεροξεισωματίων (PPAR: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors). Τα γονίδια που ενεργοποιούν οι υποδοχείς των οιστρογόνων αφορούν τη σύνθεση πρωτεϊνών που τροποποιούν την κάθαρση των λιπιδίων, καθώς, επίσης, και τη σύνθεση ουσιών που επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο, την καρδιακή συσταλτικότητα και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Οι πυρηνικοί υποδοχείς των γλυκοκορτικο-



**Εικόνα 4.1: Μηχανισμοί μεταγραφής και πορεία της γενετικής πληροφορίας.** Πολλαπλά εξωκυττάρια ερεθίσματα ενεργοποιούν καταρράκτες ενδοκυττάρων σημάτων τα οποία διεγείρουν τη γονιδιακή έκφραση μέσω των αλληλεπιδράσεων των μεταγραφικών παραγόντων με τις ρυθμιστικές περιοχές του γονιδίου. Στη συνέχεια, η RNA πολυμεράση μεταγράφει το DNA σε RNA, το οποίο μετατρέπεται σε mRNA με την αποκοπή και απομάκρυνση των introns. Το mRNA μεταφέρει τον κώδικα στα ριβοσωμία όπου γίνεται η μετάφραση και συντίθενται οι πρώιμες πρωτεΐνες οι οποίες στη συνέχεια μετατρέπονται σε ώριμες, ύστερα από διάφορες μεταμεταφραστικές διαδικασίες. Η περιοχή του γονιδίου που είναι αριστερά της RNA πολυμεράσης αποτελεί την περιοχή αναγνώρισης και επιλογής των σημάτων και διέγερσης του γονιδίου. Η περιοχή δεξιά της RNA πολυμεράσης αποτελεί τη μεταγραφόμενη περιοχή που αποτελείται από τα exons και τα introns. Σε τελική φάση, μόνο τα exons μεταγράφονται. HAT (Histone Acetyl Transferase: Ακετυλοτρανσφεράση της Ιστόνης), CBP (CREB-Binding protein: Πρωτεΐνη συνδεόμενη με το CREB), CREB (cyclic AMP Response Element Binding Protein: Πρωτεΐνη Συνδεόμενη με το Στοιχείο Ανταπόκρισης της κυκλικής AMP), Coa (Coactivator: Συνεργοποιητής), TAF (TBP Associated Factors: Παράγοντες Σχετιζόμενοι με την TBP), GTF (General Transcription Factors: Γενικοί Μεταγραφικοί Παράγοντες), TBT (Tata Binding Protein: Πρωτεΐνη Συνδεόμενη με το κιβώτιο Tata), TATA (TATA box: κιβώτιο TATA), RE (Response Element: Στοιχείο Ανταπόκρισης), NH<sub>2</sub> (Aminoterminus: Αμινικό πέρας), COOH (Carboxylterminus: Καρβοξυλικό πέρας).

*Braunwalde, et al (eds). Harrison's. Principles of Internal Medicine, 2001*

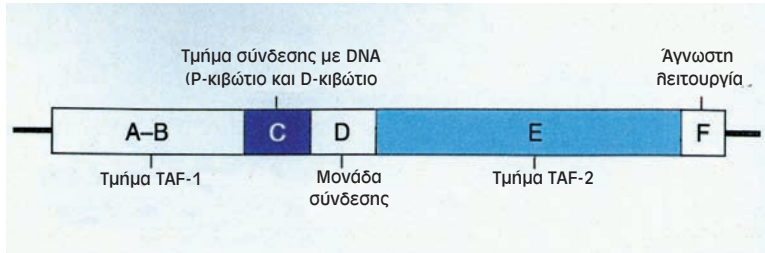
ειδών αναστέλλουν, μεταξύ άλλων, τη σύνθεση διαφόρων κυτταροκινών που έχουν σχέση με τη φλεγμονή, βασική εκδήλωση κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Οι υποδοχείς PPARs ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων εκείνων τα οποία κωδικοποιούν παράγοντες που ελέγχουν την ενεργειακή ομοιόσταση και το μεταβολισμό των λιπιδίων και της γλυκόζης.

Οι πυρηνικοί υποδοχείς αποτελούν σήμερα έναν εξαιρετικό στόχο για φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Ως εκ τούτου, θεωρείται αυτονόητο να γίνει αναφορά τόσο στα σύγχρονα φάρμακα που δρουν στο επίπεδο των πυρηνικών υποδοχέων που αφορούν το καρδιαγγειακό σύστημα όσο και στις ερευνητικές προσπάθειες που αποσκοπούν στη διεύρυνση παρόμοιων εκλεκτικών φαρμακολογικών παρεμβάσεων.

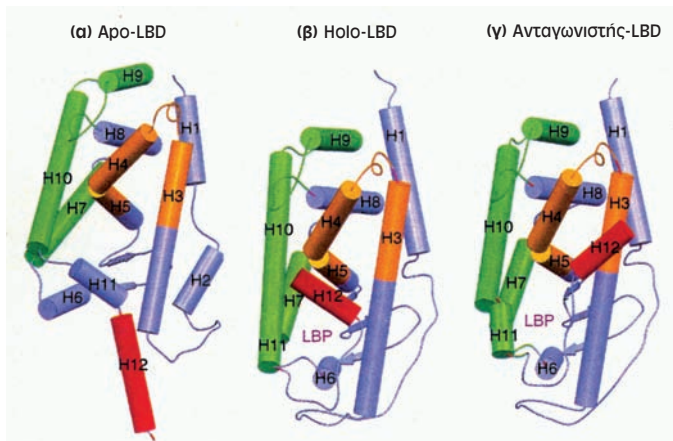
### Δομή των πυρηνικών υποδοχέων

Οι πυρηνικοί υποδοχείς είναι διαλυτές πρωτεΐνες χωρίς μεμβρανική εισδοχή που έχουν σημεία σύνδεσης με το DNA. Συγκεκριμένα, οι υποδοχείς αυτοί είναι πολυπεπτίδια με ένα αμινικό N-πέρας και ένα άλλο καρβοξυλικό C-πέρας. Αρχίζοντας από τα αριστερά προς τα δεξιά, δηλαδή από την περιοχή του N-πέρατος, διαπιστώνουμε την ύπαρξη των παρακάτω τμημάτων:

Τα A-B τμήματα που αντιπροσωπεύουν τη δυνατότητα ενεργοποίησης χωρίς την παρουσία προσδέτη και χαρακτηρίζονται ως AF-1 τομέας. Ακολουθεί το C-τμήμα που περιλαμβάνει την περιοχή σύνδεσης με το DNA και περιέχει δύο δακτύλους ψευδαργύρου. Το τμήμα αυτό περιλαμβάνει δύο σχηματισμούς ή κιβώτια: το P-κιβώτιο (box) ή έλικα αναγνώρισης που αντιδρά απευθείας με ειδικές εξαμερείς αλληλουχίες στο DNA και ένα D-κιβώτιο που είναι υπεύθυνο για την επιλογή των αποστάσεων στη περιοχή σύνδεσης με το DNA. Το D τμήμα είναι μια περιοχή που έχει χαρακτήρα άρθρωσης με μήκος που ποικίλλει. Τέλος, τα E-F τμήματα του C-πέρατος χαρακτηρίζονται ως τομέας AF-2 και διέπουν πολλές λειτουργίες, μεταξύ των οποίων την ένωση με τον προσδέτη, την ενεργοποίηση από την πρόσδεση αυτή, τη μετακίνηση του υποδοχέα προς τον πυρήνα και το διμερισμό του υποδοχέα. Ειδικότερα, στον AF-2 τομέα υπάρχει μία περιοχή που χαρακτηρίζεται ως περιοχή ενεργοποίησης (AD: Activation Domain) και παίζει καθοριστικό ρόλο στη σύνδεση του προσδέτη, αλλάζοντας συμπεριφορά ανάλογα με το αν ο τελευταίος είναι αγωνιστής, μερικός αγωνιστής ή αποκλειστής. Στην περιοχή αυτή υπάρχει ο υποτομέας σύνδεσης με τον προσδέτη (LBD:Ligand Binding Domain). Το άνω ήμισυ του υποτομέα LBD αποτελείται από τις έλικες H1,H4,H5,H7,H8,H9 και H10 και αντιστοιχεί σε μια περιοχή που δεν μεταβάλλεται κατά τις διάφορες φάσεις ενεργοποίησης και απενεργοποίησης του πυρηνικού υποδοχέα. Το κατώτερο τμήμα του υποτομέα LBD περιέχει έναν θύλακα σύνδεσης με τον προσδέτη (LBP: Ligand Binding Pocket) και έλι-



**Εικόνα 4.2: Δομή του πυρηνικού υποδοχέα.** Οι υποδοχείς αυτοί είναι πολυπεπτίδια με έξι τμήματα, ένα αζωτούχο N-πέρας και ένα άλλο ανθρακικό C-πέρας. Αρχίζοντας από τα αριστερά προς τα δεξιά καταγράφονται: Το τμήμα **A-B** χαρακτηρίζεται και ως TAF-1 (Transactivation Function-1) ή AF-1 (Activation Function-1) και αντιστοιχεί σε μια μονάδα που λειτουργεί αυτόματα και είναι ανεξάρτητη από τη σύνδεση με οιοδήποτε προσδέτη. Το τμήμα **C** αντιστοιχεί στη μονάδα σύνδεσης με το DNA και ονομάζεται DNA-BD (DNA Binding Domain). Το τμήμα **D** λειτουργεί ως αρμός για τον πυρηνικό υποδοχέα. Το τμήμα **E** χρησιμεύει για τη σύνδεση του προσδέτη και εξυπηρετεί και τους μηχανισμούς διμερισμού του υποδοχέα. Το τμήμα αυτό χαρακτηρίζεται ως TAF-2 (Transactivation Function-2) ή AF-2 (Activation Function-2), ευρίσκεται εγγύτερα προς την πλευρά του C-πέρατος και ενεργοποιείται μόνο παρουσία προσδέτη. Το τμήμα **F** εγγύς του C-πέρατος δεν εμφανίζεται σε όλους τους πυρηνικούς υποδοχείς και ο λειτουργικός ρόλος του παραμένει άγνωστος. *Trends Pharmacol. Sci. 21,2000*



**Εικόνα 4.3: Σχηματική παράσταση των τριών μορφών μετασηματισμού της περιοχής σύνδεσης LBD (Ligand Binding Domain) του μορίου του ρετινοειδούς X πυρηνικού υποδοχέα με τον προσδέτη.** (α) Υποδοχέας ελεύθερος-κατάσταση Apo. (β) Υποδοχέας συνδεδεμένος με αγωνιστή-κατάσταση Holo. (γ) Υποδοχέας συνδεδεμένος με ανταγωνιστή. Βλέπε κείμενο. *Trends Pharmacol. Sci. 21,2000*

κες όπως οι H3, H11 και H12. Αποτελεί μια περιοχή που μεταβάλλεται ανάλογα με τη φάση στην οποία ευρίσκεται ο πυρηνικός υποδοχέας (3,4,8).

### Μηχανισμός ενεργοποίησης

Οι πυρηνικοί υποδοχείς ενώνονται είτε με τον προσδέτη, ο οποίος λόγω λιποδιαλυτότητας μπορεί και εισδύει δια της κυτταρικής μεμβράνης, είτε με κυτταρικά μεταβολικά προϊόντα. Κάθε προσδέτης που θα ενωθεί με τον πυρηνικό υποδοχέα προκαλεί μεταβολές στη στερεοχημική διάταξη του τελευταίου, που έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή της λειτουργικής συμπεριφοράς του. Οι αλλαγές αυτές δεν είναι πάντα οι ίδιες, αλλά εξαρτώνται από το αν ο προσδέτης είναι αγωνιστής, μερικός αγωνιστής ή αποκλειστής (2,3,4).

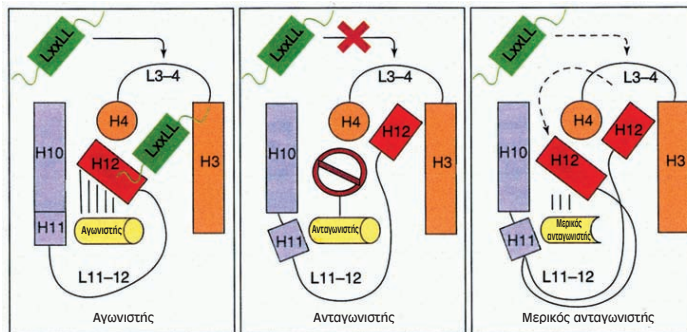
Μεταξύ των αγωνιστών προσδετών αναφέρονται στεροειδείς ορμόνες, προσταγλανδίνες, λιπαρά οξέα, χολικά οξέα και υδροξυστερόλες, καθώς και συνθετικά μικρά μόρια. Με την ενεργοποιητική τους δράση προάγουν την κυτταρική μεταγραφή σε επίπεδο DNA (2,3,4).

Ορισμένοι πυρηνικοί υποδοχείς, όπως εκείνοι των οιστρογόνων, εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα. Άλλοι, όμως, πυρηνικοί υποδοχείς ευρίσκονται εξ αρχής στον πυρήνα συνδεδεμένοι με το DNA. Οι πυρηνικοί υποδοχείς δραστηριοποιούνται είτε με τη μορφή ομοιοδιμερών, όπως συμβαίνει με τον υποδοχέα της θυρεοειδικής ορμόνης, είτε με τη μορφή ετεροδιμερών, όπως οι υποδοχείς PPARs και σπάνια ως μονομερή, όπως οι αντίστοιχοι των οιστρογόνων (3).

Με την ένωση του αγωνιστή με τον υποδοχέα ξεκινά ο μηχανισμός μεταγραφής. Αμέσως μόλις ενωθεί ο αγωνιστής με τον υποδοχέα, ο τελευταίος αλλάζει στερεοχημική διάταξη και αποκτά μεταγραφικές δυνατότητες. Η ένωση αγωνιστή - υποδοχέα αποκαλύπτει τμήμα της πρωτεΐνης του υποδοχέα το οποίο αναγνωρίζει αλληλουχίες που ονομάζονται στοιχεία ανταπόκρισης (Response Elements) και ευρίσκονται στον προαγωγέα (Promoter) ή υποκινητή του DNA, κοντά στα γονίδια που πρόκειται να μεταγραφούν. Επίσης η σύνδεση του πυρηνικού υποδοχέα με τον αγωνιστή προκαλεί μεταβολή της δομής του υποδοχέα που του επιτρέπει να σχηματίσει σύμπλοκα με συν-ενεργοποιητές που ακετυλιώνουν τις ιστόνες. Η κατάσταση αυτή προετοιμάζει τους προαγωγείς του DNA για αποδέσμευση της δραστηριότητας λόγω αποσυμπύκνωσης της χρωματίνης. Με την αποσυμπύκνωση της χρωματίνης σχηματίζεται ένα δεύτερο σύμπλοκο του υποδοχέα με άλλες πρωτεΐνες που ονομάζονται, ανάλογα με τον υποδοχέα αλληλεπιδρώσες ή συνδεόμενες πρωτεΐνες. Το νέο αυτό σύμπλοκο προάγει τη σύνδεση με τον βασικό μηχανισμό μεταγραφής του DNA, γεγονός που ενεργοποιεί το γονίδιο στόχο (4,9,10).

Η μοριακή μηχανή που ρυθμίζει τη δραστηριότητα των γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες αποτελείται από περισσότερες από δώδεκα υπομονά-

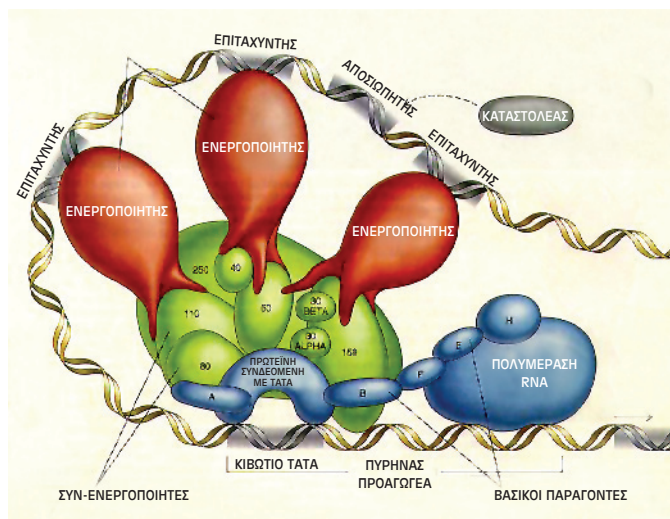




**Εικόνα 4.4.: Σχηματική παράσταση των τριών μορφών μετασηματισμού του μορίου του πυρηνικού υποδοχέα μετά τη σύνδεση με τον προσδέτη. (αριστερά)** Η ένωση του αγωνιστή με τον πυρηνικό υποδοχέα προκαλεί αφενός την επαναδιευθέτηση δομικών στοιχείων όπως οι έλικες H3 και H4 και η αγκύλη 3-4, αφετέρου την ενεργοποίηση της έλικας H12, με αποτέλεσμα να προσδιορίζεται η επιφάνεια σύνδεσης με το συν-ενεργοποιητή. **(κέντρο)** Παρουσία αποκλειστή, το τμήμα LBD ευρίσκεται σε μια διαμόρφωση που χαρακτηρίζεται από την αδυναμία της έλικας H12 να πάρει τη θέση που καταλαμβάνει στην ενεργό κατάσταση Holo. Λόγω της εκτόπισης της έλικας H12, υπάρχει αδυναμία σχηματισμού της επιφάνειας εκείνης η οποία είναι απαραίτητη για τη σύνδεση του πυρηνικού υποδοχέα με τον αντίστοιχο ενεργοποιητικό παράγοντα. Η κατάσταση αυτή εμποδίζει την παραπέρα μετάδοση του σήματος. **(δεξιά)** Παρουσία μερικού αγωνιστή, η τοποθέτηση της έλικας H12 σε ενεργό θέση δεν εμποδίζεται από τον προσδέτη πλην όμως η ενεργός διαμόρφωση δεν σταθεροποιείται επαρκώς και η κατάσταση ενεργοποίησης είναι παροδική. *Trends Pharmacol. Sci. 21,2000*

δες που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Από αυτούς, οι ενεργοποιητές (activators) συνδέονται με τα σημεία του γονιδίου που ονομάζονται ενισχυτές ή επιταχυντές (enhancers) και οι καταστολείς (repressors) με τα σημεία του γονιδίου που ονομάζονται αποσιωποποιητές (silencers). Οι ενεργοποιητές βοηθούν να καθορισθεί ποια γονίδια θα διεγερθούν και επιταχύνουν τη μεταγραφή. Οι καταστολείς παρεμβάλλονται στη λειτουργία των επιταχυντών και επιβραδύνουν τη μεταγραφή. Οι συν-ενεργοποιητές μεταδίδουν το σήμα από τους ενεργοποιητές προς τους βασικούς παράγοντες οι οποίοι, με τη σειρά τους, θα τοποθετήσουν την RNA πολυμεράση στην αρχή της περιοχής του γονιδίου που περιέχει τους κώδικες. Αντίθετα, οι συν-καταστολείς παράγοντες δρουν ανασταλτικά στη μετάδοση του σήματος. Στο αρχικά συντιθέμενο RNA μεταγράφονται και τα introns και τα exons. Ακολουθούν διαδικασίες αποκοπής και ο σχηματισμός πλέον του mRNA όπου έχουν μεταγραφεί τα εξώνια (exons) του γονιδίου και όχι τα εσώνια (introns). Διαταραχές της μεταγραφής που καταλήγουν στο να μεταφέρει το mRNA και στοιχεία από τα introns οδηγούν στη σύνθεση παθολογικών πρωτεϊνών (11).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, παράγοντες που δρουν ως συν-ενεργοποιητές ή ως συν-καταστολείς επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά την ενεργοποίηση του πυρηνικού υποδοχέα. Πιστεύεται ότι πολλοί συν-ενεργοποιητές έχουν ενδογενή



**Εικόνα 4.5: Σχηματική παράσταση της διέγερσης του γονιδίου προς μεταγραφή.** Διακρίνονται η σύνδεση των ενεργοποιητών με τα σημεία του γονιδίου που ονομάζονται επιταχυντές και η σύνδεση των καταστολέων με τους αποσιωπητές του γονιδίου. Επίσης διακρίνονται οι συν-ενεργοποιητές, καθώς μεταδίδουν το σήμα από τους ενεργοποιητές προς τους βασικούς παράγοντες, οι οποίοι, με τη σειρά τους, θα τοποθετήσουν την RNA πολυμεράση στην αρχή της περιοχής του γονιδίου που περιέχει τους κώδικες (αναγνωστικό πλαίσιο).

*Scientific American 272,1995*

ενεργότητα ακετυλοτρανσφεράσης της ιστόνης που μετατρέπει τη χρωματίνη σε πλέον ενεργό μορφή. Οι συν-καταστολείς αντιδρούν με τους ελεύθερους υποδοχείς και απομακρύνονται όταν οι τελευταίοι συνδεθούν με προσδέτη. Πιστεύεται ότι καταστέλλουν την μεταγραφή διότι κινητοποιούν σύμπλοκα αποακετυλάσης της ιστόνης. Η υποακετυλίωση των πρωτεϊνών ιστόνης συσχετίζεται με ελαττωμένη μεταγραφική ικανότητα (3,4).

Από μελέτες που έχουν γίνει στον υποδοχέα  $ER_A$  των οιστρογόνων έχει διαπιστωθεί ότι η έλικα 12 του AF-2 τομέα παίζει σπουδαίο ρόλο στη διέγερση ή τον αποκλεισμό του υποδοχέα. Παρουσία αγωνιστών όπως η οιστραδιόλη και η διαιθυλστυλβεστρόλη, η έλικα 12 του AF-2 τομέα καταλαμβάνει έναν χώρο που ευρίσκεται πάνω από το θύλακα σύνδεσης με τον προσδέτη, εκθέτοντας με τον τρόπο αυτό υπόλοιπα αμινοξέων του AF-2 τομέα που είναι βασικής σημασίας για τη σύνδεση του συν-ενεργοποιητή. Παρουσία, όμως, αποκλειστών όπως η ταμοξιφένη, η έλικα 12 μετακινείται και καταλαμβάνει τη σχισμή που προορίζεται για το συν-ενεργοποιητή, με αποτέλεσμα να μην μπορεί ο τελευταίος να πλησιάσει τα υπόλοιπα αμινοξέων του AF-2 τομέα. Με τον τρόπο αυτό παρεμποδίζεται η διαδικασία μεταγραφής στο επίπεδο του DNA (3).

## Πυρηνικοί υποδοχείς των στεροειδών ορμονών

Τόσο τα οιστρογόνα όσο και τα γλυκοκορτικοειδή έχουν άμεσες και έμμεσες ενέργειες στο καρδιαγγειακό σύστημα, οι οποίες αναπτύσσονται στη συνέχεια.

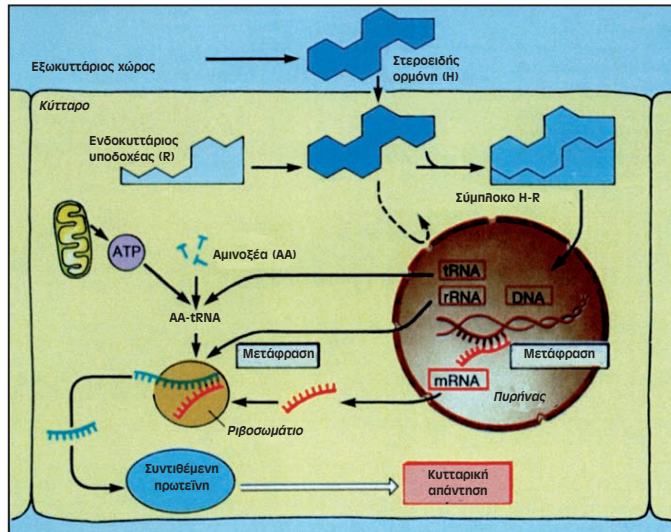
Τα οιστρογόνα είναι λιπόφιλες ουσίες που έχουν τη δυνατότητα να διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη και να συναντούν στον ενδοκυττάριο χώρο τους αντίστοιχους πυρηνικούς υποδοχείς τους. Σήμερα, έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη δύο υποομάδων υποδοχέων, των υποδοχέων ER<sub>A</sub> και ER<sub>B</sub>. Πρόκειται για διαφορετικές πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από διαφορετικά γονίδια. Κοινός ενδογενής αγωνιστής είναι η 17β- οιστραδιόλη, η οποία δεν μπορεί να κάνει διάκριση μεταξύ αυτών.

Οι πυρηνικοί υποδοχείς των οιστρογόνων ευρίσκονται, όπως ήδη έχει αναφερθεί, στο κυτταρόπλασμα, συνδεδεμένοι με πρωτεΐνη θερμικής καταπληξίας 90 (HSP90: Heat shock protein 90). Μόλις ο υποδοχέας αυτός ενωθεί με τα οιστρογόνα, η HSP90 απομακρύνεται και το σύμπλεγμα "οιστρογόνο-υποδοχέας" πορεύεται προς τον πυρήνα και διεγείρει τη μεταγραφή στο αντίστοιχο γονίδιο στο DNA.

Οι υποδοχείς ER<sub>A</sub> και ER<sub>B</sub> απαντούν στο καρδιαγγειακό σύστημα και ιδιαίτερα έχει εξακριβωθεί η ύπαρξή τους στο ενδοθήλιο. Οι δεύτεροι υπερτερούν στα θήλεα στις λείες μυϊκές ίνες των αρτηριών, ενώ στους άνδρες υπάρχει ισότιμη κατανομή. Πολυμορφισμός των ER<sub>B</sub> – υποδοχέων έχει συσχετισθεί με αρτηριακή υπέρταση. Τα γονίδια που ενεργοποιούν οι υποδοχείς αυτοί αφορούν στη σύνθεση πρωτεϊνών που τροποποιούν την κάθαρση των λιπιδίων, καθώς, επίσης, και στη σύνθεση ουσιών που επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο, όπως είναι η συνθάση του NO, στην καρδιακή συσταλτικότητα και στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Δεν πρέπει, επίσης, να λησμονείται ότι τα οιστρογόνα διαθέτουν, εκτός των πυρηνικών υποδοχέων, υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη, ενώ δεν είναι ξεκάθαρο ποιες δράσεις μεθοδεύονται από αυτούς (12).

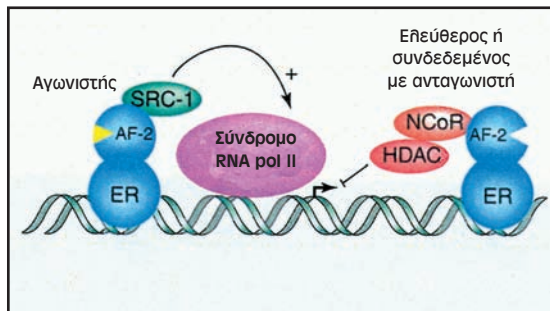
Τα οιστρογόνα διαθέτουν μια πολλαπλότητα μηχανισμών δημιουργίας ενδοκυττάριου σήματος. Ασκούν ενέργειες μέσω τόσο των πυρηνικών υποδοχέων όσο και των υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης. Ενδοκυττάρια σηματοδοτικές οδοί που πυροδοτούνται από τα οιστρογόνα αλληλεπιδρούν και διεγείρουν κινάσες και μεταγραφικούς παράγοντες, ενώ η αντιοξειδωτική δράση των ουσιών αυτών φαίνεται ότι οφείλεται σε άμεση αντίδραση των οξειδωτικών παραγόντων με τη φαινολική ομάδα του μορίου των (13).

Τα φυσιολογικώς παραγόμενα οιστρογόνα προάγουν την αγγειοδιαστολή και ελαττώνουν την αντίδραση στον αγγειακό τραυματισμό. Δρουν ανασταλτικά στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης, διότι βελτιώνουν τη λιποπρωτεϊνική σύνθεση του πλάσματος, παρόλο που αυξάνουν ελαφρά τα τριγλυκερίδια. Συμμετέχουν στην αγγειακή προστασία διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό και



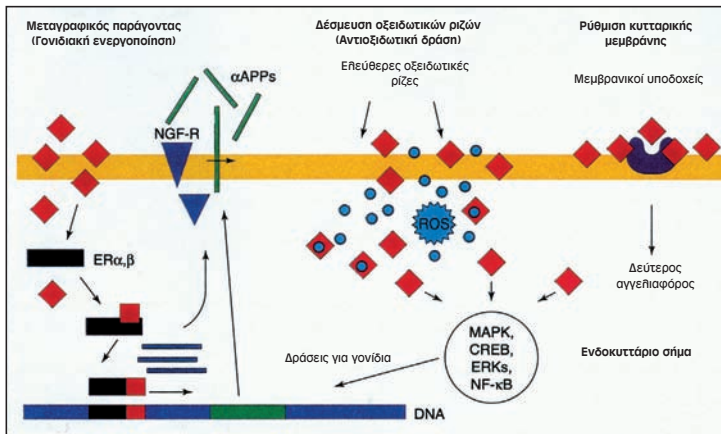
**Εικόνα 4.6:** Οιστρογονικοί πυρηνικοί υποδοχείς που συνδέονται με το DNA. Οι στεροειδείς ορμόνες λόγω της λιποδιαλυτότητάς των εισέρχονται διά της κυτταρικής μεμβράνης στο κυτταρόπλασμα και δημιουργούν σύμπλοκο με τον υποδοχέα. Το σύμπλοκο αυτό περνά στον πυρήνα και διεγείρει τη γονιδιακή μεταγραφή και τη σύνθεση πρωτεϊνών, μέσω των οποίων ασκούν τις βιολογικές τους δράσεις.

*Medline-Interne, 2003*



**Εικόνα 4.7:** Μεταγραφική δραστηριότητα του πυρηνικού υποδοχέα των οιστρογόνων. Οι πυρηνικοί υποδοχείς διεγείρουν ή καταστέλλουν τη μεταγραφή μέσω αλληλεπιδράσεων με συν-ενεργοποιητές και συν-καταστολείς. Όταν ο υποδοχέας των οιστρογόνων (ER) ενώνεται με τον αγωνιστή, τότε, ενώ είναι ήδη στην περιοχή του πυρήνα, επιστρατεύει συν-ενεργοποιητές που διεγείρουν την RNA πολυμεράση (pol II). Όταν ο υποδοχέας ER είναι ελεύθερος ή ενωμένος με ανταγωνιστή, τότε επιστρατεύει συν-καταστολείς και συνδέεται με τις ιστονικές αποακετυλάσες (HDACs: Histone Deacetylases), οι οποίες προκαλούν μετασχηματισμό στη χρωματίνη του DNA και το καθιστούν ακατάλληλο για μεταγραφή. AF-2 (Activation Function-2: Λειτουργία Ενεργοποίησης-2), NcoR (Nuclear Receptor co-Repressor: Συν-κατασταλτικός παράγοντας του πυρηνικού υποδοχέα), SRC-1 (Steroid Receptor Co activator: Συν-διεγερτικός παράγοντας του υποδοχέα του στεροειδούς)

*Trends Pharmacol. Sci. 22,2001*



**Εικόνα 4.8: Πολλαπλοί μηχανισμοί δημιουργίας σήματος από τα οιστρογόνα.** Το παράδειγμα αφορά σε δράσεις στο νευρώνα, αν και η πολλαπλότητα σημάτων συμβαίνει και σε κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος. **(αριστερά)** Τα οιστρογόνα (κόκκινοι ρόμβοι) εισδύουν στο κυτταρόπλασμα, ενώνονται με τους πυρηνικούς (μαύρο) υποδοχείς (ER: Estrogen Receptor) και το δημιουργούμενο σύμπλοκο (κόκκινο-μαύρο) προάγει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν νευροπροστατευτικούς παράγοντες NGF-R (Nerve Growth Factor Receptor: Υποδοχέας του Αυξητικού Παράγοντα των Νευρών)  $\alpha$ APPs (Non-amyloidogenic amyloid  $\beta$  Protein precursor Protein: Μη αμυλοειδογόνος πρόδρομος πρωτεΐνη της  $\beta$ -αμυλοειδούς πρωτεΐνης). **(κέντρο)** Τα οιστρογόνα (κόκκινοι ρόμβοι) εισδύουν στο κυτταρόπλασμα και δεσμεύουν μέσω της φαινολικής ομάδας τους τις οξειδωτικές ρίζες (ROS: Reactive Oxygen Species). Τα οιστρογόνα (κόκκινοι ρόμβοι) διεγείρουν υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης και προάγουν τη δημιουργία ενδοκυττάριου σήματος. Παράλληλα, μέσω αλληλοσυνδέσεων των ενδοκυττάριων σημάτων, ενεργοποιούνται και άλλοι ενδοκυττάριο παράγοντες όπως η MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase: Πρωτεϊνική Κινάση Ενεργοποιούμενη από το Μιτογόνο), CREB (cAMP Response-Element Binding Protein: Πρωτεΐνη συνδεόμενη με το στοιχείο ανταπόκρισης της κυκλικής AMP), ERKs (Extracellular Regulated Kinase: Κινάση ρυθμιζόμενη εξωκυτταρικός), NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B: Πυρηνικός Παράγοντας- $\kappa$ B). *Trends Pharmacol. Sci 20, 1999*

τη λειτουργική απόδοση των ενδοθηλιακών κυττάρων, πιθανόν αυξάνοντας τη σύνθεση του VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor: Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας) μέσα στα αγγεία. Παράλληλα, αναστέλλουν την αύξηση και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Στις φυσιολογικές υγιείς γυναίκες ελαττώνουν τον κίνδυνο της καρδιαγγειακής νόσου (14,15).

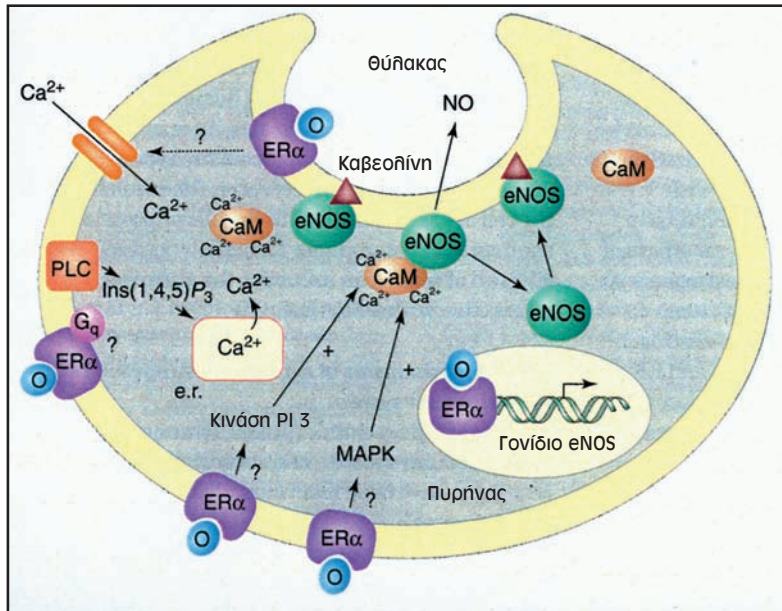
Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η δράση των οιστρογόνων που αφορά στην αυξημένη δραστηριότητα του NO, το οποίο είναι γνωστό ότι διαθέτει ιδιότητες αγγειοδιασταλτικές, αντιαιμοπεταλιακές και αντιμιτωτικές. Η δράση των οιστρογόνων στην αύξηση της έκφρασης των γονιδίων που κωδικοποιούν την ενδοθηλιακή συνθετάση του NO (eNOS: endothelial Nitric Oxide Synthase) γίνεται με διάφορους μηχανισμούς. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η άμεση διέγερση του γονιδίου από τον οιστρογονικό υποδοχέα, η έμμεση διέγερση

μέσω της επαγωγής μεταγραφικών παραγόντων όπως ο NF-κB καθώς και η ρύθμιση γονιδίων που κωδικοποιούν συμπαράγοντες ή ένζυμα που αυξάνουν την ενεργότητα της eNOS μέσω μεταμεταφραστικών τροποποιήσεων. Σε αυτό συμβάλλουν και οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των οιστρογόνων (12).

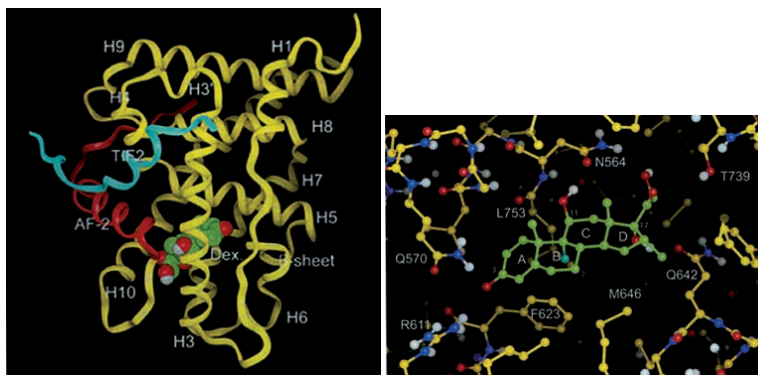
Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, που, ως γνωστόν, έχουν υψηλά επίπεδα οιστρογόνων, παρουσιάζουν χαμηλή συχνότητα στεφανιαίας νόσου, ενώ η θεραπεία με υποκατάστατα οιστρογόνων έχει αποδειχθεί ότι έχει ανάλογα ευεργετικά αποτελέσματα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Αντίθετα, σε εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο δεν υπήρξαν τα ίδια ευρήματα και αυτό αποδόθηκε στην ευαισθησία των ασθενών αυτών στις θρομβωτικές ενέργειες των οιστρογόνων. Πιστεύεται, επίσης, ότι στα αθηρωματικά αγγεία λόγω μεθυλίωσης του προαγωγέα γονιδίου στόχου στο DNA υπάρχει υστέρηση της μεταγραφής και ελαττωμένη αντίσταση στους μηχανισμούς πάχυνσης του αγγειακού τοιχώματος μέσω πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών ινών. Επίσης, τα από του στόματος λαμβανόμενα οιστρογόνα αυξάνουν τον κίνδυνο θρομβοεμβολικών επεισοδίων ιδιαίτερα στις γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας και μάλιστα όταν καπνίζουν (12).

Τα γλυκοκορτικοειδή δεν επηρεάζουν άμεσα τον αγγειακό τόνο, το κάνουν όμως έμμεσα καθώς αυξάνουν την αρτηριακή πίεση. Επίσης, μέσω της υπεργλυκαιμίας και της αντίστασης στην ινσουλίνη, επηρεάζουν ιδιαίτερα σε διαβητικούς ασθενείς τη λειτουργία και τη δομή του αγγειακού τοιχώματος, ιδιαιτέρως δε του ενδοθηλίου, και κατ' επέκταση τον τόνο του αγγείου. Οι υποδοχείς των αλατοκορτικοειδών ενεργοποιούνται από ορμόνες, όπως η αλδοστερόνη, η απελευθέρωση των οποίων προάγεται από αγγειοδραστικές ουσίες, όπως η αγγειοτασίνη II.

Τα γλυκοκορτικοειδή, όπως και τα οιστρογόνα, συνδέονται με τον αντίστοιχο πυρηνικό υποδοχέα και σχηματίζουν σύμπλοκο απομακρύνοντάς τον από την ανασταλτική πρωτεΐνη HSP90. Στη συνέχεια, το σύμπλοκο οδεύει προς τον πυρήνα. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις κυτταροκίνες έχουν ένα στοιχείο στην 5' ρυθμιστική αλληλουχία που διεγείρεται από τα γλυκοκορτικοειδή. Το σημείο αυτό είναι στόχος του συμπλόκου που σχηματίζουν τα γλυκοκορτικοειδή με τον ενδοπλασματικό υποδοχέα τους. Με τον τρόπο αυτό τα γλυκοκορτικοειδή ασκούν ανασταλτικές ενέργειες που αφορούν τη σύνθεση και απελευθέρωση ενός μεγάλου αριθμού κυτταροκινών. Οι κυριότερες από αυτές είναι οι ιντερλευκίνες (IL-1, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12), η ιντερφερόνη-α (INF-α), ο νεκρωτικός των όγκων παράγοντας-α (TNF-α: Tumor Necrosis Factor-α) και ο παράγοντας που διεγείρει αποικίες κοκκιοκυττάρων - μακροφάγων (GM-CSF: Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor). Αντίθετα, προάγουν τη μεταγραφή και τη σύνθεση αντιφλεγμονωδών πρωτεϊνών όπως είναι οι λιποκορτίνες, οι οποίες ανταγωνίζονται το χημειοτακτικό ρεύμα (2,5,16,17).

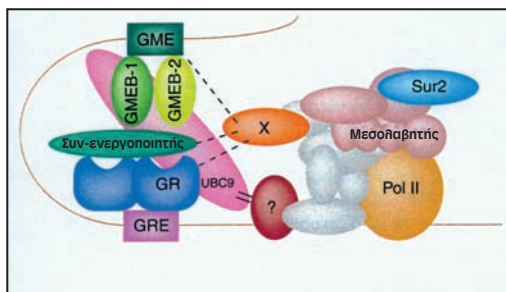


**Εικόνα 4.9.: Προτεινόμενο μοντέλο μηχανισμών που συνδέονται με τη ρύθμιση της σύνθεσης του NO στα ενδοθηλιακά κύτταρα από τα ιστρογόνα.** Η διάχυση των ιστρογόνων (O) μέσω της κυτταρικής μεμβράνης οδηγεί στη σύνδεσή τους με τους πυρηνικούς υποδοχείς (ERα), η οποία με τη σειρά της οδηγεί στην αυξημένη έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν την ενδοθηλιακή συνθετάση του NO (eNOS: endothelial Nitric Oxide Synthase), καθώς και των γονιδίων εκείνων που σχετίζονται με τη ρύθμιση του ενζύμου αυτού. Επιπρόσθετα, η σύνδεση των ιστρογόνων με τους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης (ERα) που ευρίσκονται παραπλεύρως της eNOS στις κοίλες εισδοχές δίκην θυλάκων (caveolae) της κυτταρικής μεμβράνης πιστεύεται ότι οδηγεί στην ταχεία απελευθέρωση του NO. Πιστεύεται, επίσης, ότι οι μεμβρανικοί ERα συνδέονται με την πρωτεΐνη  $G_q$  η οποία μεταφέρει τη διέγερση στο σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC), γεγονός που οδηγεί στο σχηματισμό της τριφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης ( $IP_3$ ) η οποία περνά στο κυτταρόπλασμα και απελευθερώνει  $Ca^{2+}$ . Θεωρείται ότι τα ιστρογόνα αυξάνουν την είσοδο και του εξωκυττάριου  $Ca^{2+}$ . Στη συνέχεια, το  $Ca^{2+}$  ενώνεται με την καλμοδουλίνη (CaM) και το σύμπλοκο αυτό αποσπά και απελευθερώνει την eNOS από την πρωτεΐνη των θυλάκων, την καβεολίνη. *Trends Pharmacol. Sci 22, 2001*



**Εικόνα 4.10:** Αλληλεπίδραση της δεξαμεθαζόνης με τον πυρηνικό υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών. **(αριστερά)** Δομή του συμπλέγματος “δεξαμεθαζόνη-υποδοχέας-γλυκοκορτικοειδών (GR)” και μονομερούς συν-ενεργοποιητή TIF2 (Transcriptional Intermediary Factor 2: Ενδιάμεσος Μεταγραφικός Παράγοντας 2). Απεικονίζονται ο τομέας σύνδεσης του προσδέτη (LBD:Ligand Binding Domain) του υποδοχέα GR (κίτρινο), η έλικα AF-2 (κόκκινο) του υποδοχέα GR που συνδέεται με τους συν-ενεργοποιητές και το τρίτο NR κιβώτιο (NR box) από τον TIF2 που δημιουργεί έναν φορτισμένο σφιγκτήρα με την έλικα AF-2 (μπλε). Ένα κενό πλήρωσης από τη δεξαμεθαζόνη (Dex) απεικονίζεται με άτομα άνθρακα (πράσινα), οξυγόνο (κόκκινα) και υδρογόνου (άσπρα). Οι έλικες (H) του θύλακα LBD απεικονίζονται αριθμημένες. **(δεξιά)** Θέσεις που καταλαμβάνει το μόριο της δεξαμεθαζόνης στον θύλακα LBD του υποδοχέα GR. Τα άτομα άνθρακα, οξυγόνου και υδρογόνου έχουν τα ίδια χρώματα.

*Trends Pharmacol. Sci 24,2003*



**Εικόνα 4.11.:** Προτεινόμενο μοντέλο δράσης αρκετών τροποποιητών της ενεργότητας του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών (GR: Glycorticoid Receptor). Τα τροποποιητικά στοιχεία των γλυκοκορτικοειδών (GMEs: Glycorticoid Modulatory Elements) και τα στοιχεία ανταπόκρισης στα γλυκοκορτικοειδή (GREs: Glycorticoid Response Elements) που ευρίσκονται επί του DNA (καφέ γραμμή) συνδέονται με τις πρωτεΐνες GMEB 1 και GMEB 2 (Glycorticoid Modulatory Element Binding Protein: Πρωτεΐνη που συνδέεται με τα τροποποιητικά στοιχεία των γλυκοκορτικοειδών) και με τους υποδοχείς GR, αντίστοιχα. Οι παράγοντες αυτοί μαζί με τους συν-ενεργοποιητές αντιδρούν με παράγοντες της ενδιάμεσης κατάστασης X. Το συνδετικό ένζυμο 9 της ουμπικουΐνης (UBC9: Ubiquitin Conjugating Enzyme 9) συνδέεται και με τον υποδοχέα GR και με τις GMEBs και αλληλεπιδρά με έναν άγνωστο παράγοντα μετά την κατάσταση X (διπλές συμπαγείς γραμμές). Ο παράγοντας Sur 2 (Suppressor of ras 2) που καταστέλλει το ογκογονίδιο Ras 2 αποτελεί ένα τμήμα του συμπλέγματος των μεσολαβητών το οποίο συνδέεται με τη RNA-πολυμεράση (Pol II). Δεν είναι γνωστό αν όλοι οι παράγοντες αυτοί συμμετέχουν σε όλες τις περιπτώσεις γονιδιακής μεταγραφής ούτε ποιο ακριβώς είναι οι στόχοι τους στους μηχανισμούς μεταγραφής.

*Trends Pharmacol. Sci 24,2003*



Οι ανασταλτικές αυτές ενέργειες ασκούνται στο επίπεδο της μεταγραφής του DNA, της μετάφρασης του mRNA, της σταθερότητας και της απελευθέρωσης των πρωτεϊνών. Κλινικά μεταφράζονται σε αντιφλεγμονώδη ενέργεια που ενδιαφέρει το καρδιαγγειακό σύστημα, καθώς και σε ανοσοκαταστολή.

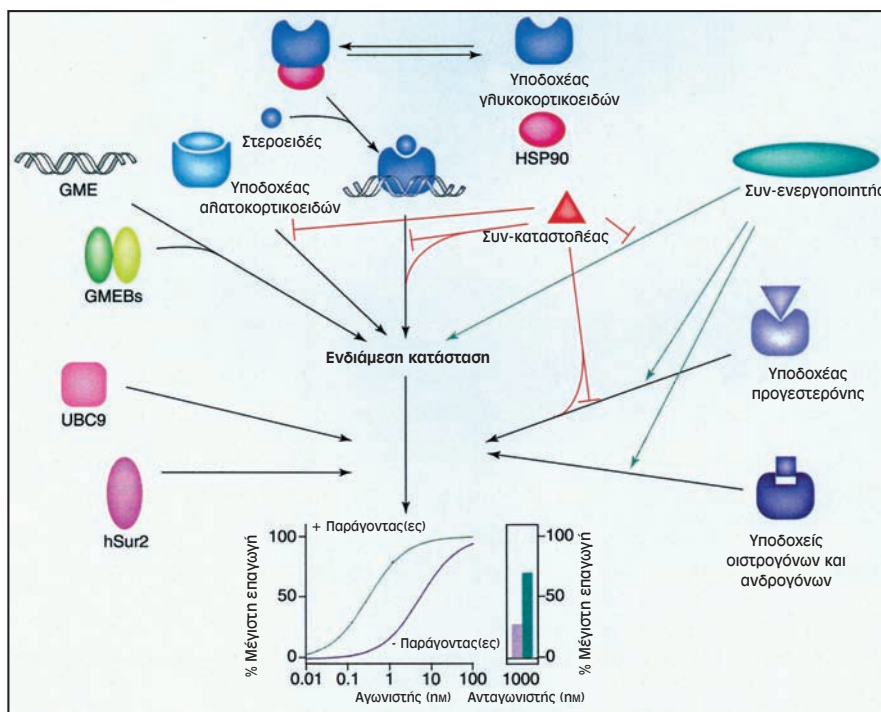
Τα τρία βασικά χαρακτηριστικά με τα οποία αξιολογείται το αποτέλεσμα της ενεργοποίησης των γονιδίων από τους υποδοχείς των στεροειδών είναι το επίπεδο της γονιδιακής έκφρασης, το οποίο επιτυγχάνεται σε ανταπόκριση των αγωνιστών των υποδοχέων αυτών, η συγκέντρωση του αγωνιστή, η οποία απαιτείται για να επιτευχθεί το ήμισυ της μέγιστης δυνατής αυτής ανταπόκρισης των γονιδίων και, τέλος, το ποσοστό της μερικής αγωνιστικής δραστηριότητας που παράγεται από τους αποκλειστές των υποδοχέων αυτών. Τα στοιχεία αυτά δεν είναι σταθερά, αλλά ποικίλλουν από κύτταρο σε κύτταρο και από προσδέτη σε προσδέτη. Αυτό φαίνεται να οφείλεται στις διαφορετικές ισορροπίες που δημιουργούνται μεταξύ των “σμπλεγμάτων στεροειδούς-υποδοχέα” και συν-παραγόντων, γονιδιακών προαγωγέων και ειδικών πρωτεϊνών σε κάθε κύτταρο. (18)

Διαφορετικοί προσδέτες προάγουν το σχηματισμό διαφορετικών τριτοταγών δομών στην περιοχή σύνδεσης LBD του υποδοχέα, δηλαδή ένα μείγμα ισορροπίας μοριακών μετασχηματισμών με διαφορετικές συγγένειες προς τους συν-ενεργοποιητές και τους συν-καταστολείς. Οι συν-ενεργοποιητές και οι συν-καταστολείς συνδέονται με τους πυρηνικούς υποδοχείς με ορισμένες θέσεις RIDs (Receptor Interaction Domain: Περιοχή αλληλεπίδρασης του υποδοχέα). Σήμερα υπάρχει η άποψη ότι συν-ενεργοποιητές ενώονται και με το σμπλεγμα “υποδοχέα-αποκλειστής” και οι συν-καταστολείς με το σμπλεγμα “υποδοχέα-αγωνιστής”. Η αλληλεπίδραση των υποδοχέων των στεροειδών με τους συν-ενεργοποιητές και τους συν-καταστολείς δεν είναι πάντα η ίδια, αλλά ποικίλλει ανάλογα με το συγκεκριμένο γονίδιο στόχο και τους ειδικούς παράγοντες για κάθε είδος του κυττάρου (18).

Οι διαφορές στην ενδοκυττάρια συγκέντρωση των τροποποιητικών αυτών παραγόντων και η ετερογένεια των σμπλεγμάτων “υποδοχείς-μεταγραφικοί παράγοντες” ανάμεσα στα γονίδια του ίδιου κυττάρου δημιουργούν κάθε φορά νέους μηχανισμούς που μεθοδεύουν τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης από τους διάφορους προσδέτες (18).

### **Υποδοχείς PPARs**

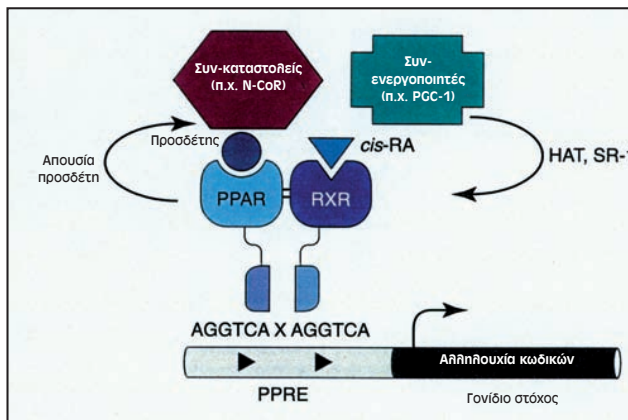
Δεν υπάρχουν αναφορές για άμεση δράση των υποδοχέων PPARs στον αγγειακό τόνο. Ωστόσο, οι υποδοχείς αυτοί προάγουν το μεταβολισμό ουσιών όπως είναι τα λιπίδια και η γλυκόζη που με τη σειρά τους έχουν άμεση σχέση με τη δομή του αγγειακού τοιχώματος, ιδιαίτερα σε παθολογικές καταστάσεις όπως



**Εικόνα 4.12:** Διάγραμμα των κυριότερων παραγόντων οι οποίοι επηρεάζουν την  $EC_{50}$  (Effect Concentration<sub>50</sub>: Συγκέντρωση με την οποία επιτυγχάνεται το 50% του μέγιστου αποτελέσματος) και τη μερική αγωνιστική δράση των στεροειδών που δρουν στους διάφορους υποδοχείς των ορμονών αυτών. Θετικά δρώντες παράγοντες θα μεταφέρουν την καμπύλη ανταπόκρισης στη δόση προς τα αριστερά και θα αυξήσουν το ποσοστό της μερικής αγωνιστικής δράσης (πράσινο), ενώ αρνητικά δρώντες παράγοντες θα προκαλέσουν το αντίθετο (πορφυρό). Οι συν-ενεργοποιητές (πράσινο) επηρεάζουν όλους τους υποδοχείς, ενώ οι συν-καταστολείς (κόκκινο) τροποποιούν τους υποδοχείς των γλυκοκορτικοειδίων (GR), της προγεστερόνης (PR) και των αλατοκορτικοειδίων (MR) με τρόπους που μπορούν να σεβασθούν ή ν' αντικρούσουν τις δράσεις των συν-ενεργοποιητές (αμβλέα βέλη). UBC9 (Ubiquitin Conjugating Enzyme 9: Συνδετικό Ενζύμο της Ουμπικουϊτίνης 9), hSur (Human Suppressor of Ras: Ανθρώπινος Καταστολέας του Ras ογκογονιδίου), HSP90 (Heat Shock Protein 90: Πρωτεΐνη Θερμικής Καταπληξίας 90). *Trends Pharmacol. Sci.* 24,2003

είναι η αθηρωμάτωση. Ως εκ τούτου, οι υποδοχείς αυτοί έμμεσα επηρεάζουν τη συμπεριφορά του αγγειακού τοιχώματος, καθώς αποτελούν μια γραμμή άμυνας για τη διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας του τοιχώματος αυτού, συμβάλλοντας τα μέγιστα στο μεταβολισμό των παραπάνω ουσιών.

Οι υποδοχείς PPARs είναι πυρηνικοί υποδοχείς που ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων εκείνων τα οποία κωδικοποιούν παράγοντες που ελέγχουν την ενεργειακή ομοιόσταση και το μεταβολισμό των λιπιδίων και της γλυκόζης. Επηρεάζουν την εξέλιξη μεταβολικών διαταραχών, όπως είναι η δισλιπιδαιμία και ο σακχαρώδης διαβήτης, αλλά και των επιπλοκών τους, όπως είναι η αθη-



**Εικόνα 4.13:** Σχηματική παράσταση της ενεργοποίησης και της πυροδότησης της μεταγραφικής διαδικασίας από τους πυρηνικούς υποδοχείς PPARs. Οι υποδοχείς οι ενεργοποιούμενοι από τον πολλαπλασιαστή των υπεροξεισωματίων (PPARs: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors) όταν διεγείρονται σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές με τον ρετινοειδή υποδοχέα-Χ (RXR: Retinoid X Receptor) και στη συνέχεια συνδέονται με τα PPREs που είναι στοιχεία ανταπόκρισης στην περιοχή του προαγωγέα του γονιδίου στόχου. Με τον τρόπο αυτό ρυθμίζουν τη μεταγραφή και το σχηματισμό του αντίστοιχου mRNA.

*Trends Pharmacol. Sci.* 21,2000

ροσκλήρωση και η παχυσαρκία (3,19-23).

Η οικογένεια των υποδοχέων-PPARs περιλαμβάνει τρεις επιμέρους υποομάδες υποδοχέων. Τους υποδοχείς PPAR-α, PPAR-β/δ και PPAR-γ. Και οι τρεις υποομάδες εμφανίζονται με τη μορφή ετεροδιμερούς, όπου ο άλλος πυρηνικός υποδοχέας είναι ο RXR (Retinoid-X-Receptor:Ρετινοειδής-Χ-Υποδοχέας), και ως σύμπλοκο με ένα σημείο ανταπόκρισης στον προαγωγέα του DNA που ονομάζεται PPRE (Peroxisome Proliferator Response Element:Σημείο Ανταπόκρισης του Πολλαπλασιαστή των Υπεροξεισωματίων). Μεταξύ των φυσικών προσδετών των υποδοχέων PPARs περιλαμβάνονται τα λιπαρά οξέα καθώς και παράγωγα των προσταγλανδινών και των λευκοτριενίων (3,10,19).

Ο υποδοχέας PPAR-α απαντά κυρίως στο ήπαρ, την καρδιά και τους νεφρούς και ο ρόλος του αφορά πρωταρχικά στην ομοιοστασία των λιπιδίων. Αυξάνει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων, διεγείρει την πρόσληψη των λιπαρών οξέων και τη βιοχημική οδό της β-οξείδωσης και ελαττώνει τη βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων, των τριγλυκεριδίων και των VLDL.

Η σημασία των υποδοχέων PPAR-β/δ, οι οποίοι αναφέρονται και ως PPAR-β μόνο, δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένη και οι γνώσεις μας προέρχονται από πειραματικές εργασίες. Υπάρχουν αναφορές ότι αυξάνουν την HDL και χρησιμεύουν ως υποδοχείς για την προστακυκλίνη.

Ο υποδοχέας PPAR-γ έχει εντοπισθεί στον λιπώδη ιστό, τις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και τα μακροφάγα. Παιζει σπουδαίο ρόλο στη λιπογένεση, τη δια-

φοροποίηση των λιποκυττάρων, ενώ υπάρχουν αναφορές ότι αυξάνει την λιποπρωτεϊνική λιπάση. Κυρίως, όμως, πρόκειται για υποδοχείς με αντιυπεργλυκαιμική δράση, διότι αυξάνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη.

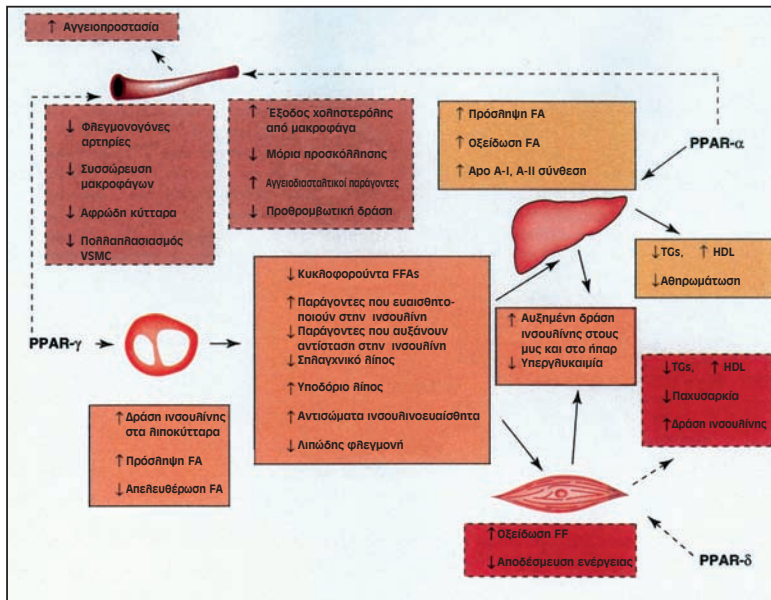
Δεν είναι γνωστό αν η διέγερση των υποδοχέων PPAR- $\gamma$  και η επακολουθούσα αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη οφείλονται μόνο σε άμεση ενίσχυση του μηχανισμού πρόσληψης της γλυκόζης από τα κύτταρα ή έμμεσα και στην αντιλιπιδαιμική δράση. Δηλαδή, στην ελάττωση παραγόντων που προέρχονται από τα λιπώδη κύτταρα όπως είναι τα λιπαρά οξέα, τα τριγλυκερίδια και ο TNF- $\alpha$  παράγοντας που προάγουν την αντίσταση στην ινσουλίνη (10).

Η διέγερση των υποδοχέων PPAR- $\gamma$  προάγει τη σύνθεση του mRNA της αδιπονεκτίνης και κατ' επέκταση της ίδιας της αδιπονεκτίνης, καθώς και την έκφραση της πρωτεΐνης μεταφοράς της γλυκόζης GLUT4. Η αδιπονεκτίνη είναι ο μόνος λιπογενής παράγοντας που ανταγωνίζεται τις δυσμενώς δρώσες λιποκίνες.

Παρόλο που η πυκνότητα των υποδοχέων PPAR- $\gamma$  στο ήπαρ και τους γραμμωτούς μυς είναι 20 έως 30 φορές μικρότερη σε σχέση με τον λιπώδη ιστό, υπάρχουν ενδείξεις για άμεση ενέργεια των αγωνιστών των υποδοχέων αυτών στους σκελετικούς μυς. Μεταξύ των ενεργειών αυτών περιλαμβάνονται η επαγωγή του mRNA των υποδοχέων αυτών από τις θειαζολιδινεδιόνες, καθώς, επίσης, και η προσαρμοστική αύξηση των υποδοχέων αυτών, όταν αυξάνουν τα επίπεδα της ινσουλίνης (10).

Πιστεύεται, επίσης, ότι η διέγερση των υποδοχέων PPAR- $\gamma$  προάγει τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων σε μακροφάγα και επιτείνει την πρόσληψη από αυτά των οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών (ox-LDLs), διότι επάγει την έκφραση του υποδοχέα CD36. Τέλος, πειραματικά δεδομένα συνηγορούν υπέρ του ότι οι υποδοχείς PPAR- $\gamma$  καταστέλλουν τη σύνθεση των μεταλλοπρωτεϊνών που ευθύνονται για τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας, αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό και τη χημειοτακτική μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων δρώντας ανασταλτικά στις χημειοκίνες της φλεγμονής, ενώ οι θειαζολιδινοδιόνες (γλιταζόνες), οι οποίες δρουν ως αγωνιστές των υποδοχέων αυτών, αναστρέφουν τη μειορύθμισή τους που προκαλείται από τις κυτταροκίνες (19,22).

Η ασθενέστερη δράση των αγωνιστών των υποδοχέων PPAR- $\gamma$  στην καταστολή της φλεγμονής σε σχέση με την εντονότερη δράση στη λιπογένεση και την ευαισθησία στην ινσουλίνη πιθανόν να οφείλεται σε διαφορετικούς μηχανισμούς που διέπουν την ενεργοποίηση των γονιδίων που εξαρτώνται από το PPRE και τις διαφορετικές ισορροπίες μεταξύ των συν-αγωνιστικών και συν-κατασταλτικών πρωτεϊνών που διέπουν τη σύνθεση της κάθε επιμέρους πρωτεΐνης (10).

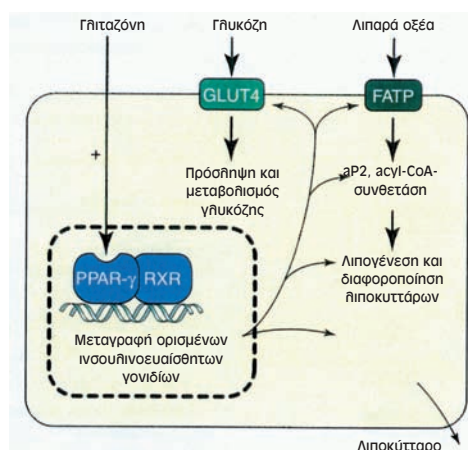


Εικόνα 4.14.: Σχεδιάγραμμα των ενεργειών που μεθοδεύονται από τους υποδοχείς PPARs. Καταγράφονται οι αγγειοπροστατευτικές ενέργειες των υποδοχών PPARs (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: Υποδοχείς Ενεργοποιούμενοι από τον Πολλαπλασιαστή των Υπεροξεισωματίων). FFA (Free Fatty Acids: Ελεύθερα Λιπαρά Οξέα), TGs (Triglycerides:Τριγλυκερίδια). *Trends Pharmacol. Sci.* 26,2005

## Φάρμακα

Οι φιβράτες είναι προσδέτες δρώντες ως αγωνιστές των υποδοχών PPAR-α και μέσω αυτών προάγουν την ελάττωση των επιπέδων των λιπιδίων στο αίμα και βελτιώνουν το λιπιδαιμικό προφίλ του ασθενούς. Συγκεκριμένα δρουν σε μεταγραφικό επίπεδο ανασταλτικά όσον αφορά τη σύνθεση της πρωτεΐνης μεταφορέα των λιπαρών οξέων, της ακυλο-CoA-συνθετάσης, της απολιποπρωτεΐνης C-III και διεγερτικά όσον αφορά τη σύνθεση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης. Επίσης, δρουν ανασταλτικά στον NF-κΒ φλεγμονώδη παράγοντα. Ως εκ τούτου, η ανασταλτική τους δράση στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης οφείλεται τόσο στην υπολιπιδαιμική όσο και στην αντιφλεγμονώδη δράση τους (3,10,24,25).

Οι διάφορες θειαζολιδινοδιόνες ή γλιταζόνες διεγείρουν τους υποδοχείς PPAR-γ και ευαισθητοποιούν τα κύτταρα στην ινσουλίνη. Τα φάρμακα αυτά συνδέονται με τον πυρηνικό υποδοχέα PPAR<sub>γ</sub> ο οποίος, όπως αναφέρθηκε, δρα σε σύνδεση με τον υποδοχέα RXR. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η αύξηση της μεταγραφής ορισμένων γονιδίων που είναι ευαίσθητα στην ινσουλίνη. Μεταξύ των συντιθεμένων πρωτεϊνών περιλαμβάνεται και η ισομορφή GLUT4 του μεταφορέα της γλυκόζης που είναι ευαίσθητη στην ινσουλίνη (3,10,26-29).



**Εικόνα 4.15.: Δράσεις των γλιταζονών στο επίπεδο των πυρηνικών υποδοχέων PPAR $\gamma$ .** Τα φάρμακα αυτά ελαττώνουν τα επίπεδα της γλυκόζης του αίματος, διότι έχουν τη δυνατότητα να εισέρχονται στο κύτταρο και να διεγείρουν τους υποδοχείς PPAR $\gamma$ . Ο πυρηνικός αυτός υποδοχέας σε ετεροδιμερές με τον επίσης πυρηνικό υποδοχέα RXR (Retinoid ReceptorX: Ρετινοειδής Πυρήνας X) προάγουν τη μεταγραφή ινσουλινοεαίσθητων γονιδίων. Μεταξύ άλλων αυξάνει η έκφραση της πρωτεΐνης μεταφορέα της γλυκόζης (GLUT4: Glucose Transporter 4) και της πρωτεΐνης της συνδεδεμένης της με τα λιπαρά οξέα του λιπώδους ιστού. (FATP: Fatty Adipose acid Transporter Protein).

*Trends Pharmacol. Sci.* 21,2000

Υπάρχουν απόψεις ότι πολλές από τις ενέργειες που διαμεσολαβούνται από τους υποδοχείς PPAR- $\gamma$  οφείλονται και σε σύγχρονη διέγερση των υποδοχέων RXR με τους οποίους οι πρώτοι σχηματίζουν ετεροδιμερές.

Μολονότι φαίνεται ότι οι δράσεις των φαρμάκων που διεγείρουν τους υποδοχείς PPAR- $\alpha$  και PPAR- $\gamma$  έχουν εξειδίκευση, η περαιτέρω έρευνα απέδειξε την ύπαρξη πλειοτροπικών δράσεων με αποτέλεσμα να υπάρχουν αρκετά συνεργικά αποτελέσματα που πιθανόν καθιστούν τα φάρμακα αυτά προσφιλή στη θεραπεία του μεταβολικού συνδρόμου (30).

Είναι λίαν αξιοσημείωτο ότι οι περισσότερο λιποδιαλυτοί αποκλειστές των υποδοχέων AT $_1$  της αγγειοτασίνης II με προέχουσα την τελμισαρτάνη διεγείρουν τους υποδοχείς PPAR- $\gamma$ . Σε σχετικές συγκριτικές μελέτες με τελμισαρτάνη και γλιταζόνες βρέθηκε ότι στη συνήθη θεραπευτική δοσολογία η πρώτη εξασκεί δράση μερικού αγωνιστή ίση με το 25-30% της εξασκούμενης από την τελευταία (30-32).

Σήμερα, υπάρχει έντονη ερευνητική προσπάθεια, ώστε να διευκρινισθεί η δομή και η λειτουργική σημασία του κάθε υποδοχέα, καθώς, επίσης και να αποκτηθούν γνώσεις για το σύνολο των αλληλεπιδράσεων που οδηγούν στην ενεργοποίησή τους και την προαγωγή της μεταγραφής στο επίπεδο του DNA.

Οι γνώσεις αυτές είναι άκρως απαραίτητες, προκειμένου να εντοπισθούν στόχοι για εκλεκτική φαρμακολογική παρέμβαση.

Η ερευνητική προσπάθεια στρέφεται, επίσης, προς την κατεύθυνση της σύνθεσης μερικών αγωνιστών των υποδοχέων PPAR- $\gamma$  που θα διατηρούν την αντιυπεργλυκαιμική δράση, αλλά δεν θα προάγουν το σωματικό βάρος, γεγονός που συμβαίνει με τους σημερινούς παράγοντες καθώς ευοδώνουν την ωρίμανση των προλιποκυττάρων σε λιποκύτταρα, την εντός τούτων λιποσύνθεση, ενώ οδηγούνται σε απόπτωση τα ώριμα υπερπλήρη λιποκύτταρα. Επίσης, η ερευνητική προσπάθεια στρέφεται και προς τη σύνθεση αγωνιστών που θα ενεργοποιούν τις καρδιοπροστατευτικές ενέργειες των υποδοχέων PPAR- $\alpha$ , και PPAR- $\beta$ , ενώ συγχρόνως θα αυξάνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη διεγείροντας τους υποδοχείς PPAR- $\gamma$ .

Έναν από τους στόχους φαρμακολογικής παρέμβασης αποτελεί και ο θύλακας LBP του πυρηνικού υποδοχέα. Οι διαφορές μεταξύ των αμινοξέων που αποτελούν το θύλακα αυτό σε κάθε πυρηνικό υποδοχέα είναι ένα ενδιαφέρον σημείο που θα βοηθήσει στη σύνθεση εκλεκτικών προσδετών για καθέναν από τους πυρηνικούς υποδοχείς.

Οι πυρηνικοί υποδοχείς των οιστρογόνων μπορεί, επίσης, να γίνουν στόχοι για εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Παρόμοιες παρεμβάσεις υπάρχουν ήδη, αλλά αφορούν άλλα όργανα όπως είναι οι ωθήκες, ο μαστός και τα οστά. Προκειμένου, όμως, για το καρδιαγγειακό σύστημα, χρειάζεται προηγουμένως να γίνει η πλήρης μελέτη της δομής των ER<sub>A</sub> και ER<sub>B</sub> –υποδοχέων, η εξακρίβωση της κατανομής των υποδοχέων αυτών στο καρδιαγγειακό σύστημα, καθώς, επίσης, και η μελέτη της λειτουργικής συμπεριφοράς και των επιμέρους ενεργειών των υποδοχέων αυτών (12,33).

Εφόσον γίνουν αυτά γνωστά, θα χρειασθεί η σύνθεση εκλεκτικών προσδετών για τους ER<sub>A</sub> και ER<sub>B</sub> –υποδοχείς, αφού, όμως, ληφθεί υπ' όψιν ότι σε κάθε ιστό υπάρχουν ειδικοί προαγωγείς στο DNA για τους ER<sub>A</sub> και ER<sub>B</sub> –υποδοχείς και, ως εκ τούτου, η φαρμακολογική ρύθμιση θα πρέπει να εξειδικεύεται για κάθε ιστό. Επίσης θα πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν ότι υπάρχουν πρωτεΐνες που δρουν ως μεταγραφικοί παράγοντες και οι οποίες ρυθμίζουν θετικά ή αρνητικά τη μεταγραφή. Οι μεταγραφικοί αυτοί παράγοντες μπορεί να αποτελέσουν νέους φαρμακολογικούς στόχους που θα συμβάλλουν σε εκλεκτικότητα και σε αποτελεσματική δράση. Τέλος, θα πρέπει να συνυπολογίζεται η ύπαρξη οιστρογονικών υποδοχέων και στην κυτταρική μεμβράνη και το ότι οι υποδοχείς αυτοί μεθοδεύουν διάφορες ενέργειες, εν πολλοίς μη γνωστές.

Οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις που σχετίζονται με την ενεργοποίηση των πυρηνικών υποδοχέων και τη μεταγραφική διαδικασία αποτελούν αντικείμενο συνεχούς μελέτης η οποία, μεταξύ άλλων, αποσκοπεί στον εντοπισμό στόχων για εκλεκτική φαρμακολογική παρέμβαση. Μεταξύ των στόχων αυτών περιλαμβάνεται η μονάδα AF-1 του πυρηνικού υποδοχέα. Φάρμακα που θα φω-

σφοδρυλώνουν εκλεκτικά τη μονάδα αυτή θα μπορούν να αλλάζουν την αλληλεπίδραση του υποδοχέα με τους άλλους μεταγραφικούς παράγοντες. Ένας άλλος στόχος είναι ο αποκλεισμός της συνένωσης πυρηνικού υποδοχέα και συν-ενεργοποιητικού μεταγραφικού παράγοντα. Στόχος επίσης φαρμακολογικών παρεμβάσεων είναι και οι συν-ενεργοποιητικοί μεταγραφικοί παράγοντες οι οποίοι έχουν εκλεκτικότητα προς έναν συγκεκριμένο πυρηνικό υποδοχέα ή προς ένα είδος κυττάρων. Στην περίπτωση που οι πυρηνικοί υποδοχείς λειτουργούν με τη μορφή διμερούς, εξετάζεται η λειτουργική σημασία του δεύτερου πυρηνικού υποδοχέα με τον οποίο είναι συνδεδεμένος ο πρώτος καθώς επίσης, και η δυνατότητα φαρμακολογικών παρεμβάσεων και σε αυτόν, εφόσον κάτι τέτοιο έχει σημασία (3,4,11,34).



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Darnell J., Lodish H., Baltimore D.: *Molecular Biology*. New York, Scientific American, 1990
2. Κόκκας Β.: *Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας*. Θεσσαλονίκη. University Studio Press. 2003
3. Emery J., Ohlstein E., Jaye M.: Therapeutic modulation of transcription factor activity. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:233-239, 2001
4. Bourget W., Germain P., Gronemayer H.: Nuclear receptor ligand binding domains. Three - dimensional structures, molecular interactions and pharmacological implications. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:381-382, 2000
5. Bourne H., Roberts J.: Drug receptors and Pharmacodynamics In Katzung B.(ed) «Basic and clinical Pharmacology» Prentice-Hall, Intern.Inc. Con USA, pp 9-32, 1995
6. Ross E., Kenakin T.: Pharmacodynamics. In Hardman J. et al (eds). «Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. N.York, McGraw - Hill Comp. pp 31-43, 2001
7. Mocchegiani E., Muzzioli M., Giacconi R.: Zinc and immunoresistance to infection in aging. New biological tool. *Trends Pharmacol. Sci.* 21: 205-208, 2000
8. Moras R.: Structural studies on nuclear receptors. *Cell Mol. Life Sci.* 57:1748-1769, 2000
9. Clayton G., Peak-Chew S., Evans R., Schwabe J.: The structure of the ultraspiracle ligand-binding domain reveals a nuclear receptor locked in an inactive conformation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:1549-1554, 2001
10. Murphy G. and Holder J.: PPAR- $\gamma$  agonists. Therapeutic role in diabetes, inflammation and cancer. *Trends in Pharmacol. Sci.* 21: 469-474, 2000
11. Tjian R.: Molecular machines that control genes. *Scientific American* 272:38-45, 1995
12. Gray G., Sharif I., Webb D., Secki J.: Oestrogen and the cardiovascular system: the good, the bad and the puzzling. *Trends in Pharmacol. Sci.* 22:152-156, 2001
13. Behl C., Holsboer F.: The female sex hormone oestrogen as a neuroprotectant. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:441-444, 1999
14. Loose-Mitchell D., Stancel g.: Estrogens and progestins. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp 1596-1634, 2001
15. Grodstein F., Stampfer M., Manson J.: Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.* 335:453-461, 1996
16. Κόκκας Β.: Φάρμακα και πρωτεϊνική σύνθεση. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 17:101-108, 1999
17. Wieggers J., Reul M.: Induction of cytokine receptors by glycocorticoids. *Functional*

- and pathological significance. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:317-321, 1998
18. Simons S.: The importance of being varied in steroid receptor transactivation. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:253-258, 2003
  19. Torra IP, Genois Phand, Staels B.: Peroxisome proliferator - activated receptor alpha in metabolic disease, inflammation, atherosclerosis and aging. *Curr. Opin. Lipidol* 10: 151-159, 1999
  20. Staels B., Koenig W. and Habi A.: Activation of human aortic smooth muscle cells is inhibited by PPAR $\alpha$  but not by PPAR $\gamma$  activators. *Letters to nature. Nature* 393:790-793, 1998
  21. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. The peroxisome proliferator- activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta* 1302:93-109, 1996
  22. Κόκκας Β., Κ.Λ. Παπαδόπουλος και Π.Κ. Παπαδόπουλος: PPAR - υποδοχείς και αντιαθηρωσκληρωτικοί μηχανισμοί. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 18:11-17, 2000
  23. Berger J., Akiyama T., Meinke P.: PPARs. Therapeutic targets for metabolic disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:245-250, 2005
  24. Fruchart J., Duriez P., Staels B.: Molecular mechanism of action of the fibrates. *J. Soc. Biol.* 193:67-75, 1999
  25. Gervois P., Torra I., Fruchart J., Staels B.: Regulation of lipid and lipoprotein metabolism by PPAR activators. *Clin. Chem. Lab. Med.* 38:3-11, 2000
  26. Ducobu J., Sternon J.: Glitazones. *Rev. Med. Brux.* 21: 441-446, 2000
  27. Spiegelman B.: PPAR-gamma; adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes* 47:507-514, 1998
  28. Bailey C.: Potential new treatments for type 2 diabetes. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:259-264, 2000
  29. Ducobu J., Sternon J.: Glitazones. *Rev. Med. Brux.* 21: 441-446, 2000
  30. Kurtz W.: New treatment strategies for patients with hypertension and insulin resistance. *Am. J. Med.* 119:524-530, 2006
  31. Mychka V., Duishvili D., Mamyrbayeva M., Masenko V.: The role of telmisartan in the treatment of metabolic syndrome. *Ter. Arkh.* 78:63-66, 2006
  32. Tuck m.: Angiotensin-receptor blocking agents and the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma system. *Curr. Hypertens. Rep.* 7:240-243, 2005
  33. Ruff M., Gangloff M., Wurtz M., Moras D.: Structure-function relationship in DNA and ligand binding domains of estrogen receptors. *Breast Cancer* 2:353-359, 2000
  34. Sheppard H., Harries J., Hussain S., Revan C., Heery B.: Analysis of the steroid receptor coactivator 1 (SRC1)- CREB binding proteins interaction interface and its importance for the function of SRC1. *Mol. Cell Biol.* 21:39-50, 2001

## ΠΕΜΠΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΑΣΒΕΣΤΙΟ ΚΑΙ ΚΑΛΙΟ ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΤΟΝΟΥ. ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Β. Α. Κόκκας, Κ. Α. Παπαδόπουλος και Α. Π. Μισσοπούλου-Κόκκα

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα δύο κύρια λειτουργικά στοιχεία του αγγειακού τοιχώματος είναι το ενδοθήλιο και ο μυϊκός χιτώνας. Μέσω αυτών επιτελούνται πολλαπλές λειτουργίες, μεταξύ των οποίων και η ρύθμιση του αγγειακού τόνου. Ειδικότερα το ενδοθήλιο ρυθμίζει άμεσα τον αγγειακό τόνο συνθέτοντας αγγειοδραστικές ουσίες που δρουν στη μυϊκή στιβάδα αλλά και έμμεσα με τη σύνθεση άλλων ουσιών που επηρεάζουν τη δομή του αγγειακού τοιχώματος. Υποδοχείς που ευρίσκονται τόσο στα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος δέχονται ερεθίσματα από τον εξωκυττάριο χώρο και πυροδοτώντας βιοχημικές οδούς μεθοδεύουν τις βιολογικές απαντήσεις των κυττάρων αυτών που, μεταξύ άλλων, αφορούν τη ρύθμιση του αγγειακού τόνου και τη γονιδιακή μεταγραφή. Κομβικό σημείο στην όλη διαδικασία αποτελεί η συγκέντρωση των ελεύθερων  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα. Το άνοιγμα των διαύλων του  $K^+$  και η έξοδος των ιόντων αυτών προς τον εξωκυττάριο χώρο σηματοδοτεί το τέλος της περιόδου διέγερσης. Ιδιαίτερα στο αγγειακό τοίχωμα, η αθρόα προκλητή έξοδος του  $K^+$  οδηγεί σε υπερπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης των λείων μυϊκών ινών, η οποία μεταφράζεται σε χάλαση με το αγγείο να οδηγείται σε διαστολή.

#### Εισαγωγή

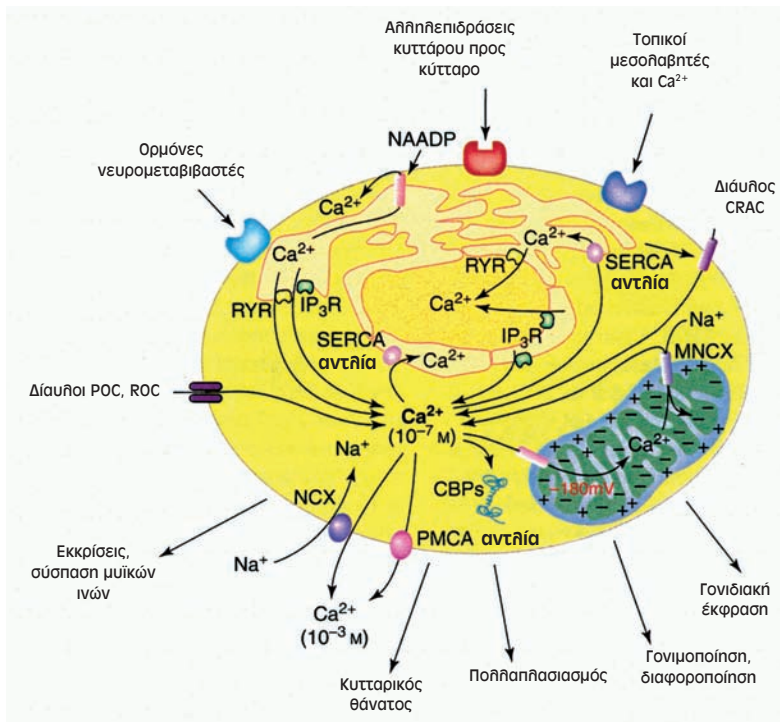
Κάθε κύτταρο έχει μια αυτόνομη λειτουργία που προσδιορίζεται από τα εκάστοτε ενεργοποιούμενα στοιχεία του γενετικού του κώδικα. Παράλληλα, κάθε κύτταρο δέχεται συνεχή εξωτερικά ερεθίσματα τα οποία ρυθμίζουν κάθε φορά την ένταση και το είδος της βιολογικής απάντησης.

Σε κάθε κύτταρο, τα μηνύματα από τον εξωκυττάριο χώρο επιδρούν στους αντίστοιχους υποδοχείς οι οποίοι προσδιορίζουν και το είδος της βιολογικής απάντησης που θα δώσει το κύτταρο. Από τους υποδοχείς και με τη μεσολάβηση πολλαπλών βιοχημικών αντιδράσεων που οδηγούν στην παραγωγή νέων μορίων ξεκινούν τα ανάλογα σήματα τα οποία πορεύονται προς τα ενδότερα του κυττάρου. Με τον τρόπο αυτό προκαλείται η βιολογική απάντηση του κυττάρου και ρυθμίζεται η κατάλληλη γονιδιακή μεταγραφή. Κομβικό ρόλο στην τελική φάση της πραγματοποίησης του πλείστου των ειδικών λειτουργιών των κυττάρων κατέχει η συγκέντρωση των ελεύθερων  $\text{Ca}^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα.

Η αύξηση των  $\text{Ca}^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα είναι το έναυσμα για την έναρξη εκείνων των βιοχημικών αντιδράσεων που θα καταλήξουν στην εξειδικευμένη βιολογική απάντηση του κυττάρου και στη σχετιζόμενη προς αυτήν γονιδιακή του έκφραση. Ειδικότερα όσον αφορά το καρδιαγγειακό σύστημα, τα ιόντα αυτά παίζουν σημαντικότατο ρόλο στη λειτουργία του καρδιακού μυός, τη ρύθμιση του αγγειακού τόνου και την απελευθέρωση των ενδογενών ουσιών που ρυθμίζουν το σύστημα αυτό.

Τα  $\text{Ca}^{2+}$  προέρχονται τόσο από τον εξωκυττάριο χώρο όσο και από τις ενδοκυττάριες αποθήκες. Από τον εξωκυττάριο χώρο εισέρχονται μέσω των διαύλων που ανοίγουν κυρίως ύστερα από μεταβολές του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης. Η ενδοκυττάρια ομοιοστάση του  $\text{Ca}^{2+}$ , η οποία επιτυγχάνεται με διάφορους μηχανισμούς και με διαφορετικό ρυθμό και ένταση κάθε φορά, αποτελεί το κλειδί για την κινητοποίηση των μηχανισμών με τους οποίους τα κύτταρα αποκωδικοποιούν τα εξωκυττάρια σήματα και τα μεταφράζουν σε συγκεκριμένες βιολογικές απαντήσεις. Σήμερα υπάρχουν ισχυρές απόψεις ότι η NAADP (Nicotinic Acid Dinucleotide Phosphate: Φωσφορικό δινουκλεοσίδιο του νικοτινικού οξέος) αποτελεί ένα ενδογενές μόριο το οποίο έχει έναν μη τυπικό ρόλο στις σηματοδοτήσεις του  $\text{Ca}^{2+}$ , συντονίζοντας τις απαντήσεις στους άλλους μεσολαβητές που απελευθερώνουν το ιόν αυτό. Παράλληλα, ευρήματα από μελέτες σε λείες μυϊκές ίνες προάγουν την άποψη για την ύπαρξη ενός μηχανισμού εκλεκτικής επιλογής των σημάτων. Ο μηχανισμός αυτός ονομάζεται "linked  $\text{Ca}^{2+}$  transport: Συνδεδεμένη μεταφορά  $\text{Ca}^{2+}$ " και οι βασικές του αρχές θα αναπτυχθούν στη συνέχεια (1-3).

Τα  $\text{K}^+$  παίζουν σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής λειτουργίας. Τα  $\text{K}^+$  εξέρχονται του κυττάρου μέσα από διαύλους οι οποίοι διακρίνονται σε διάφορες επιμέρους κατηγορίες. Το άνοιγμα των διαύλων του  $\text{K}^+$  και η έξοδος των ιόντων αυτών προς τον εξωκυττάριο χώρο σηματοδοτεί το τέλος της περιόδου διέγερσης. Ιδιαίτερα στο αγγειακό τοίχωμα, η αθρόα προκλητή έξοδος του  $\text{K}^+$  οδηγεί σε υπερπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης των λείων μυϊκών ινών η οποία μεταφράζεται σε χάλαση, με το αγγείο να οδηγείται σε διαστολή.



**Εικόνα 5.1: Κυτταρική ομοιοστασία του  $\text{Ca}^{2+}$  και κυτταρικές λειτουργίες που εξαρτώνται από αυτό.** Πολλαπλά σηματοδοτικά μόρια διεγείρουν υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη και μεταβάλλουν τη συγκέντρωση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $\text{Ca}^{2+}$ . Η ομοιοστασία του  $\text{Ca}^{2+}$  ρυθμίζεται. (1) Με ανταλλαγή του  $\text{Ca}^{2+}$  μεταξύ του ενδοκυττάρου και εξωκυττάρου χώρου. Η είσοδος του  $\text{Ca}^{2+}$  από τον εξωκυττάρου χώρο γίνεται μέσω διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης, όπως είναι οι δυναμικοευαίσθητοι (POC: Potential Operating Channels), οι ενεργοποιούνται από τους υποδοχείς (ROC: Receptor Operating Channels) και οι ενεργοποιούνται μετά την απελευθέρωση ενδοκυττάρου  $\text{Ca}^{2+}$  (CRAC:  $\text{Ca}^{2+}$  Release -Activated  $\text{Ca}^{2+}$  Channel). Η είσοδος αυτή αναπαριστάται με μαύρο βέλος. Η έξοδος του  $\text{Ca}^{2+}$  προς τον εξωκυττάρου χώρο γίνεται μέσω αντλιών (PMCA pump: Plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$  pump) ή ανταλλαγής με  $\text{Na}^+$  (NCX:  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  Exchanger). (2) Διακίνηση του  $\text{Ca}^{2+}$  μεταξύ των ενδοκυττάρων αποθηκών και του κυτταροπλάσματος. Το  $\text{Ca}^{2+}$  εξέρχεται του ενδοπλασματικού δικτύου μέσω των διαύλων που διεγείρονται από την τριφωσφορική ινοσιτόλη ( $\text{IP}_3$ : Inositol Triphosphate) και των διαύλων της ρυανοδίνης (RYR: Ryanodine) που διεγείρονται από το εισερχόμενο  $\text{Ca}^{2+}$  και επαναπροσλαμβάνεται από το οργανύλιο αυτό με την αντλία SERCA (Sarcoplasmic Endoplasmic Reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase). Από τα μιτοχόνδρια το  $\text{Ca}^{2+}$  προσλαμβάνεται δια της πύλης μοναδικής κατεύθυνσης (mUni: mitochondrial Uniporter) και εξέρχεται των μιτοχονδρίων μέσω της αντλίας ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (mNCX: Natrium Calcium Exchanger). CBP ( $\text{Ca}^{2+}$  Binding Protein: Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με  $\text{Ca}^{2+}$ ). Λεπτομέρειες στο κείμενο και στις εικόνες που ακολουθούν.

*Trends Pharmacol. Sci.* 23, 2002

## Αποπόλωση και ανάπτυξη δυναμικού δράσης

Όπως είναι γνωστό, σε αδρές γραμμές οι διαδοχικές φάσεις που ακολουθεί το δυναμικό μιας κυτταρικής μεμβράνης και οι κυριότερες ιοντικές μεταβολές που συμβαίνουν κατά τη διάρκειά τους είναι οι εξής:

**Φάση ηρεμίας.** Πρόκειται για την κατάσταση της κυτταρικής μεμβράνης πριν από την εμφάνιση του δυναμικού δράσης ή ενέργειας. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, η κυτταρική μεμβράνη είναι πολωμένη λόγω του μεγάλου ενδοκυττάρου αρνητικού δυναμικού που υφίσταται εξαιτίας του αρνητικού φορτίου στο εσωτερικό της. Όλα τα κύτταρα διαθέτουν στην κυτταρική μεμβράνη μια ισχυρή αντλία  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , που συνεχώς αντλεί  $\text{Na}^+$  προς τον εξωκυττάριο χώρο και φέρνει  $\text{K}^+$  προς τον ενδοκυττάριο χώρο. Δεδομένου ότι η αντιστοιχία είναι τρία  $\text{Na}^+$  προς δύο  $\text{K}^+$  δημιουργείται μια ανεπάρκεια θετικών ιόντων προς το εσωτερικό της μεμβράνης. Το αποτέλεσμα είναι η ύπαρξη ενός αρνητικού φορτίου στο εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης.

**Φάση αποπόλωσης.** Στη φάση αυτή, η κυτταρική μεμβράνη γίνεται αιφνιδικώς διαβατή στα  $\text{Na}^+$  επιτρέποντας την αθρόα είσοδό τους προς το εσωτερικό του κυττάρου. Η κατάσταση πόλωσης χάνεται και το ενδοκυττάριο δυναμικό ανέρχεται ταχύτατα προς την κατεύθυνση του θετικού. Η μεταβολή του δυναμικού διανοίγει δυναμικοευαίσθητους διαύλους  $\text{Ca}^{2+}$  μέσω των οποίων εισέρχονται ιόντα  $\text{Ca}^{2+}$  στον ενδοκυττάριο χώρο.

**Φάση επαναπόλωσης.** Σε χιλιοστά του δευτερολέπτου, οι διάλυοι του  $\text{Na}^+$  αρχίζουν να κλείνουν και οι διάλυοι του  $\text{K}^+$  ανοίγουν. Η έξοδος των  $\text{K}^+$  τείνει να επαναφέρει το δυναμικό της κυτταρικής μεμβράνης στη φυσιολογική αρνητική ενδοκυττάρια τιμή ηρεμίας. Η επαναπόλωση διακόπτει την είσοδο  $\text{Ca}^{2+}$  κλείνοντας τους διαύλους του. Με τη λειτουργία της αντλίας ανταλλαγής  $2\text{K}^+/\text{3Na}^+$  επανεισάγεται το εξελθόν  $\text{K}^+$  ανταλλασσόμενο ηλεκτρογονικώς με ενδοκυττάριο  $\text{Na}^+$  και έτσι απαλλάσσεται το κύτταρο από το εισελθόν κατά την αποπόλωση  $\text{Na}^+$ . Το εισελθόν  $\text{Ca}^{2+}$  εκδιώκεται ανταλλασσόμενο μέσω κατάλληλης αντλίας με το εντωμεταξύ αποκατασταθέν εξωκυτταρίως σε περίσσεια  $\text{Na}^+$ . Το νεοεισερχόμενο  $\text{Na}^+$  εκδιώκεται εκ νέου κατόπιν ανταλλαγής με εξωκυττάριο  $\text{K}^+$  που, επειδή είναι στον εξωκυττάριο χώρο σε χαμηλότερη συγκέντρωση, προϋποθέτει τη δαπάνη ενέργειας από την αντλία υπό μορφή κατανάλωσης ATP.

Η περιοχή αδρανισμού σε όλους εν γένει τους διαύλους των κατιόντων συνίσταται σε ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα που εμφράσσει το διάλυο βραδέως ενώ το δυναμικό της μεμβράνης έχει ακόμη τιμές που επιτρέπουν στις πύλες εισόδου ή εξόδου ( $\text{Na}^+$  ή  $\text{Ca}^{2+}$  /  $\text{K}^+$  αντίστοιχα) των κατιόντων να λειτουργούν. Η έμφραξη αυτή διατηρείται μέχρι τη σχεδόν πλήρη αποκατάσταση του δυναμικού ηρεμίας ή ενδεχομένως λίγο περισσότερο, μετά την ολοκλήρωση της αποκατάστασης. Η διάρκειά της καθορίζει την ανερέθιστη περίοδο του διαύλου και προκειμένου περί διεγερτικών διαύλων, όπως είναι οι διάλυοι του  $\text{Na}^+$  και

του  $\text{Ca}^{2+}$ , την ανερέθιστη περίοδο του κυττάρου. Αυτό διότι κατά τη διάρκειά της, η τυχόν επαναδιάνοιξη των πυλών δεν οδηγεί σε διέλευση ιόντων, αφού ο δίαυλος παραμένει εμφραγμένος.

### Αναφορά στο ασβέστιο

Τα  $\text{Ca}^{2+}$  ευρίσκονται τόσο στον εξωκυττάριο όσο και στον ενδοκυττάριο χώρο. Στον πρώτο, η συγκέντρωσή τους είναι της τάξης του 1  $\mu\text{M}$ , ενώ στον δεύτερο είναι της τάξης του 0.1  $\mu\text{M}$ . Στον εξωκυττάριο χώρο η ομάδα του μορίου των πρωτεϊνών που ενώνονται με τα ιόντα αυτά είναι το αμινοδικαρβοξυλικό οξύ, το οποίο, όμως, έχει μικρή συγγένεια με αυτά. Αντίθετα, οι πρωτεΐνες του ενδοκυττάρου χώρου που είναι μικρές με ανιονικές ομάδες που περιέχουν οξυγόνο, έχουν μεγάλη συγγένεια με τα  $\text{Ca}^{2+}$ , γεγονός που επιτρέπει την αύξηση των τελευταίων κατά τη φάση της διέγερσης σε συγκεντρώσεις της τάξης του 1  $\mu\text{M}$ . Αυτές οι διαφορές συγγένειας των πρωτεϊνών των δύο χώρων με τα ιόντα αυτά δικαιολογούν και τις διαφορές συγκέντρωσης μεταξύ τους. Όμως, παρά τη διαφορά αυτή, η παθητική είσοδος των  $\text{Ca}^{2+}$  διά της κυτταρικής μεμβράνης είναι μικρή κατά τη φάση ηρεμίας και υπάρχει μια δυναμική ισορροπία. Κατά τη φάση της διέγερσης, ό,τι εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα είτε από τον εξωκυττάριο χώρο είτε από τις ενδοκυττάρια αποθήκες που είναι το ενδοπλασματικό δίκτυο, τα μιτοχόνδρια και η περιοχή κοντά στην κυτταρική μεμβράνη, εξισορροπείται στη συνέχεια με αντίστοιχα ρεύματα εξόδου και αποθήκευσης. Κάθε μεμβράνη έχει ένα σημείο εξισορρόπησης που είναι χαρακτηριστικό της συγκέντρωσης εκείνης των  $\text{Ca}^{2+}$  στην οποία τα ρεύματα εισόδου και εξόδου των τελευταίων εξισορροπούνται. Για τη μεμβράνη των μιτοχονδρίων ο ουδός αυτός είναι αυξημένος και κυμαίνεται μεταξύ 0.5 και 1  $\mu\text{M}$ . Αντίθετα, για την κυτταρική μεμβράνη και τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου ο ουδός αυτός είναι μικρότερος, δηλαδή της τάξης του 0.1  $\mu\text{M}$ . Στην ουσία οι δύο αυτές μεμβράνες διατηρούν σταθερή τη συγκέντρωση του ενδοκυττάρου  $\text{Ca}^{2+}$  κατά τη φάση ηρεμίας του κυττάρου (4-6).

### Οι δίαυλοι του $\text{Ca}^{2+}$

Αναφέρθηκε ήδη ότι τα  $\text{Ca}^{2+}$  αποτελούν το κλειδί για την ενεργοποίηση κάθε κυττάρου. Η αύξηση των ιόντων αυτών με την ελεύθερη μορφή στο κυτταρόπλασμα πέραν μιας συγκεντρώσεως που θεωρείται ουδός έχει ως αποτέλεσμα να κινητοποιούνται οι μηχανισμοί εκείνοι που καταλήγουν στη φωσφορυλίωση των κατάλληλων πρωτεϊνών και την ειδική βιολογική απάντηση του κυττάρου. Τα  $\text{Ca}^{2+}$  ευρίσκονται, όπως ήδη αναφέρθηκε, τόσο στον εξωκυττάριο χώρο όσο και στον αντίστοιχο ενδοκυττάριο. Μεταξύ των δύο αυτών χώρων υπάρ-

χει μια δυναμική ισορροπία. Κατά τη διέγερση του κυττάρου,  $\text{Ca}^{2+}$  εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα τόσο από τον εξωκυττάριο χώρο μέσα από διαύλους όσο και από τις ενδοκυττάρια αποθήκες. Κατά τη φάση επαναπόλωσης του κυττάρου, τα  $\text{Ca}^{2+}$  εξέρχονται του κυτταροπλάσματος μέσα από μηχανισμούς που απαιτούν την κατανάλωση ενέργειας. Αυτό επιτυγχάνεται είτε άμεσα μέσω της ΑΤΡάσης του  $\text{Ca}^{2+}$  είτε έμμεσα μέσω της ΑΤΡάσης  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  συζευγμένης με την αντλία  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$  (7-10).

Οι διάυλοι του  $\text{Ca}^{2+}$  υπάρχουν τόσο στην κυτταρική μεμβράνη όσο και στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για το καρδιαγγειακό σύστημα και ιδιαίτερα για το αγγειακό τοίχωμα έχουν οι POC της κυτταρικής μεμβράνης και οι ROC της μεμβράνης του ενδοπλασματικού δικτύου όπου, όμως, υποδοχέας και διάυλος συνυπάρχουν στο ίδιο σύμπλεγμα μορίων (15-17).

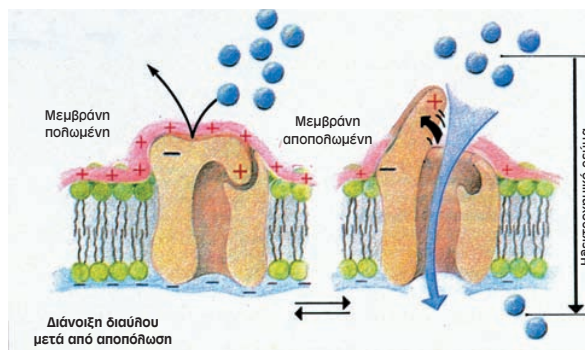
### **1. Διάυλοι της κυτταρικής μεμβράνης**

Οι κυριότεροι διάυλοι στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης είναι οι δυναμικοευαίσθητοι διάυλοι (POC: Potential Operating Channels ή VGC: Voltage Gated Channels). Πολλές αναφορές ομιλούν για τη σύζευξη υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη με διαύλους ιόντων μέσω G-πρωτεϊνών. Οι διάυλοι αυτοί ονομάζονται χημιοευαίσθητοι ή ενεργοποιούμενοι από τους υποδοχείς (ROC: Receptor Operating Channels). Δεν είναι γνωστοί οι μηχανισμοί επικοινωνίας των G-πρωτεϊνών με τους ROC διαύλους του  $\text{Ca}^{2+}$ , πιστεύεται όμως ότι η σχέση αυτή αφορά ορισμένους διαύλους και ότι το σύμπλεγμα βγ της G-πρωτεΐνης έχει ρόλο. Φαίνεται, ωστόσο ότι η I-II αγκύλη καθώς και το C- πέρας των  $\alpha_1$ -υπομονάδων των διαύλων αυτών είναι σημαντικές θέσεις που υπόκεινται σε ρύθμιση από τις G-πρωτεΐνες. Εντούτοις, η ύπαρξη στην κυτταρική μεμβράνη αυτού του είδους των υποδοχέων ROC αμφισβητείται σήμερα από ορισμένους ερευνητές, ενώ άλλοι πιστεύουν ότι αφορά ορισμένα είδη κυττάρων, όπως εκείνα του νευρικού ιστού (8,10-14).

#### **A. Δυναμικοευαίσθητοι διάυλοι της κυτταρικής μεμβράνης**

Σύμφωνα με πρόσφατες αναφορές, οι POC - διάυλοι  $\text{Ca}^{2+}$  απαρτίζονται από ετερομερείς πρωτεΐνες και διακρίνονται σε έξι λειτουργικές υποομάδες που χαρακτηρίζονται από τα γράμματα T, L, N, P, Q και R. Αυτές οι υποομάδες εντάσσονται σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη κατηγορία των ενεργοποιούμενων με μικρή αποπολωτική εκτροπή του δυναμικού ηρεμίας ανήκει μόνο η υποομάδα των T-διαύλων. Οι διάυλοι αυτοί παρουσιάζουν μικρή αγωγιμότητα και σύντομα αδρανοποιούνται. Στη δεύτερη κατηγορία των ενεργοποιούμενων μετά από ισχυρή αποπόλωση εντάσσονται όλοι οι υπόλοιποι διάυλοι. Στις λείες μυϊκές ίνες κυριαρχεί ο L - διάυλος.





Εικόνα 5.2: Μηχανισμοί εισόδου των  $\text{Ca}^{2+}$  από τον εξωκυττάριο χώρο στο κυτταρόπλασμα μέσω της διάνοξης των δυναμικοευαίσθητων διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης. Με την αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης ανοίγουν οι δυναμικοευαίσθητοι (POC: Potential Operating Channels) και εισέρχονται τα  $\text{Ca}^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα της λείας μυϊκής ίνας.

*Despotopoulos A., Silbernagl S.: Color Atlas of Physiology, 1991*

Ειδικότερα για τον L-διάυλο, σήμερα είναι γνωστό ότι αποτελείται από τέσσερα όμοια επιμέρους πρωτεϊνικά σύμπλοκα.

#### Δομή και λειτουργία των L- διαύλων των λείων μυϊκών ινών

Κάθε σύμπλοκο αποτελείται από πέντε πρωτεϊνικές υπομονάδες από τις οποίες η  $\alpha 1$ -υπομονάδα (πρωτεΐνη 212000 daltons) είναι αυτή που κυριαρχεί. Η υπομονάδα αυτή αποτελείται από τέσσερα ομοιόμορφα διαμεμβρανικά επαναλαμβανόμενα συμπλέγματα (μοτίβα) ή περιοχές (motifs ή domains), που το καθένα παρουσιάζει έξι ελικοειδή τμήματα (segments) τα οποία διασχίζουν τη μεμβράνη. Η  $\alpha 1$ - υπομονάδα είναι ενωμένη με μορφή συμπλόκου με τη  $\beta$ -υπομονάδα ( πρωτεΐνη 55000 daltons ) που ευρίσκεται μέσα στο κυτταρόπλασμα. Επίσης, είναι ενωμένη με τη  $\gamma$ -υπομονάδα (πρωτεΐνη 30000 daltons) που διασχίζει την κυτταρική μεμβράνη και είναι γλυκοζυλιωμένη, καθώς και με την  $\alpha 2$ -υπομονάδα (πρωτεΐνη 143000 daltons) που είναι σύμπλοκο γλυκοπρωτεΐνης συνδεδεμένο με δισουλφιδικό δεσμό. Τέλος, η  $\alpha 1$ -υπομονάδα συνδέεται και με τη  $\delta$ -υπομονάδα (πρωτεΐνη 27000 daltons). Οι υπομονάδες των διαύλων αυτών αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, καθώς και με άλλα κυτταρικά μόρια (18-21).

Τέσσερα από αυτά τα πρωτεϊνικά συμπλέγματα, όπως ήδη αναφέρθηκε, δημιουργούν το διάυλο. Η  $\alpha 1$ -υπομονάδα εντοπίζεται, ως εκ τούτου, σε τέσσερα σημεία του μορίου του διαύλου, τα οποία ονομάζονται, όπως ήδη αναφέρθηκε, μοτίβα (επαναλαμβανόμενες δομές), χαρακτηρίζονται με τους λατινικούς αριθμούς I, II, III και IV και συνδέονται μεταξύ τους με έλικες. Κάθε μοτίβο αποτελείται με τη σειρά του από έξι τμήματα που είναι τα S1, S2, S3, S4, S5 και S6. Ο δεσμός μεταξύ των S5 και S6 τμημάτων χαρακτηρίζεται ως P-αγκύλη και

αποτελείται από τα κομμάτια S51 και S52. Τα IS3 και IS6 τμήματα και οι πλευρικές τους περιοχές είναι υπεύθυνα για την ενεργοποίηση και την αδρανοποίηση της κινητικής στο διάυλο. Ειδικότερα, έχει ευρεθεί ότι τα τμήματα S6 που κείνται στην επιφάνεια του πόρου, περιέχουν αμινοξέα που έχουν σχέση με την αδρανοποίηση του διαύλου και ορισμένα από αυτά προσδιορίζουν τις θέσεις σύνδεσης των διυδροπυριδινών.

Οι αισθητήρες των αλλαγών του δυναμικού σχετίζονται με τα θετικά φορτία των υπολοίπων της λυσίνης και της αργινίνης και η εκλεκτικότητα καθορίζεται από αμινοξέα της Ρ-αγκύλης. Τα S5 και τα S6 τμήματα καθώς και οι Ρ-αγκύλες δημιουργούν τον πόρο του διαύλου. Τα S6 τμήματα οριοθετούν τον πόρο του διαύλου σε σχέση με το κυτταρόπλασμα και όταν συσφίγγονται αδρανοποιούν το διάυλο. Η ελαφρά ελικοειδής μετατόπισή τους προς τα άνω κατά την αποπόλωση, με συνέπεια την περιστροφή των S4 τμημάτων, είναι υπεύθυνη για την ευαισθητοποίηση των διαύλων στις αλλαγές του δυναμικού. Η πρωτεΐνη ADSI (Annular Determinant of Slow Inactivation: Δακτυλιοειδής παράγοντας που καθορίζει τη βραδεία αδρανοποίηση) αποτελείται από υδρόφοβα υπόλοιπα αμινοξέων, ευρίσκεται στα S6 τμήματα και αποτελεί για τον πόρο του διαύλου τον αντιθάλαμο προς την πλευρά του κυτταροπλάσματος. Ο τομέας CSD (Calcium Sensing Domain: Τομέας Ευαίσθητος στο Ασβέστιο) ευρίσκεται στην αλυσίδα που οδηγεί στο καρβοξυλικό (COOH) ενδοκυττάριο πέρας του μορίου της α1-υπομονάδας του πρωτεϊνικού συμπλέγματος των μοτίβων τα οποία συνδεόμενα ανά τέσσερα δημιουργούν το διάυλο. Ο τομέας αυτός περιλαμβάνει δύο αισθητήρες της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του ελεύθερου  $Ca^{2+}$ : τον αισθητήρα LA που ευρίσκεται στο τμήμα 1572-1604 των υπολοίπων αμινοξέων της αλυσίδας αυτής και τον αισθητήρα QI που ευρίσκεται στο αντίστοιχο τμήμα 1617-1636 της ίδιας αλυσίδας (22).

Η α1-υπομονάδα παίζει κυρίαρχο ρόλο στη λειτουργία του διαύλου. Είναι η υπομονάδα που επιτρέπει την εκλεκτική είσοδο των  $Ca^{2+}$  διά του διαύλου παρ'όλο που η εξωκυττάρια συγκέντρωση του  $Na^+$  είναι εκατονταπλάσια. Σε συνδυασμό με τις άλλες υπομονάδες που όπως φαίνεται παίζουν βοηθητικό ρόλο, αποκαθιστά τις κινητικές παραμέτρους του διαύλου στο φυσιολογικό, μετακινεί τον ουδό ενεργοποίησης καθώς και την κορυφή στα υπερπολωτικά δυναμικά και αυξάνει την πυκνότητα των υποδοχέων του διαύλου προς τους οποίους στοχεύουν τα φάρμακα που δρουν ως αποκλειστές. Στις ενέργειες αυτές η συμμετοχή της β-υπομονάδας φαίνεται ότι είναι πολύ σημαντική. Η α1-υπομονάδα φέρει υποδοχείς για τουλάχιστον τρεις κατηγορίες φαρμάκων αποκλειστών των διαύλων του  $Ca^{2+}$ . Το σημείο σύνδεσης των διυδροπυριδινών ευρίσκεται σε μια υδρόφοβη περιοχή κοντά στην εξωτερική επιφάνεια (18-20).

ΗΡ-αγκύλη στην α1-υπομονάδα φαίνεται ότι παίζει μεγάλο ρόλο στην εκλεκτική είσοδο των  $Ca^{2+}$ . Μπορεί να πτυχωθεί εκτός της μεμβράνης δημιουργώντας

μια, κατά κάποιο τρόπο, επένδυση στον πόρο του POC διαύλου. Παράλληλα, η αυστηρή ευθυγράμμιση των υπολοίπων του γλουταμινικού οξέος στο κομμάτι S52 της P-αγκύλης σημαίνει ότι οι αρνητικά φορτισμένες αλυσίδες μπορούν να δώσουν την εκλεκτικότητα για τη δέσμευση των  $Ca^{2+}$  εμποδίζοντας συγχρόνως τη ροή των μονοσθενών ιόντων. Αυτή η σύνδεση του πρώτου  $Ca^{2+}$  σε αυτό το υψηλής εκλεκτικότητας σημείο που κείται κοντά στην εξωτερική πλευρά του διαύλου εξασθενεί με την άφιξη και τη δέσμευση του δεύτερου  $Ca^{2+}$ , με αποτέλεσμα το πρώτο να περνά μέσα. Αυτό γίνεται είτε με απώθηση των θετικά φορτισμένων ιόντων είτε με μοριακές διακυμάνσεις των κατ'αντιστοιχία διευθετημένων υπολοίπων του γλουταμινικού οξέος στο προαναφερθέν κομμάτι S52 της P-αγκύλης ή και με τους δύο μηχανισμούς (23,24).

Μεταλλάξεις που έχουν διαπιστωθεί στην  $\alpha 1$ -υπομονάδα δημιουργούν συνέπειες οι οποίες κυμαίνονται από μικροδιαταραχές στη λειτουργία των διαύλων αυτών μέχρι την εμφάνιση παθήσεων όπως είναι η κακοήθης υπερθερμία, η υποκαλιαμική περιοδική παράλυση και η οικογενής ημιπληγική ημικρανία (21).

Τα προαναφερθέντα τμήματα I53 και I56 είναι σε πλήρη γειτνίαση με την  $\beta$ -υπομονάδα. Πιστεύεται ότι μια αλληλεπίδραση μεταξύ των  $\alpha 1$  και  $\beta$ -υπομονάδων δημιουργεί ένα σημείο ελέγχου που αφορά την ευαισθησία της κυτταρικής μεμβράνης στα δυναμικά, καθώς, επίσης, και τη δυνατότητα εισόδου και ίσως και προσέγγισης των διυδροπυριδινών στο δίαυλο. Αυτή είναι μια πιθανή εξήγηση για το μηχανισμό του ρυθμιστικού ρόλου που παίζουν οι λοιπές υπομονάδες.

Η  $\beta$ -υπομονάδα των δυναμικοευαίσθητων διαύλων του  $Ca^{2+}$  κωδικοποιείται από τέσσερα γονίδια και εκφράζεται σε αντίστοιχα τέσσερις υποτύπους, τους  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  και  $\beta_4$ , καθώς και σε ποικιλίες που προέρχονται από διαφορετική αποκοπή του προδρόμου μορίου. Η  $\beta$ -υπομονάδα επηρεάζει ανάλογα με τον υποτύπο θετικά ή αρνητικά το ρυθμό αδρανοποίησης των διαύλων αυτών και ως εκ τούτου και τη συγγένεια των φαρμάκων αναστολέων της εισόδου του  $Ca^{2+}$  ως προς τους διαύλους αυτούς (25).

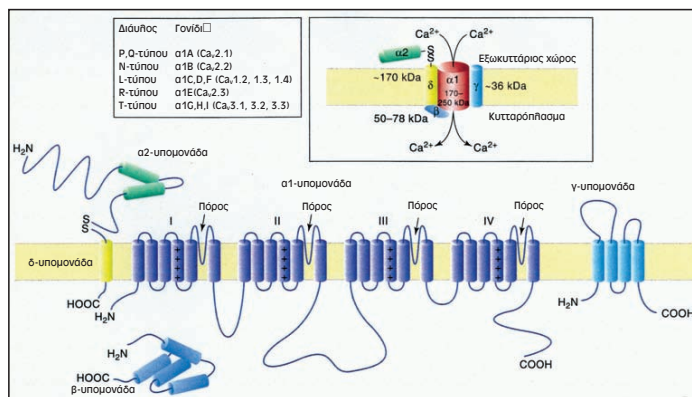
Η  $\beta$ -υπομονάδα δρα υποβοηθητικά. Ανάμεσα στις άλλες δράσεις, η  $\beta$ -υπομονάδα αυξάνει το εύρος του δυναμικού δράσης και υπερπολώνει τη δυναμικοεξαρτώμενη ενεργοποίηση του διαύλου, ούτως ώστε οι δίαυλοι να ανοίγουν σε μικρότερα δυναμικά κατά την αποπόλωση της μεμβράνης, πιθανόν δε να ενεργεί και ως μεσολαβητής των σημάτων που έρχονται κατά την κένωση του ενδοπλασματικού δικτύου. Πολλοί πιστεύουν ότι αυτό επιτυγχάνεται κυρίως με την αύξηση του αριθμού των διαύλων που ανοίγουν στην κυτταρική μεμβράνη (23,24,26).

Το μόριο της  $\beta$ -υπομονάδας παρουσιάζει ένα αμινικό N-πέρας στο οποίο είναι πρασαρτημένη μια μακρά  $\alpha 1$ -έλικα που αποτελείται από τουλάχιστον 20

αμινοξέα και ένα καρβοξυλικό C-πέρας. Η β-υπομονάδα και αποτελείται από δύο τομείς που συνδέονται μεταξύ τους με μία εύκαμπτη αγκύλη. Ο ένας τομέας είναι μια Src ομολογία 3 (SH3) και ο άλλος τομέας μια γουανυλική κυκλάση. Οι Src είναι πρωτεΐνες δίκην ικρίωματος (scaffold), διότι περιέχουν πολλά τμήματα για αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών. Ο τομέας αυτός παρουσιάζει δέσμες από τις οποίες οι τέσσερις πρώτες σχηματίζουν ορθογώνιο, ενώ από την τέταρτη ξεκινά μια μακρά δεύτερη α2-έλικα. Ο τομέας SH3 δεν συμμετέχει στη σύνδεση με την α1-υπομονάδα. Μεταξύ των δύο αυτών τομέων υπάρχουν όντως αλληλεπιδράσεις, ώστε να σχηματίζουν έναν σταθερό πυρήνα. (17,26)

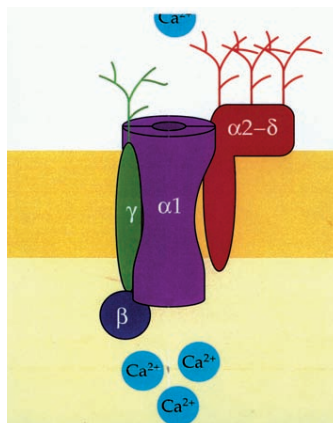
Το μόριο της β-υπομονάδας παρουσιάζει έναν υδρόφοβο θύλακα ο οποίος συνδέεται με μια ειδική περιοχή της α1-υπομονάδας που ονομάζεται AID (α1-Interaction Domain: Τομέας αλληλεπίδρασης της α1-υπομονάδας), η οποία ευρίσκεται στην αγκύλη που συνδέει τα μοτίβα I και II. Πρόκειται για μια περιοχή που αποτελείται από 18 αμινοξέα και αρχίζει 23 αμινοξέα μετά το τέλος της έκτης διαμεμβρανικής έλικας του μοτίβου I. Η περιοχή AID διαθέτει τρία υπόλοιπα αμινοξέων, τα ισολευκίνη 441, τυροσίνη 437 και τρυπτοφάνη 440, τα οποία αποτελούν τα σημεία κλειδιά για τη σύνδεση αυτή (26).

Δεν είναι γνωστό αν οι G-πρωτεΐνες, στις οποίες έχει ήδη γίνει αναφορά, επικοινωνούν με τους ΡΟC διαύλους του  $Ca^{2+}$  άμεσα ή μέσω κάποιου αγγελιαφόρου. Φαίνεται, όμως, ότι η αγκύλη που σχηματίζουν τα μοτίβα I-II καθώς και το C-πέρας των ελίκων των α1-υπομονάδων των διαύλων αυτών είναι σημαντικές θέσεις που υπόκεινται σε ρύθμιση από τις G-πρωτεΐνες.

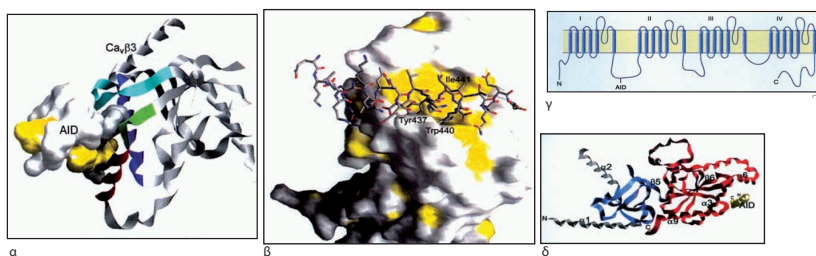


**Εικόνα 5.3:** Απεικόνιση της δομής των δυναμικοευαίσθητων διαύλων του  $Ca^{2+}$ . (άνω) Δομή των διαύλων. Διακρίνονται οι επιμέρους υπομονάδες. (κάτω) Διαμεμβρανική θέση των τεσσάρων μοτίβων της α1-υπομονάδας. Επισημαίνονται οι λειτουργικές θέσεις, όπως οι αισθητήρες των μεταβολών του δυναμικού (+), και απεικονίζονται οι υπόλοιπες υπομονάδες που συνδέονται με ειδικές θέσεις των μοτίβων I-II της α1-υπομονάδας.

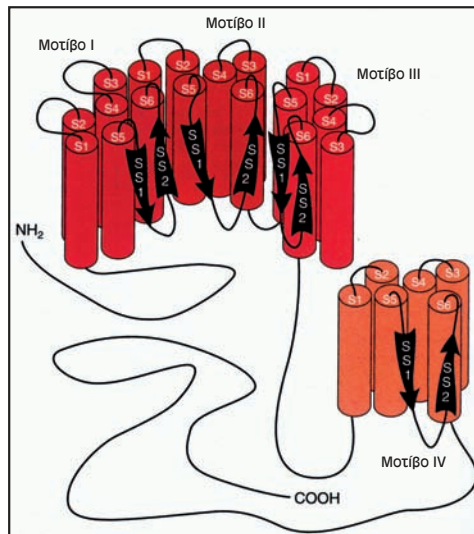
*Trends Pharmacol. Sci.* 22, 2001



**Εικόνα 5.4:** Σύνδεση της β-υπομονάδας με την α1-υπομονάδα των διαύλων του  $Ca^{2+}$ . (άνω) Αναπαράσταση του μορίου της α1-υπομονάδας. Η περιοχή σύνδεσης της α1-υπομονάδας με τη β-υπομονάδα (AID: α1-Interaction Domain) ευρίσκεται στην αγκύλη που συνδέει τα μοτίβα I και II. Πρόκειται για μια περιοχή που αποτελείται από 18 αμινοξέα και αρχίζει 23 αμινοξέα μετά το τέλος της έκτης διαμεμβρανικής έλικας του μοτίβου I. (κάτω) Τρεις εικόνες που αναφέρονται στη σύνδεση της β-υπομονάδας με την α1-υπομονάδα. (κάτω αριστερά) Η περιοχή AID της α1-υπομονάδας συνδεδεμένη με τον υδρόφοβο θύλακα σύνδεσης της β-υπομονάδας. (κάτω κέντρο) Τα υπόλοιπα αμινοξέων I1441, Tyr437 και Trp440 της περιοχής AID της α1-υπομονάδας αποτελούν τα σημεία κλειδιά για τη σύνδεση με τη β-υπομονάδα (κίτρινο). (κάτω δεξιά) Δομή του συμπλέγματος της β-υπομονάδας και της περιοχής σύνδεσης AID της α1-υπομονάδας. Απεικονίζονται ο τομέας SH3 της β-υπομονάδας (μπλε) και ο τομέας της γουανυλοκυκλάσης (κόκκινο). Οι δύο μακρές έλικες α1 και α2 είναι προσαρτημένες στον τομέα SH3. Η περιοχή AID συνδέεται με το θύλακα της β-υπομονάδας στην απέναντι πλευρά από τον τομέα της γουανυλοκυκλάσης.  
*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*

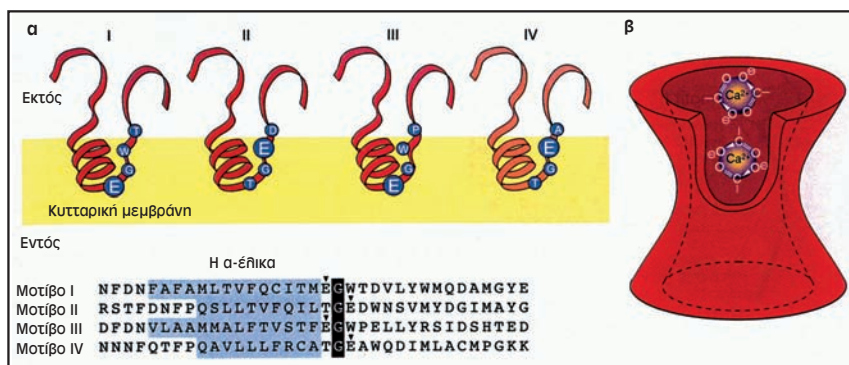


**Εικόνα 5.5:** Δομή των L-τύπου δυναμικοευαίσθητων διαύλων του  $Ca^{2+}$  στην κυτταρική μεμβράνη των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Οι διαύλοι αυτοί αποτελούνται από ένα σύμπλεγμα επιμέρους πρωτεϊνών στις οποίες η α1-υπομονάδα έχει τον κυρίαρχο ρόλο στη λειτουργία του διαύλου.  
*Inside leaf, Trends Pharmacol. Sci, 1997*



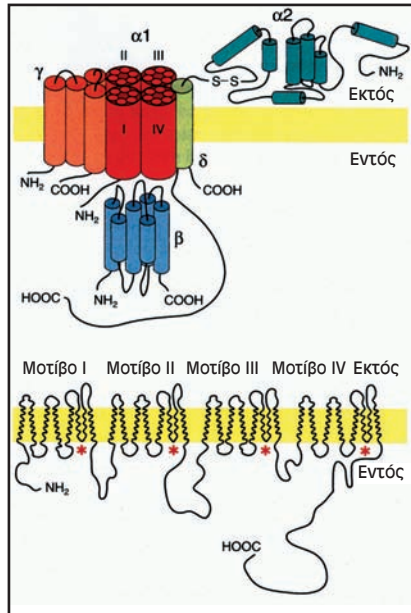
**Εικόνα 5.6:** Σύμπυξη των α1-υπομονάδων στον δυναμικοευαίσθητο διάλυο του Ca<sup>2+</sup>. Τα τέσσερα μοτίβα της α1-υπομονάδας διπλώνονται ώστε να σχηματίσουν το διάλυο του Ca<sup>2+</sup>. Αναπαρίστανται τα τμήματα SS1 και SS2 στα τοιχώματα του αυλού του διαλύου στα οποία αποδίδεται η εκλεκτικότητα στο Ca<sup>2+</sup>.

*Trends Pharmacol. Sci.* 16,1995



**Εικόνα 5.7:** Προτεινόμενη δομή του δυναμικοευαίσθητου διαλύου του Ca<sup>2+</sup>. (α) Στο άνω μέρος αναπαρίστανται η διάταξη της α-έλικας του κάθε μοτίβου στην περιοχή του αυλού. Στο κάτω μέρος αναπαρίστανται η διάταξη των αμινοξέων, όπου φαίνεται η θέση των υπολοίπων της Glu στα οποία αποδίδεται η εκλεκτικότητα στο Ca<sup>2+</sup>. (β) Προτεινόμενη διάταξη των υπολοίπων της Glu στον αυλό του διαλύου και οι αλληλεπιδράσεις τους (άνω) με φυσιολογικές συγκεντρώσεις Ca<sup>2+</sup> και (κάτω) με αντίστοιχες υψηλές συγκεντρώσεις Ca<sup>2+</sup>.

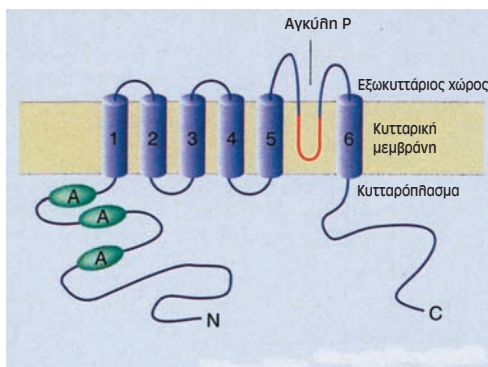
*Trends Pharmacol. Sci.* 16,1995



**Εικόνα 5.8: Προτεινόμενη επιμέρους δομή των δυναμικοευαίσθητων υψηλού δυναμικού διαύλων του  $Ca^{2+}$ .** (α) Διάταξη των υπομονάδων. (β) Δομή των τεσσάρων μοτίβων της  $\alpha 1$ -υπομονάδας. \* Τα τμήματα SS1 και SS2 που σχηματίζουν τη P-αγκύλη σε κάθε μοτίβο. Η εικόνα αφορά γραμμωτή μυϊκή ίνα, αλλά είναι ενδεικτική του τι συμβαίνει και στις λείες μυϊκές ίνες.  
*Trends Pharmacol. Sci. 16,1995*

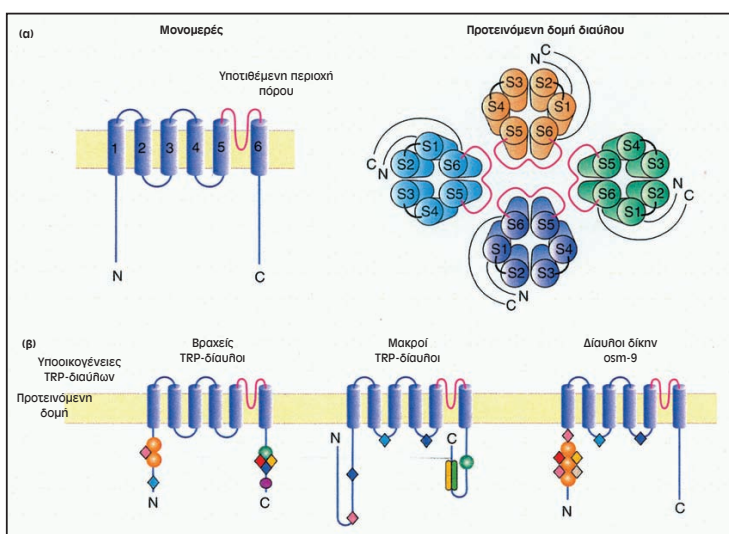
### **B. Δυναμικοευαίσθητοι διάλυοι παροδικής διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης**

Μια ξεχωριστή κατηγορία POC είναι οι δυναμικοευαίσθητοι διάλυοι παροδικής διαπερατότητας (TRP:Transient Receptor Potential related channels). Πρόκειται για διαύλους που ανοίγουν με μικρές μεταβολές του δυναμικού και προάγουν την είσοδο στο κύτταρο των  $Ca^{2+}$  και/ή των  $Na^+$ . Οι διάλυοι αυτοί συνιστούν μια υπερομάδα διαφορετικών πρωτεϊνών και εκφράζονται σε πολλούς τύπους κυττάρων, στα οποία περιλαμβάνονται ηλεκτρικώς διεγειρόμενα και μη κύτταρα. Οι διάλυοι αυτοί φαίνεται ότι καθώς μεθοδεύουν την άμεση είσοδο του  $Ca^{2+}$  παράλληλα ρυθμίζουν και την είσοδο του  $Mg^{2+}$  και συμβάλλουν στη ρύθμιση του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης. Τουλάχιστον 22 γονίδια που κωδικοποιούν τους διαύλους αυτούς έχουν εντοπισθεί στα θηλαστικά. Υπάρχουν τρεις βασικές υποοικογένειες, η TRPC (Transient Receptor Potential Canonical) ή βραχείς TRP διάλυοι, η TRPV (Transient Receptor Potential Valinoid receptor related) ή *osm-9-like* TRP διάλυοι, η TRPM (Transient Receptor Potential Melastatin related) ή μακροί TRP διάλυοι, και άλλες τέσσερις με λιγότερο κοινά σημεία. Οι TRP αποτελούνται από έξι διαμεμβρανικές υπομονάδες που συνδυ-



**Εικόνα 5.9:** Δομή του βαλνισειδούς υποδοχέα 1 της κατηγορίας των δυναμικοευσίθητων διαύλων παροδικής διαπερατότητας που σχετίζονται με υποδοχείς (TRP: Transient Receptor Potential related channels) του  $Ca^{2+}$ . Η πρωτεΐνη του υποδοχέα αυτού αποτελείται από έξι δι-αμεμβρανικά τμήματα και μια Ρ-αγκύλη πόρου. Στο Ν-πέρας υπάρχουν τρεις επαναλήψεις ανκυρίνης (Α). Πιστεύεται ότι οι υποδοχείς αυτοί αποτελούν άθροισμα πολλών πρωτεϊνών αυτής της μορφής.

*Trends Pharmacol. Sci. 23,2002*



**Εικόνα 5.10:** Δυναμικοευσίθητοι διαύλοι  $Ca^{2+}$  παροδικής διαπερατότητας που σχετίζονται με υποδοχείς (TRP: Transient Receptor Potential related channels). (α) Προβλεπόμενη μεμβρανική θέση και διάταξη του μορίου του TRP-διαύλου ως μονομερούς (αριστερά) και λειτουργική τετραμερής δομή του διαύλου (δεξιά). (β) Θέσεις ρυθμιστικές και θέσεις αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών των TRP-διαύλων. Παρουσιάζονται γενικά χαρακτηριστικά όπως οι θέσεις της ανκυρίνης στα Ν-πέρατα (πορτοκαλί κύκλοι) και οι πλούσιες σε προλίνη περιοχές (πράσινοι κύκλοι). Επίσης παρουσιάζονται οι θέσεις αλληλεπίδρασης με διάφορα κυτταροπλασματικά μόρια. Θέσεις σύνδεσης με διάφορες κινάσες (χρωματιστοί ρόμβοι) των διαφόρων υποτύπων της καθεμίας από τις τρεις κατηγορίες των TRP-διαύλων.

*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*



άζονται για να σχηματίσουν έναν διάυλο εκλεκτικό προς τα κατιόντα. Δεν είναι ακριβώς γνωστοί οι μηχανισμοί ενεργοποίησης των διαύλων αυτών, φαίνεται όμως ότι αυτό συμβαίνει μετά την ενεργοποίηση της PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C) και δεν σχετίζεται κατ' ανάγκην με την κένωση των ενδοκυττάρων αποθηκών του  $Ca^{2+}$ . Οι διάυλοι αυτοί ευαισθητοποιούνται από διάφορα τοπικά ερεθίσματα που κυμαίνονται από μεταβολές του φωτός και της θερμοκρασίας έως και μεταβολές της πίεσης. Ιδιαίτερα, ορισμένοι υποδοχείς τύπου TRPV διεγείρονται με την εξάντληση των ενδοκυττάρων αποθηκών του  $Ca^{2+}$ . Διάυλοι τύπου TRPC3, TRPC6, TRPC7 εντοπίζονται ευρύτατα στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και στα μυοκαρδιακά κύτταρα. Ειδικότερα, οι διάυλοι TRPC6 προκαλούν την αποπόλωση η οποία επάγεται από την αύξηση στην αρτηριακή πίεση, που με τη σειρά της προάγει την είσοδο του  $Ca^{2+}$  το οποίο στη συνέχεια διεγείρει τις μυογενείς αντιδράσεις των μικρών αρτηριών και των αρτηριδίων (20,27-29).

Έχει ήδη αναπτυχθεί κατά κόρον σε προηγούμενα κεφάλαια ότι όταν ένας αγωνιστής διεγείρει υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέεται με το σύστημα της PLC, τότε υδρολύεται η  $PI(4,5)P_2$  (Phosphatidylinositol Biphosphate: Διφωσφορική Φωσφατιδυλινοσιτόλη). Η βιοχημική αυτή αντίδραση οδηγεί στο σχηματισμό της (1,4,5) τριφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης [(1,4,5)IP<sub>3</sub>: (1,4,5) Inositol Triphosphate)] και της διακυλογλυκερόλης (DAG: Diacylglycerol). Η μεν 1,4,5IP<sub>3</sub> περνά στο κυτταρόπλασμα και διεγείρει τους υποδοχείς της στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου απελευθερώνοντας  $Ca^{2+}$ , η δε DAG κινείται στην κυτταρική μεμβράνη και διεγείρει την πρωτεϊνική κινάση C (PKC: Protein Kinase C).

Ειδικότερα, η οικογένεια των TRPC-διάυλων, στην οποία ήδη έγινε αναφορά, αποτελείται από επτά μέλη. Οι διάυλοι αυτοί ευρίσκονται με τη μορφή ομοιοδιμερών ή ετεροδιμερών τα οποία διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη ρύθμιση και τη λειτουργία την οποία επιτελούν. Σήμερα είναι παραδεκτό ότι οι TRPC-διάυλοι ενεργοποιούνται κατά την υδρολυτική αυτή αντίδραση και ότι κατασκήνουν και ρυθμίζονται σε κυτταρικούς μικροτομείς που έχουν σχέση με την ασβεστιοεξαρτώμενη ενδοκυττάρια σηματοδότηση. Οι αλληλεπιδράσεις των διαύλων αυτών με ρυθμιστικές και κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες συμβάλλουν στην ποικιλία των σχηματιζόμενων διμερών αλλά και στον μεταξύ τους αποχωρισμό. Επιπλέον, θεωρείται βέβαιο ότι η οικογένεια των TRPC διαύλων αποτελεί τμήμα του όλου συστήματος των διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης οι οποίοι ανοίγουν όταν κενώνονται οι ενδοκυττάρια αποθήκες  $Ca^{2+}$ , χωρίς αυτό να σημαίνει ότι οι διάυλοι αυτοί δεν ανοίγουν και με άλλους μηχανισμούς που δεν εξαρτώνται από τις ενδοκυττάρια αποθήκες (30).

Επικρατούσα είναι σήμερα η άποψη ότι τα διάφορα σήματα που κινητοποιούνται από το  $Ca^{2+}$  ρυθμίζονται με μηχανισμούς οι οποίοι έχουν σχέση με

την πρόσκαιρη ενδοκυττάρια διαμερισματοποίηση των εκάστοτε συμμετεχόντων σηματοδοτικών μορίων. Επιπλέον, διακριτές λιπιδικές περιοχές της κυτταρικής μεμβράνης χρησιμεύουν ως βάση για τη συγκέντρωση των παραπάνω σηματοδοτικών μορίων. Η συγκέντρωση των μορίων αυτών πραγματοποιείται από κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες όπως η Homer, η Rack1 και η Sap90. Οι TRPC-διάυλοι δημιουργούν σύμπλοκα "signalplexes" με τις ρυθμιστικές και τις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες με τα σύμπλοκα αυτά προσδιορίζεται τόσο η ρύθμιση όσο και η θέση και η στόχευση των διαύλων αυτών. Παράλληλα, τα σύμπλοκα αυτά περιέχουν μόρια κλειδιά για την ασβεστιοεξαρτώμενη ενδοκυττάρια σηματοδότηση (30).

Υπάρχει μια κυκλική πορεία των διαύλων αυτών. Οι διάυλοι κατευθύνονται στην κυτταρική μεμβράνη όπου ενεργοποιούνται κατά την υδρόλυση της  $PI(4,5)P_2$ , αφού πρώτα ενσωματωθούν σε αυτήν. Στη συνέχεια περνούν στον υπό τη μεμβράνη χώρο ή οδεύουν για διάσπαση στα λυσοσωμάτια, ενώ νέοι TRPC-διάυλοι κατευθύνονται προς την κυτταρική μεμβράνη. Οι ρυθμοί και οι εκάστοτε ποσότητες εξαρτώνται από τις λειτουργικές ανάγκες των κυττάρων (30).

### *Γ. Διάυλοι της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με την κένωση των ενδοκυττάρων αποθηκών*

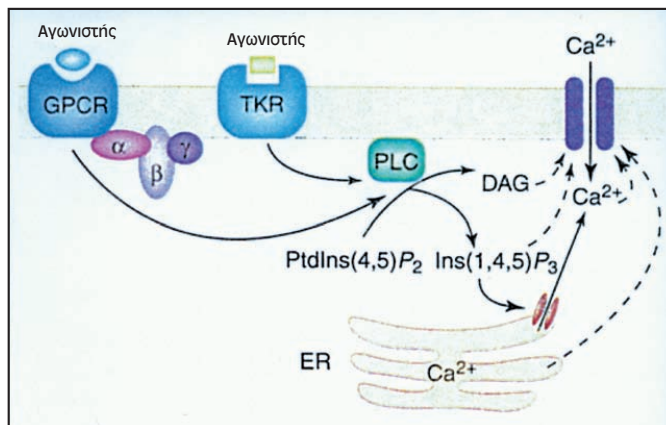
Υπάρχει επίσης η άποψη ότι η κινητοποίηση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο και τις λοιπές ενδοκυττάρειες αποθήκες και η είσοδος του ιόντος αυτού στο κυτταρόπλασμα, με μηχανισμούς που θα περιγραφούν στη συνέχεια, προάγει τη διάνοιξη διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης με συνέπεια την είσοδο εξωκυττάρου  $Ca^{2+}$  το οποίο έρχεται να αντικαταστήσει την απώλεια του ιόντος αυτού από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες. Δεν είναι, όμως, γνωστός ο τρόπος με τον οποίο το μήνυμα διασχίζει την απόσταση των 2 nm που χωρίζει τις δύο περιοχές, δηλαδή την κυτταρική μεμβράνη από τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου. Οι διάυλοι αυτοί ονομάζονται CRAC ( $Ca^{2+}$  Release -Activated  $Ca^{2+}$  Channel) ή SOCCs (Store - Operating -  $Ca^{2+}$  Channels) με το εισερχόμενο  $Ca^{2+}$  να αναπληρώνει, όπως ήδη ελέγχθη, τα δημιουργούμενα κενά στις αποθήκες αυτές. Δεν είναι γνωστό το σήμα που μεθοδεύει το άνοιγμα των διαύλων αυτών ούτε οι μηχανισμοί που τους διέπουν (21).

Ειδικότερα, προκειμένου για την οικογένεια των TRPC-διαύλων, στην οποία ήδη έγινε αναφορά, έχει διαπιστωθεί ότι η εσωτερική μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου ευρίσκεται σε πλήρη επαφή με την κυτταρική μεμβράνη και μάλιστα στην περιοχή εκείνη του κυττάρου που συνδέεται με τους μηχανισμούς εισόδου των  $Ca^{2+}$  μέσω των παραπάνω διαύλων (30).

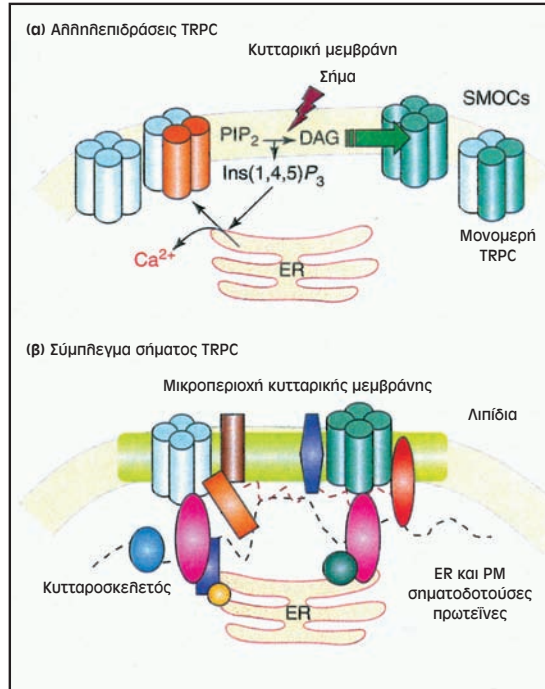
## 2. Διάλυοι στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου

Το  $\text{Ca}^{2+}$  απελευθερώνεται από το ενδοπλασματικό δίκτυο προς το κυτταρόπλασμα μέσω των διαύλων ICRCs (Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  Release Channels: Διάλυοι που απελευθερώνουν ενδοκυττάριο  $\text{Ca}^{2+}$ ) όπως είναι εκείνοι της τριφωσφορικής ινοσιτόλης και της ρυανοδίνης. Η φωσφορυλίωση των διαύλων ICRCs από την PKA οδηγεί στην απομάκρυνση της ανασταλτικής, ως προς τη διάνοιξή τους, πρωτεΐνης FKBP506 (FK Binding Protein 506: FK Συνδεδεμένη Πρωτεΐνη 506) και επιτρέπει την απελευθέρωση του  $\text{Ca}^{2+}$  (13,15,31,32).

Οι διάλυοι του  $\text{Ca}^{2+}$  στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου ανήκουν στην κατηγορία των ROC-διαύλων. Όπως ήδη αναφέρθηκε, διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: Αυτούς που ανοίγουν μετά τη διέγερση των υποδοχέων της τριφωσφορικής ινοσιτόλης ( $\text{IP}_3$ : Inositol Triphosphate) στη μεμβράνη του οργανυλίου αυτού και αυτούς που ανοίγουν ύστερα από τη διέγερση των υποδοχέων της ρυανοδίνης στην ίδια μεμβράνη.

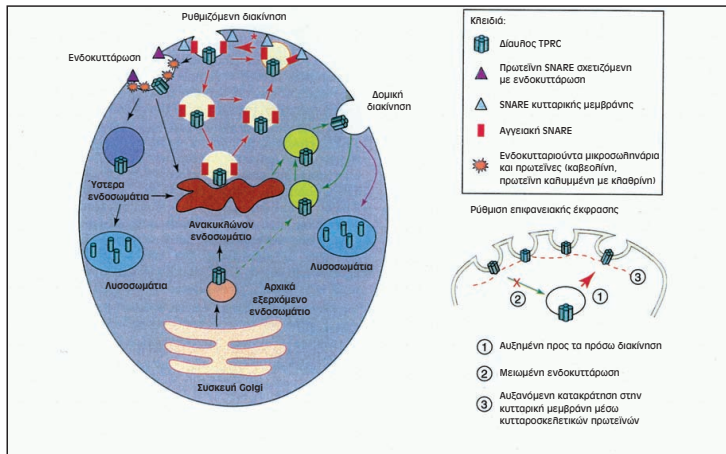


**Εικόνα 5.11: Ενεργοποίηση της εισόδου εξωκυττάρου  $\text{Ca}^{2+}$  μετά την κένωση των αποθηκών.** Η διέγερση των υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με την  $G_q$ -πρωτεΐνη (GPCR: G Protein Coupled Receptors) και των υποδοχέων που συνδέονται με την τυροσινική κινάση (TKRs: Tyrosine Kinase Receptors) έχει ως αποτέλεσμα να ενεργοποιείται το ενζυμικό σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C). Αποτέλεσμα είναι η υδρόλυση της 4,5 διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης [ $\text{PI}(4,5)\text{P}_2$ ; 4,5 Phosphatidyl Inositol Biphosphate] σε διακυλογλυκερόλη (DAG: Diacylglycerol) και σε 1,4,5 τριφωσφορική ινοσιτόλη [ $\text{I}(1,4,5)\text{P}_3$ ; Inositol 1,4,5 Triphosphate]. Η DAG ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC: Protein Kinase C), ενώ η  $\text{I}(1,4,5)\text{P}_3$  περνάει στο κυτταρόπλασμα ως δεύτερος αγγελιαφόρος και διεγείρει τους ομώνυμους υποδοχείς-διάλυους στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου (ER: Endoplasmic Reticulum) προάγοντας την έξοδο των  $\text{Ca}^{2+}$ . Στη συνέχεια και με μηχανισμό άγνωστο ανοίγουν διάλυοι  $\text{Ca}^{2+}$  μη δυναμικοεξαρτώμενοι στην κυτταρική μεμβράνη και το  $\text{Ca}^{2+}$  εισέρχεται στο κύτταρο. *Trends Pharmacol. Sci.* 23, 2002



**Εικόνα 5.12: Σηματοδοτικά σύμπλοκα των διαύλων-TRPC και συσχετισμοί με την κένωση των ενδοκυττάρων αποθηκών του Ca<sup>2+</sup>.** (α) Μονομερή των TRPC (Transient Receptor Potential related Channels: Δυναμικοευαίσθητοι διάυλοι Ca<sup>2+</sup> παροδικής διαπερατότητας που σχετίζονται με υποδοχείς) ενώνονται για να σχηματίσουν ομοιομερή ή ετερομερή λειτουργικά σύμπλοκα. Η επικρατούσα άποψη είναι ότι σχηματίζονται τετραμερή. Σχηματίζονται τόσο διάυλοι SOC (Store Operated Ca<sup>2+</sup> Channels: Διάυλοι που λειτουργούν με την κένωση των ενδοκυττάρων αποθηκών Ca<sup>2+</sup>) όπως γίνεται με τη δράση της IP<sub>3</sub> που προέρχεται από την υδρόλυση της PIP<sub>2</sub> (Inositol Βιρphosphate) όσο και διάυλοι SMOCs (receptor Second Messenger Operated Channels: Διάυλοι που λειτουργούν με δεύτερο αγγελιαφόρο μετά τη διέγερση του υποδοχέα), όπως είναι η διακυλογλυκερόλη (DAG:Diacylglycerol). (β) Τόσο οι διάυλοι-SOC όσο και οι μη SOC-TRPC διάυλοι αλληλεπιδρούν με βοηθητικές πρωτεΐνες τόσο στην κυτταρική μεμβράνη όσο και στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER: Endoplasmic Reticulum). Οι πρωτεΐνες αυτές εμπλέκονται τόσο στη λειτουργία των TRPC-διαύλων όσο και στη στόχευση και διακίνηση αυτών. Το σχηματιζόμενο σύμπλεγμα-σήματος (signalplex) φαίνεται ότι προσορμίζεται στον κυτταροσκελετό (μαύρες παχιές γραμμές) και αλληλεπιδρά με κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες (κόκκινες παχιές γραμμές). Όπου PM (Plasma Membrane:Κυτταρική Μεμβράνη).

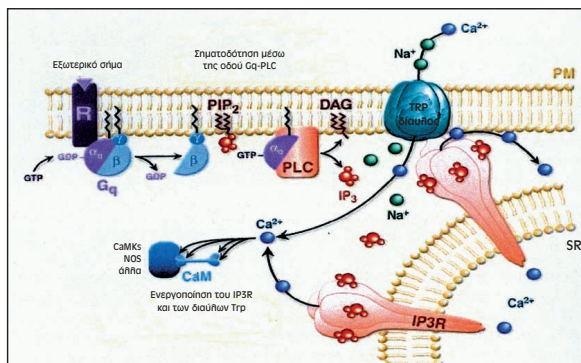
*Trends Pharmacol. Sci 27, 2006*



**Εικόνα 5.13: Πρωτεινόμενοι μηχανισμοί διακίνησης των διαύλων-TRPC.** Η επιφανειακή έκφραση των διαύλων-TRPC (Transient Receptor Potential related Channels: Δυναμικοευαίσθητοι διάυλοι παροδικής διαπερατότητας που σχετίζονται με υποδοχείς) καθορίζεται από τη δομική ανακύκλωσή τους, τη ρύθμιση της διακίνησής τους και τους μηχανισμούς ενδοκυττάρωσής τους. Οι διάυλοι-TRPC ανευρίσκονται ενδοκυττάρια σε διακινούμενα μικροσωληνάρια που κατευθύνονται σε διάφορες κυτταρικές θέσεις. Τα μικροσωληνάρια αυτά φαίνεται να σχετίζονται με τα ενδοσωμάτια. Η λύση των μικροσωληνάρων αυτών στην κυτταρική μεμβράνη μέσω αλληλεπιδράσεων της πρωτεΐνης SNARE καθιστά τους TRPC-διάυλους ικανούς να διεισδύουν και να εγκαθίστανται στη μεμβράνη αυτή. Κατά τη μετά τη διέγερση φάση, τα ενδοκυτταρούμενα με διάυλους-TRPC σωληνάρια μπορεί είτε να παραμείνουν στην υπό την κυτταρική μεμβράνη περιοχή για επανεισδοχή είτε να περάσουν στο εσωτερικό του κυττάρου στις περιπτώσεις που νέα μικροσωληνάρια που μεταφέρουν τους διάυλους-TRPC έρχονται προς την κυτταρική μεμβράνη. Στις περιπτώσεις αυτές, ένα μέρος των διαύλων-TRPC οδεύει προς τα λυσοσωμάτια, όπου και καταστρέφεται. Αυτό εξαρτάται από τις λειτουργικές ανάγκες του κυττάρου. Η αυξημένη έκφραση και λειτουργία των TRPC-διαύλων στην κυτταρική μεμβράνη, που αποτελεί ρυθμιστικό μηχανισμό επί κυτταρικής διέγερσης, επιτυγχάνεται μέσω αυξημένης προσφοράς και ελαττωμένης ενδοκυττάρωσης. Στις περιπτώσεις αυτές, προ-προσορμισμένα μικροσωληνάρια λύνονται στην περιοχή της κυτταρικής μεμβράνης, όταν το κύτταρο διεγείρεται (αστερίσκος) και αποδίδουν τους διαύλους-TRPC. *Trends Pharmacol. Sci 27, 2006*

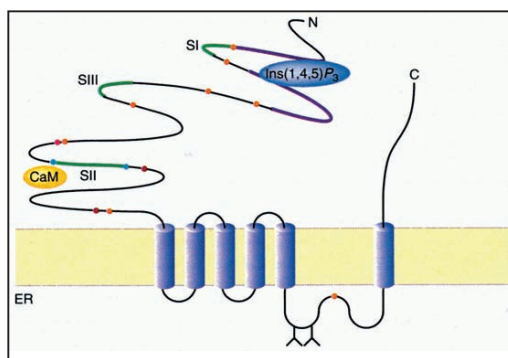
### A. Διάυλοι που διανοίγονται από δεύτερους αγγελιαφόρους

Η  $IP_3$  είναι το προϊόν της ενζυματικής δράσης του ενζύμου PLC, στο οποίο έχει ήδη γίνει αναφορά. Το ένζυμο αυτό υδρολύει τη διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη ( $PIP_2$ : Phosphatidyl Inositol Diphosphate) της κυτταρικής μεμβράνης. Το ένζυμο αυτό ενεργοποιείται ύστερα από τη διέγερση των επταμεμβρικών υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με την  $G_q$ -πρωτεΐνη. Η  $IP_3$  περνά στο κυτταρόπλασμα και φθάνοντας στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου διεγείρει τους υποδοχείς της προάγοντας την απελευθέρωση του  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα. Δηλαδή ενεργεί ως δεύτερος αγγελιαφόρος του μηνύματος το οποίο φθάνει στους επταδιαμεμβρικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης από τον εξωκυττάριο χώρο είτε με τη μορφή μιας ενδογενούς ουσίας είτε με τη μορφή ενός φαρμάκου (8,31-33).



**Εικόνα 5.14: Μηχανισμοί αύξησης του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα των λείων μυϊκών ινών.** Η διέγερση των υποδοχών της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με την  $G_q$  - πρωτεΐνη έχει ως αποτέλεσμα να ενεργοποιείται το ενζυμικό σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C). Αποτέλεσμα είναι η υδρόλυση της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης ( $PIP_2$ : Phosphatidyl Inositol Biphosphate) σε διακυλογλυκερόλη (DAG: Diacylglycerol) και σε τριφωσφορική ινοσιτόλη ( $IP_3$ : Inositol Triphosphate). Η DAG ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC: Protein Kinase C), ενώ η  $IP_3$  περνάει στο κυτταρόπλασμα ως δεύτερος αγγελιαφόρος και διεγείρει τους ομώνυμους υποδοχείς στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου προάγοντας την έξοδο των  $Ca^{2+}$ . Παράλληλα εισέρχονται  $Na^+$  και  $Ca^{2+}$  μέσω των διαύλων-TRP (Transient Receptor Potential: Διάλυλοι παροδικού δυναμικού).

Δ. Γιαννακίδης-Internet 2005



**Εικόνα 5.15: Δομή του υποδοχέα-διαύλου της  $Ins(1,4,5)P_3$  στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου.** Ο υποδοχέας αυτός είναι τετραμερής και κάθε υπομονάδα αποτελείται από ένα εξωκυττάριο N-πέρας που περιέχει το σημείο σύνδεσης (μωβ) ακολουθούμενο από έναν ρυθμιστικό τομέα και στη συνέχεια από έξι διαμεμβρανικά τμήματα που δημιουργούν το τοίχωμα του διαύλου και που καταλήγουν επίσης σε ένα εξωκυττάριο C-πέρας. Αναπαρίσταται η σύνδεση ενός μορίου  $Ins(1,4,5)P_3$  (1,4,5 Τριφωσφορική Ινοσιτόλη) με τον υποδοχέα, καθώς επίσης και τα σημεία σύνδεσης του  $Ca^{2+}$  με τον υποδοχέα (πορτοκαλί κύκλοι). Επίσης, καταγράφονται οι θέσεις σύνδεσης της ATP (έντονα κόκκινοι κύκλοι) και οι θέσεις φωσφορυλίωσης (κυανοί κύκλοι). Η CaM (Calmodulin:Καλμοδουλίνη) συνδέεται κοντά σε μια από τις θέσεις φωσφορυλίωσης. Η θέση σύνδεσης της πρωτεΐνης FK506-BP (FK506 Binding Protein: FK506-Συνδέουσα πρωτεΐνη) επίσης απεικονίζεται (ροζ κύκλος). Καταγράφονται οι περιοχές εναλλακτικής αποκοπής (πράσινο) S1,SII,SIII που δημιουργούν τις ισομορφές και οι περιοχές γλυκοζυλίωσης (Υ). Όπου ER (Endoplasmic Reticulum: Ενδοπλασματικό Δίκτυο).

Trends Pharmacol. Sci 22, 2001

Μέχρι σήμερα είναι γνωστά τρία ισόμορφα του υποδοχέα Ins (1,4,5) P3 στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου. Πρόκειται για τα Ins (1,4,5) P31, Ins (1,4,5) P32 και Ins (1,4,5) P33. Και τα τρία αυτά ισόμορφα έχουν μια κοινή ομολογία αμινοξέων της τάξης του 60-70%, διαφέρουν, όμως, ως προς την ιστική κατανομή και τη διαφορετική συμπεριφορά ως προς την εξάρτησή τους από το  $Ca^{2+}$  (34).

### *B. Δίαυλοι που διανοίγονται υπό την επίδραση του εξωγενώς αυξανόμενου κυτταροπλασματικού $Ca^{2+}$*

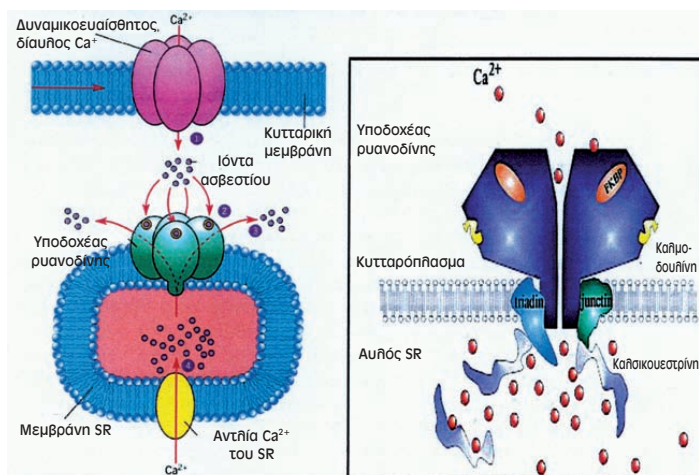
Επανερχόμενοι, όμως, στους μηχανισμούς απελευθέρωσης του ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  θα πρέπει να αναφέρουμε ότι εκτός από τους υποδοχείς της  $IP_3$  στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου, στην ίδια μεμβράνη υπάρχει και ένα άλλο είδος υποδοχέων που η διέγερσή τους οδηγεί επίσης σε κινητοποίηση και έξοδο του  $Ca^{2+}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο προς το κυτταρόπλασμα. Πρόκειται για τους υποδοχείς της ρυανοδίνης (18,31,35,36).

Οι διάυλοι των υποδοχέων της ρυανοδίνης αποτελούν μια τετραμερή δομή που συντίθεται από τέσσερις υπομονάδες, καθεμία από τις οποίες είναι της τάξης των 565000 Daltons. Κάθε υπομονάδα είναι ένα μακρομοριακό σύμπλεγμα που περιέχει, μεταξύ άλλων, την PKA (Protein Kinase A) και την προς αυτή συνδεδεμένη πρωτεΐνη mAKAP, τις πρωτεϊνικές φωσφατάσες PP1 και PP2A, τη σορσίνη, την καλμοδουλίνη και την πρωτεΐνη FKBP (FK Binding Protein). Οι διάυλοι αυτοί είναι 10 φορές ευρύτεροι από τους POC της κυτταρικής μεμβράνης (33,35).

Η φωσφορυλίωση των υποδοχέων της ρυανοδίνης οδηγεί σε απομάκρυνση της ανασταλτικής πρωτεΐνης FKBP από τους αντίστοιχους διαύλους με αποτέλεσμα την αυξημένη έξοδο  $Ca^{2+}$ . Μεταξύ άλλων, η διέγερση των β-αδρενεργικών υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης οδηγεί μέσω της PKA σε ανάλογη φωσφορυλίωση (31).

Ειδικότερα για τις μυϊκές ίνες του μυοκαρδίου, η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  αποφωσφορυλιώνει τη σορσίνη, η οποία, με τη σειρά της, μετακινείται προς τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και απενεργοποιεί τους υποδοχείς της ρυανοδίνης. Η ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  προκαλεί την απομάκρυνση της σορσίνης και την εκ νέου αδρανοποίησή της με φωσφορυλίωση. Η PKA προάγει ανάλογες φωσφορυλιώσεις αυξάνοντας το ελεύθερο ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$  (31,35).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, τόσο οι υποδοχείς  $IP_3$  όσο και οι υποδοχείς της ρυανοδίνης στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου σταθεροποιούνται σε αδρανή κατάσταση από την πρωτεΐνη FKBP. Η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης αυτής αποσταθεροποιεί τους υποδοχείς αυτούς και τους κά-



**Εικόνα 5.16: Δομή και λειτουργία των υποδοχών-διαύλων της ρυανοδίνης στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου.** Η αύξηση της συγκέντρωσης των  $\text{Ca}^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα οφείλεται στην απελευθέρωσή τους από το σαρκοπλασματικό δίκτυο υπό την επίδραση της  $\text{IP}_3$  (Inositol Trisphosphate: Τριφωσφορική Ινοσιτόλη) και στην είσοδό τους διά των διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης. Καθώς αυξάνει η συγκέντρωσή τους στο κυτταρόπλασμα, τα ιόντα αυτά διεγείρουν τους υποδοχείς της ρυανοδίνης που ευρίσκονται επί διαύλων στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου, με αποτέλεσμα να ανοίγουν οι διαύλοι αυτοί και νέα  $\text{Ca}^{2+}$  να εξέρχονται στο κυτταρόπλασμα. Η πρωτεΐνη FKBP (FK Binding Protein: FK-Συνδέουσα πρωτεΐνη) του διαύλου της ρυανοδίνης δρα ανασταλτικά και περιορίζει την έξοδο των ιόντων αυτών. Η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης αυτής οδηγεί στην αδρανοποίησή της. Φωσφορυλίωση προκαλεί και η PKA (Protein Kinase A: Πρωτεϊνική Κινάση A), η οποία, μεταξύ άλλων, ενεργοποιείται ύστερα από τη διεγερση των  $\beta$ -αδρενεργικών υποδοχών της κυτταρικής μεμβράνης. Όπου SR: σαρκοπλασματικό δίκτυο,  $\text{IP}_3$ : υποδοχέας τριφωσφορικής ινοσιτόλης, RyR: υποδοχέας ρυανοδίνης.

Δ. Γιαννακίδης-Internet 2005

νει πλέον ευάλωτους σε διέγερση. Παράλληλα, έχει ευρεθεί ότι οι υποδοχείς της ρυανοδίνης μπορούν να ενεργοποιούνται και με απευθείας νιτροζυλίωση των ρυθμιστικών τους θειολών (2,13,31).

Μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα της ρυανοδίνης ευθύνονται για περισσότερες από τις μισές περιπτώσεις κακοήθους υπερθερμίας. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ο υποδοχέας αυτός γίνεται περισσότερο ευαίσθητος σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις του διεγείροντος  $\text{Ca}^{2+}$  και πιθανόν άλλων διεγερόντων παραγόντων. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις του  $\text{Ca}^{2+}$  προάγουν την έντονη μυϊκή σύσπαση και τον γλυκολυτικό και αναερόβιο μεταβολισμό, διαταραχές που είναι χαρακτηριστικές στις παθολογικές αυτές καταστάσεις (37).

Το NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide: Νικοτιναμιδο-αδενινο-δινοουκλεοτίδιο), η cADPR (cyclic Adenyl DiPhosphate Ribose: Κυκλική αδενυλο-διφωσφορική ριβόζη) και η NAADP (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide



Phosphate: Φωσφορικο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο του νικοτινικού οξέος) έχουν κατά καιρούς θεωρηθεί ως κυτταροπλασματικές ουσίες που απελευθερώνουν ενδοκυττάριο  $\text{Ca}^{2+}$  είτε άμεσα είτε έμμεσα από τις ενδοκυττάρια αποθήκες μέσω της διέγερσης των υποδοχέων της ρυανοδίνης. Δεν είναι βέβαιο αν οι ουσίες αυτές διεγείρουν απ' ευθείας τους υποδοχείς της ρυανοδίνης ή διεγείρουν κάποιο τροποποιητικό μόριο που έχει σχέση με αυτούς. Οι σημερινές απόψεις συγκλίνουν στο ότι το NAD είναι εκείνο το οποίο είναι υπεύθυνο για τις δράσεις αυτές (2).

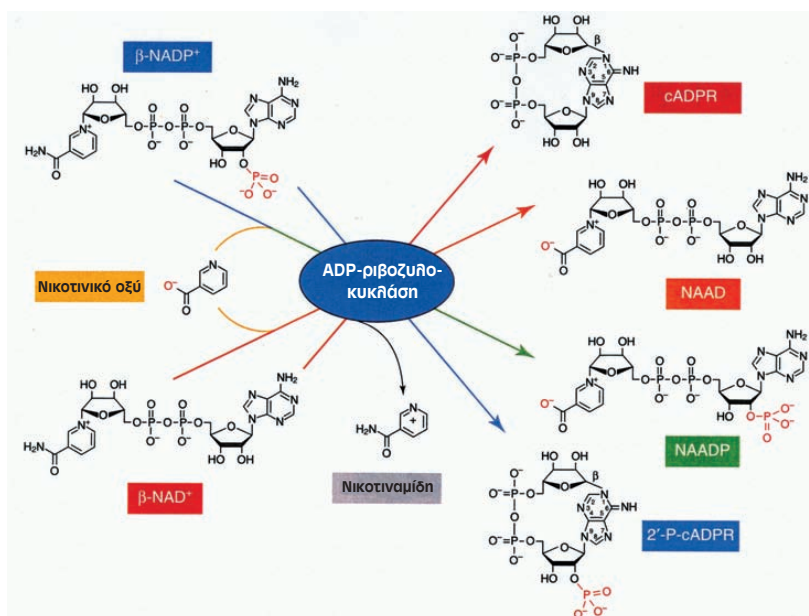
### Επιλογή σήματος

Είναι γνωστό ότι η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρια  $\text{Ca}^{2+}$  η οποία γίνεται μέσω πολλών μηχανισμών που ήδη αναπτύχθηκαν πυροδοτεί πολλές κυτταρικές απαντήσεις και το ερώτημα είναι πώς γίνεται αυτός ο διαχωρισμός των σημάτων που κινητοποιούνται από το ίδιο ιόν και πώς γίνεται η επιλογή της κυτταρικής βιολογικής απάντησης.

Η ρύθμιση από το  $\text{Ca}^{2+}$  της λειτουργίας των πρωτεϊνών των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος επηρεάζεται από την ευαισθησία τους στο ιόν αυτό, καθώς, επίσης, και από τη γειτνίαση των πρωτεϊνών αυτών με τους μηχανισμούς απελευθέρωσης του ίδιου ιόντος. Ειδικότερα, ο όρος "Calcium sensitization: ευαισθητοποίηση στο ασβέστιο" είναι από τους πλέον προσφιλείς σήμερα (27, 38).

Υπάρχει η άποψη ότι οι μεσολαβητές αυτοί που εμπλέκονται στις πυροδοτήσεις από το  $\text{Ca}^{2+}$  επικοινωνούν και «συνομιλούν» μεταξύ τους. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η NAADP έχει έναν ανάλογο ρόλο μεσολαβητή. Πιστεύεται ότι η NAADP, εκτός του ότι διεγείρει πιθανόν ένα τρίτο είδος διαύλου στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου, όπως ήδη αναφέρθηκε, παράλληλα συντονίζει τη δράση των δύο άλλων διαύλων στην ίδια μεμβράνη, δηλαδή της ρυανοδίνης και της τριφωσφορικής ινοσιτόλης. Παράλληλα, πιστεύεται ότι ρυθμίζει και προσανατολίζει το εισερχόμενο κύμα του εξωκυττάρια  $\text{Ca}^{2+}$  δημιουργώντας σύμπλοκα σήματα ασβεστίου (3).

Το γεγονός ότι τα  $\text{Ca}^{2+}$  διαμεσολαβούν σε έναν μεγάλο αριθμό ενδοκυττάρια σημάτων σημαίνει ότι τα κύτταρα αυτά έχουν αναπτύξει και τους αντίστοιχους μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί αυτοί κατευθύνουν εκλεκτικά τα ιόντα του  $\text{Ca}^{2+}$  στους εκάστοτε κατάλληλους και στην κατάλληλη θέση ενεργοποιητές και μεταφορείς, ενώ παράλληλα αποκωδικοποιούν τη συχνότητα των ταλαντώσεων που δημιουργούν τα ιόντα αυτά. Οι αλληλεπιδράσεις των μεταφορέων των  $\text{Ca}^{2+}$  που ευρίσκονται στις περιοχές όπου μεμβράνες όπως η κυτταρική, των μιτοχονδρίων και του σαρκοπλασματικού δικτύου αντικρίζουν η μία την άλλη, προσφέρουν τη δομική μεθόδευση για ασβεστιοεξαρτώμενες σηματοδοτήσεις ειδικής θέσης και ειδικού χρόνου. Τα μεμβρανικά αυτά σύμπλοκα



**Εικόνα 5.17: Αντιδράσεις που καταλύονται από την ADP ριβοζυλοκυκλάση.** Η ADP ribosyl cyclase (Adenyl Diphosphate-ribosyl cyclase: Αδενυλοδιφωσφορική ριβοζυλοκυκλάση) καταλύει τη μετατροπή των  $\beta\text{-NAD}$  (Nicotinamide Adenine Dinucleotide: Νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοσιτίδιο) και  $\beta\text{-NADP}$  (Nicotinamide Adenine Phosphodinucleotide: Φωσφορικο-νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοσιτίδιο) σε cADPR (cyclic Adenyl DiPhosphate Ribose: κυκλική διφωσφορική αδενυλο-ριβόζη) και σε 2P'-cADPR (2P'-cyclic Adenyl DiPhosphate Ribose: 2P'-κυκλική διφωσφορική αδενυλο-ριβόζη) αντίστοιχα. Παρουσία του νικοτινικού οξέος, το  $\beta\text{-NAD}$  μετατρέπεται σε NAAD (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide: Αδενινο-δινουκλεοσιτίδιο του νικοτινικού οξέος) και το  $\beta\text{-NADP}$  σε NAADP (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate: Φωσφορικο-αδενινο-δινουκλεοσιτίδιο του νικοτινικού οξέος). Και στις τέσσερις περιπτώσεις απελευθερώνεται το νικοτιναμίδη. Ορισμένες από τις ουσίες αυτές συνδέονται με την κινητοποίηση ενδοκυττάρου  $\text{Ca}^{2+}$ . *Trends Pharmacol. Sci.* 18, 1997

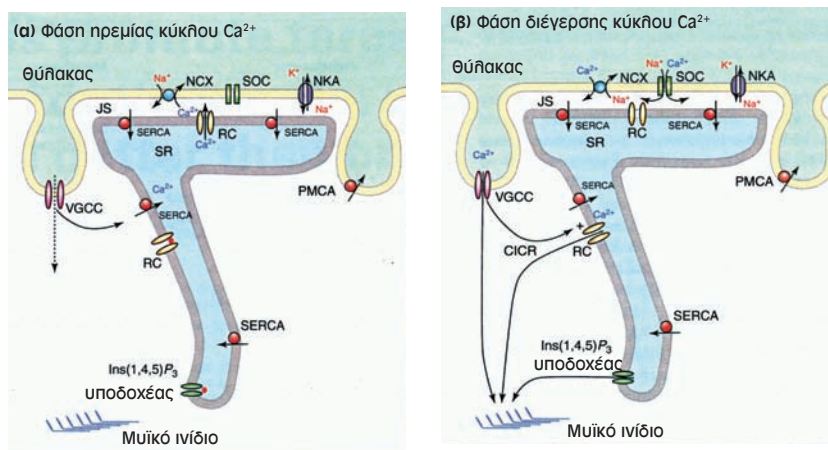
επαφής μπορούν είτε να ελέγχουν τη συγκέντρωση του  $\text{Ca}^{2+}$  στα μιτοχόνδρια που περιβάλλουν ένα μόριο ενεργοποιητή είτε να παραδίδουν τα  $\text{Ca}^{2+}$  από το μεταφορέα της μιας μεμβράνης στο μεταφορέα της απέναντι μεμβράνης, χωρίς να διαχυθεί το σήμα μέσα στον κύριο όγκο του κυτταροπλάσματος. Ο μηχανισμός αυτός, όπως έχει ήδη αναφερθεί, ονομάζεται "linked  $\text{Ca}^{2+}$  transport: Συνδεδεμένη μεταφορά  $\text{Ca}^{2+}$ " (31).

### **Μηχανισμός σύσπασης των λείων μυϊκών ινών**

Στις λείες μυϊκές ίνες και σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με τις γραμμωτές, υπάρχει μια ξεχωριστή p-ελαφρά άλυσος (p-light chain) ή ρυθμιστική άλυσος, η οποία υφίσταται ανάλογα σε φωσφορυλιωμένη και μη φωσφορυλιωμένη κατάσταση. Η φωσφορυλιωμένη κατάσταση μπορεί να αντιπροσωπεύει ενεργό ή μη ενεργό μυοσίνη ανάλογα με το πού έχει γίνει η φωσφορυλίωση. Η μη φωσφορυλιωμένη κατάσταση σημαίνει απενεργοποίηση της μυοσίνης.

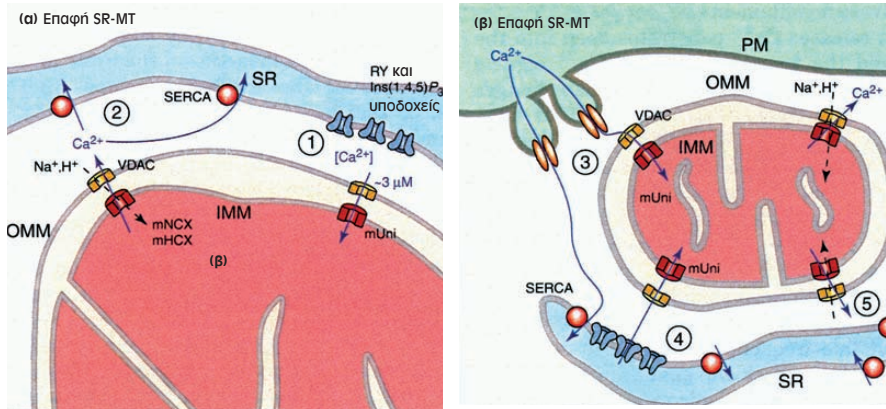
Το πρώτο βήμα για τη μυϊκή σύσπαση είναι η ένωση του  $\text{Ca}^{2+}$  με την καλμοδουλίνη (CaM). Τέσσερα μόρια του  $\text{Ca}^{2+}$  συνδέονται με ένα μόριο της καλμοδουλίνης. Όταν η καλμοδουλίνη ενώνεται με τα μόρια του  $\text{Ca}^{2+}$ , οι α-έλικες του μορίου της αυξάνουν κατά 40-50% την επιφάνεια έκθεσης με εκτεθειμένη πάντα την υδρόφοβη ομάδα του μορίου της. Το σύμπλοκο που δημιουργείται συνδέεται με την καταλυτική υπομονάδα της κινάσης της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase) σχηματίζοντας ένα δραστικό ολοενζυμικό σύμπλοκο. Το σύμπλοκο αυτό καταλύει τη μεταφορά φωσφορικών ριζών από τη Mg-ATP στη ρυθμιστική ελαφρά άλυσο της μυοσίνης μέσω κινάσης. Η φωσφορυλίωση της μυοσίνης οδηγεί σε στερεοχημική αναδιάταξη του μορίου της, ενεργοποίηση μιας ATPάσης η οποία υδρολύει την ATP στην κεφαλή του μορίου της πρωτεΐνης αυτής προς ADP και παρέχει την απαραίτητη ενέργεια για τη σύνδεση της κεφαλής της μυοσίνης με την ακτίνη και την ολίσθηση της πρώτης επί της δεύτερης, με τελικό αποτέλεσμα τη μυϊκή σύσπαση. Η φωσφορυλιωθείσα μυοσίνη αλληλεπιδρά με τα νημάτια της ακτίνης μέσω σχηματισμού κυκλικής εγκάρσιας γέφυρας, μετατρέποντας τη χημική ενέργεια που απελευθερώνεται από την υδρόλυση της ATP σε μηχανικό έργο, δηλαδή σε σύσπαση. Με τη δράση της φωσφατάσης της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης, η μυοσίνη αποφωσφορυλιώνεται, απενεργοποιείται, αποσυνδέεται από την ακτίνη και επέρχεται η χάλαση (38,39).

Η MLCK περιέχει, μεταξύ άλλων, στο μόριό της μια μεγάλη υπομονάδα η οποία υπόκειται σε φωσφορυλίωση και μια μικρή υπομονάδα που συνδέεται με την καλμοδουλίνη. Η ενεργοποιημένη MLCK φωσφορυλιώνει τη MLC και διεγείρει τη δράση της ATP. Η MLCK εξασθενεί με φωσφορυλίωση της μεγάλης υπομονάδας και με τη δράση διαφόρων κινασών στη θέση A, μεταξύ των οποίων πιθανόν περιλαμβάνεται και η PKA. Η φωσφορυλίωση της θέσης A



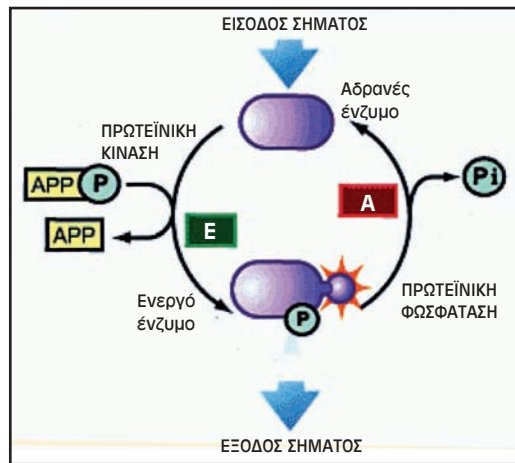
**Εικόνα 5.18: Κυκλική κίνηση του Ca<sup>2+</sup> στο επίπεδο της λείας μυϊκής ίνας. (α) Λεία μυϊκή ίνα σε φάση ηρεμίας.** Κατά τη φάση αυτή, το γειτνιάζον με το σαρκεύλημμα μέρος του σαρκοπλασματικού δικτύου (SR: Sarcoplasmic Reticulum) ρυθμίζει το ισοζύγιο Ca<sup>2+</sup> ως αποτέλεσμα της χαμηλής λειτουργικότητας των ηρεμούτων διαύλων και των σχισμών εισόδου του ιόντος αυτού στην κυτταρική μεμβράνη (PM: Plasma Membrane). Με τον τρόπο αυτό ανακυκλώνει το Ca<sup>2+</sup> καθώς αυτό απελευθερώνεται από το SR μέσω των δύο ειδών διαύλων-RCs (Release Channels: Απελευθερώντες δίαυλοι) της μεμβράνης του. Οι δίαυλοι αυτοί ανοίγουν μετά τη διέγερση των υποδοχέων της τριφωσφορικής φωσφατιδυλινοσιτόλης (IP<sub>3</sub>: Inositol Triphosphate) και της ρυανοδίνης (RY: Ryanodine) αντίστοιχα. Το απελευθερούμενο Ca<sup>2+</sup> οδεύει δια του χώρου μεταξύ της μεμβράνης PM και της αντίστοιχης του SR προς την αντλία ανταλλαγής Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> (NCX: Natrium Calcium Exchanger) της κυτταρικής μεμβράνης και εξέρχεται του κυττάρου. **(β) Λεία μυϊκή ίνα σε φάση διέγερσης.** Καταγράφονται τα ρεύματα του Ca<sup>2+</sup> που συνδέονται με τη διέγερση της λείας μυϊκής ίνας από αγωνιστές. Η διέγερση αυτή των υποδοχέων στην PM και ο απότοκος σχηματισμός της IP<sub>3</sub> προάγει την κένωση του SR από το Ca<sup>2+</sup> πλησίον της περιοχής των μυοϊνιδίων. Αυτό συμβαίνει διότι η IP<sub>3</sub> διεγείρει τους ομώνυμους υποδοχείς της στη μεμβράνη του SR και ανοίγει τους επίσης ομώνυμους διαύλους από όπου εξέρχεται το Ca<sup>2+</sup> προς το κυτταρόπλασμα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διάνοιξη των διαύλων SOCs (Store-Operated Channels: Δίαυλοι που λειτουργούν με βάση τα αποθέματα ιόντων) οι οποίοι είναι διαβατοί στο Na<sup>+</sup> και στο Ca<sup>2+</sup>. Τα προς τα έσω ρεύματα των ιόντων αυτών ανοίγουν τους τάσεοεξαρτώμενους (VGCCs: Voltage Gated Calcium Channels), ενώ η συσσώρευση του Na<sup>+</sup> στο χώρο μεταξύ της μεμβράνης PM και της αντίστοιχης του SR αντιστρέφει την αντλία NCX και το Ca<sup>2+</sup> προωθείται προς την αντλία SERCA (Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase: Ca<sup>2+</sup>-ATPάση του σαρκοπλασματικού/ενδοπλασματικού δικτύου), η οποία περνά το Ca<sup>2+</sup> στο SR για να ξαναγεμίσουν οι αποθήκες. Συγχρόνως, το Ca<sup>2+</sup> ενεργοποιεί κυκλικά κύματα μεταξύ των υποδοχέων IP<sub>3</sub> και της SERCA. Στη συνέχεια, η λεία μυϊκή ίνα επανέρχεται στη φάση ηρεμίας.

*Trends Pharmacol. Sci.* 25,2004

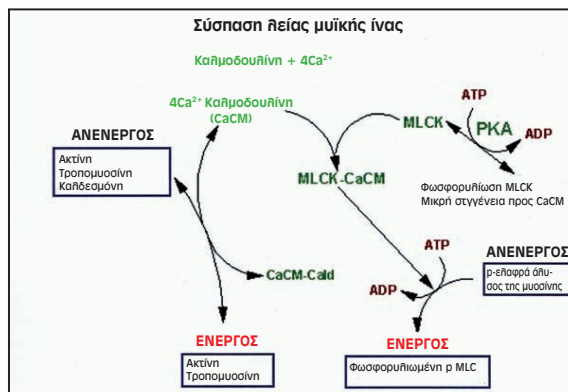


**Εικόνα 5.19: Μιτοχονδριακές επαφές με το σαρκοπλασματικό δίκτυο και την κυτταρική μεμβράνη στο επίπεδο της λείας μυϊκής ίνας.** Απεικονίζονται οι πιθανές διασυνδέσεις μεταξύ των μιτοχονδρίων (MT:Mitochondria), του σαρκοπλασματικού δικτύου (SR: Sarcoplasmic Reticulum) και της κυτταρικής μεμβράνης (PM: Plasma Membrane) και των SR και MT. (1 και 4) Οι διάλυτοι RCs (Release Channels: Απελευθερώντες διάλυτοι) του SR που ανοίγουν μετά τη διέγερση των υποδοχέων της τριφωσφορικής φωσφατιδυλινοσιτόλης (IP<sub>3</sub>:Inositol Triphosphate) και της ρυανοδίνης (RY: Ryanodine) είναι σε περιοχές που αντικρίζουν από κοντά τα MT και μπορεί να ευρισκονται στον ίδιο τόπο με θέσεις επαφής της εσωτερικής (IMM: Inner Mitochondrial Membrane) και εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης (OMM: Outer Mitochondrial Membrane). Οι δυναμικοεξαρτώμενοι διάλυτοι των ανιόντων (VDACs: Voltage-Dependent Anion Channels) της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης την καθιστούν διαπερατή στο Ca<sup>2+</sup>. Καθώς το Ca<sup>2+</sup> απελευθερώνεται από το SR, μια περιορισμένη διάχυση στην περιοχή επαφής MT-SR επιτρέπει στην επαρκή αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup> να ενεργοποιήσει τη μοναδικής κατεύθυνσης πύλη (mUni; mitochondrial Uniporter) των μιτοχονδρίων (2 και 5). Το Ca<sup>2+</sup> που εξέρχεται των μιτοχονδρίων είτε μέσω της αντλίας ανταλλαγής Na<sup>+</sup>/ Ca<sup>2+</sup> (mNCX: Natrium Calcium Exchanger) των μιτοχονδρίων είτε μέσω της αντλίας ανταλλαγής H<sup>+</sup>/ Ca<sup>2+</sup> (mHCX: Hydrogen Calcium Exchanger) των μιτοχονδρίων, βοηθά στο να ξαναγεμίσει το SR. (3) Οι δυναμικοεξαρτώμενοι διάλυτοι (VGCCs: Voltage Gated Calcium Channels), οι δυναμικοεαίσθητοι διάλυτοι παροδικής διαβατότητας που σχετίζονται με υποδοχείς (TRPCs: Transient Receptor Potential Channels) και πιθανόν και οι διάλυτοι που λειτουργούν με βάση τα αποθέματα στο SR (SOCs: Store-Operated Channels) ευρισκονται στο θύλακα της PM. Η στενή σχέση των MT με τους θύλακες της PM θα μπορούσε να εξηγήσει τη ρύθμιση του ανοίγματος των διαύλων αυτών από τα MT. Επιπλέον, μια σύνδεση PM- SR-MT θα μπορούσε να εξηγήσει το συναγωνισμό μεταξύ των MT και του SR για την πρόσληψη ή δέσμευση του Ca<sup>2+</sup>. Όπου SERCA (Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup> – ATPase: Ca<sup>2+</sup> – ATPάση του σαρκοπλασματικού / ενδοπλασματικού δικτύου).

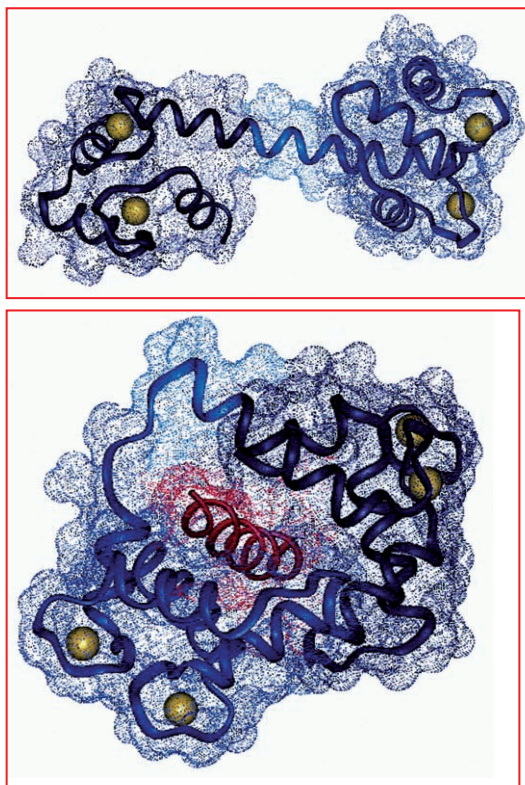
*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*



**Εικόνα 5.20: Δράσεις των κινάσων και των φωσφατάσων σε ένζυμο.** Η φωσφορυλίωση που προάγεται από τις κινάσες μπορεί να ενεργοποιήσει ένα ένζυμο ή να το αδρανοποιήσει ανάλογα με τη θέση που θα γίνει η φωσφορυλίωση. Η αποφωσφορυλίωση του ενζύμου από τις φωσφατάσες αντιστρέφει την κατάσταση. Η εικόνα αναφέρεται στην περίπτωση της ενεργοποίησης. Όπου E (Ενεργοποίηση), A (Απενεργοποίηση).  
 Google-Internet, 2005

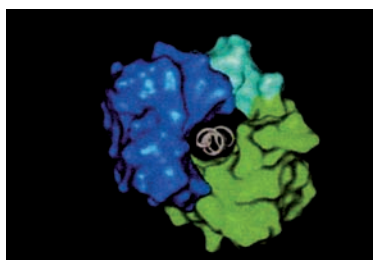


**Εικόνα 5.21: Μηχανισμός μυϊκής σύσπασης.** Τέσσερα μόρια του Ca<sup>2+</sup> συνδέονται με ένα μόριο της καλμοδουρίνης.(CM). Το σύμπλοκο που δημιουργείται συνδέεται με την καταλυτική υπομονάδα της κινάσης της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase) σχηματίζοντας ένα δραστικό ολοενζυμικό σύμπλοκο. Το σύμπλοκο αυτό καταλύει τη μεταφορά φωσφορικών ριζών προς την ελαφρά αλυσού της μυοσίνης μέσω κινάσης από την Mg-ATP που υδρολύεται προς ADP. Η φωσφορυλιωθείσα μυοσίνη αλληλεπιδρά με τα νημάτια της ακτίνης μέσω σχηματισμού κυκλικής εγκάρσιας γέφυρας, μετατρέποντας τη χημική ενέργεια που απελευθερώνεται από την υδρόλυση της ATP σε μηχανικό έργο, δηλαδή σε σύσπαση. Στη συνέχεια, η μυοσίνη αποφωσφορυλιώνεται, οι λείες μυϊκές ίνες χαλαρώνουν και ο κύκλος κλείνει. Λεπτομέρειες στο κείμενο και στις επόμενες εικόνες. Όπου PKA (Protein Kinase A:Πρωτεϊνική Κινάση A).  
 Google-Internet, 2005



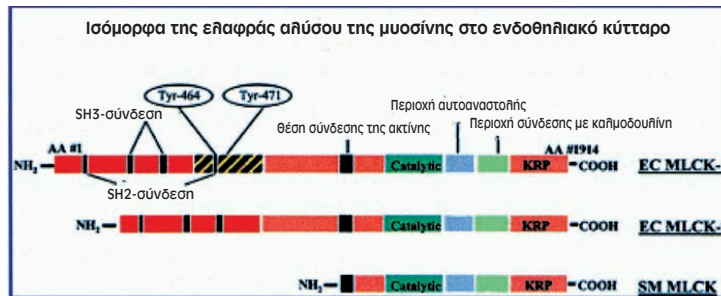
**Εικόνα 5.22: Σχεδιάγραμμα συνδέσεων του μορίου της καλμοδουλίνης.** (άνω) Το μόριο της καλμοδουλίνης είναι δίλοβο. Σε κάθε λοβό έχουν συνδεθεί δύο  $\text{Ca}^{2+}$  (κίτρινοι κύκλοι). Με τη σύνδεση αυτή ενεργοποιείται η καλμοδουλίνη. (κάτω) Σύνδεση του συμπλόκου " $\text{Ca}^{2+}$ -καλμοδουλίνη" με την ελαφρά αλυσίδα της μυοσίνης (κόκκινο σπείραμα).

*Google-Internet, 2005*

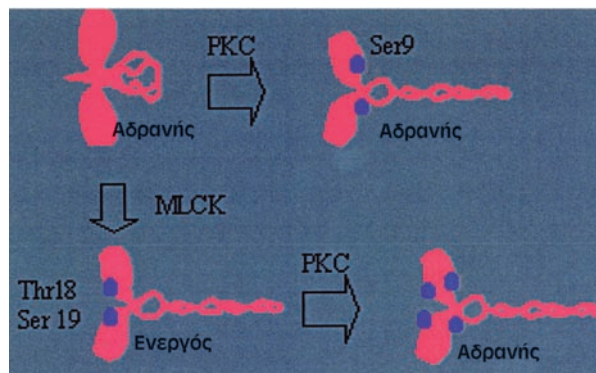


**Εικόνα 5.23: Σύνδεση της καλμοδουλίνης με την ελαφρά αλυσίδα της μυοσίνης.** Το μόριο της καλμοδουλίνης αποτελείται από έναν N-λοβό (πράσινο) και έναν C-λοβό (μπλε) που ενώνονται με μια ζώνη (κυανούν). Η σύνδεση με την κίνηση της ελαφράς αλυσίδου της μυοσίνης γίνεται μέσα σε μια σύραγμα που σχηματίζει η ζώνη που ενώνει τους δύο λοβούς, με τους τελευταίους να εναγκαλιζονται το μόριο της κίνησης αυτής. Σε κάθε λοβό έχουν συνδεθεί δύο  $\text{Ca}^{2+}$ . Κρυσταλλογραφική εικόνα.

*Trends Pharmacol. Sci 22, 2001*

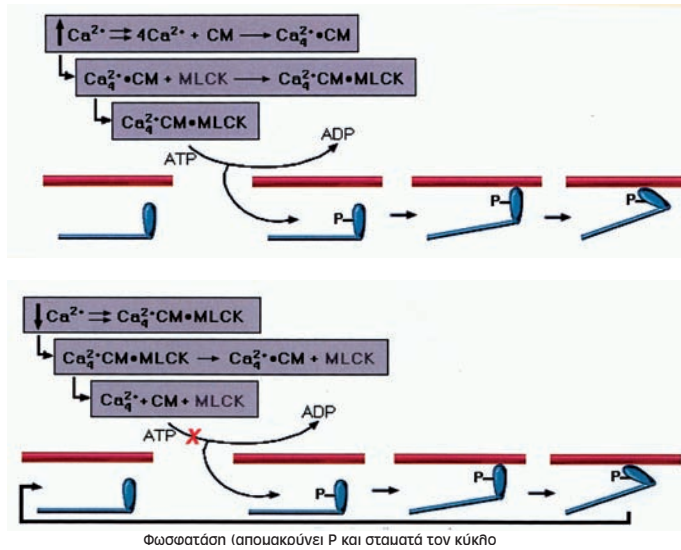


**Εικόνα 5.24: Ισομορφές της ενδοθηλιακής κινάσης της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης.** Το σχήμα αυτό δίνει ένα παράδειγμα του πώς είναι δομημένες και οι άλλες κινάσες της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαθέτουν μηχανισμό σύσπασης. Στη σχηματική αυτή παράσταση διακρίνονται οι διάφοροι τομείς στο μόριο της κινάσης αυτής. Μεταξύ αυτών διακρίνονται η περιοχή σύνδεσης με την καλμοδουλίνη, η περιοχή αυτοαναστολής, η περιοχή σύνδεσης με την ακτίνη και οι σουλφυδρικές (SH) περιοχές για τη σύνδεση με άλλες πρωτεΐνες. *J. Appl. Physiol., 2001*

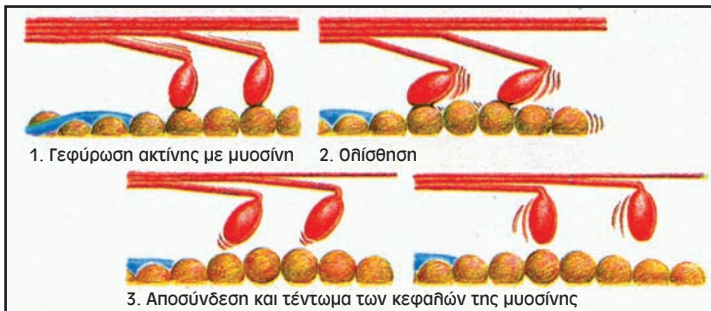


**Εικόνα 5.25: Φωσφορυλίωση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης.** Η MLCK (Myosin Light Chain Kinase: Κινάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης) φωσφορυλιώνει την ελαφρά αλυσίδα της μυοσίνης στις θέσεις Thr18 και Ser19, με αποτέλεσμα τη μεταβολή της στερεοχημικής διάταξης του μορίου της μυοσίνης. Το μόριο αυτό μεταβάλλεται από το διπλωμένο σχήμα σε ένα εκτεταμένο ενεργό σχήμα. Η PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική Κινάση C) φωσφορυλιώνει την ελαφρά αλυσίδα της μυοσίνης στη θέση Ser9 και αδρανοποιεί τη μυοσίνη έστω και αν προηγουμένως έχει διεγερθεί από τη MLCK. Επίσης η PKC περιορίζει το βαθμό της εκ νέου φωσφορυλίωσης της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης από τη MLCK. *Google-Internet, 2006*



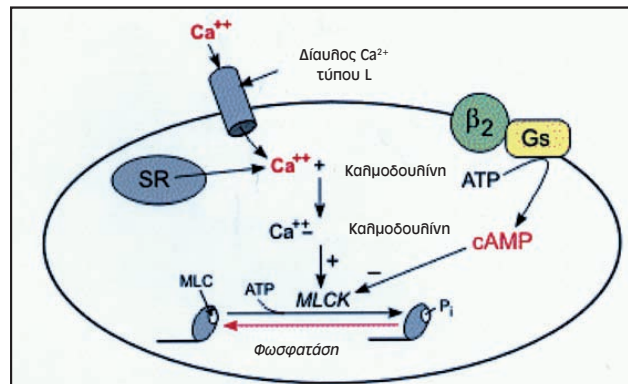


**Εικόνα 5.26: Μηχανισμοί φωσφορυλίωσης και αποφωσφορυλίωσης της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης. (άνω)** Το σύμπλοκο  $Ca^{2+}$  καλμοδουλίνης " $Ca^{2+}$ -CM" συνδέεται με την κινάση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase). Η MLCK φωσφορυλιώνει την ελαφρά αλυσού της μυοσίνης (MLC) με τη φωσφορική ρίζα (P) που παίρνει από την υδρόλυση της ATP προς ADP. Η φωσφορυλιωθείσα μυοσίνη αλληλεπιδρά με τα νημάτια της ακτίνης και η λεία μυϊκή ίνα συσπάται. **(κάτω)** Η φωσφατάση απομακρύνει τη φωσφορική ρίζα από τη MLC, την απενεργοποιεί και σταματά η αλληλεπίδραση της μυοσίνης με την ακτίνη, με αποτέλεσμα τη χάλαση της λείας μυϊκής ίνας.

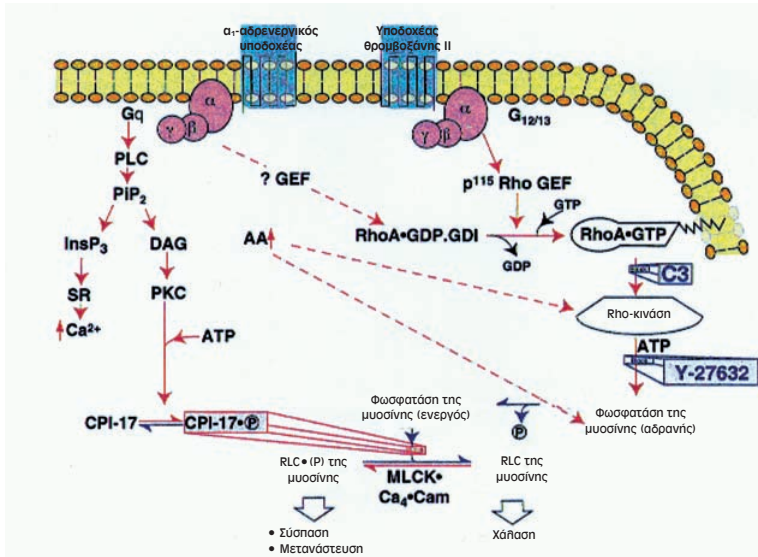


**Εικόνα 5.27: Στάδια αλληλεπίδρασης της μυοσίνης με την ακτίνη πριν, κατά και μετά τη μυϊκή σύσπαση.** Η φωσφορυλίωση της μυοσίνης οδηγεί σε στερεοχημική αναδιάταξη του μορίου της και σε ενεργοποίηση μιας ΑΤΡάσης η οποία υδρολύει την ΑΤΡ στην κεφαλή του μορίου της πρωτεΐνης αυτής προς ΑΔΡ. Με την υδρόλυση αυτή παρέχεται η απαραίτητη ενέργεια για τη σύνδεση της κεφαλής της μυοσίνης με την ακτίνη, την κάμψη της κεφαλής και την ολίσθηση κατά βήματα της πρώτης επί της δεύτερης, με τελικό αποτέλεσμα τη μυϊκή σύσπαση. Με το πέρας της μυϊκής σύσπασης, η μυοσίνη αποσυνδέεται από την ακτίνη και εκτείνεται εκ νέου η κεφαλή της μυοσίνης..

*Despotopoulos et al. Color Atlas of Physiology, 1991*

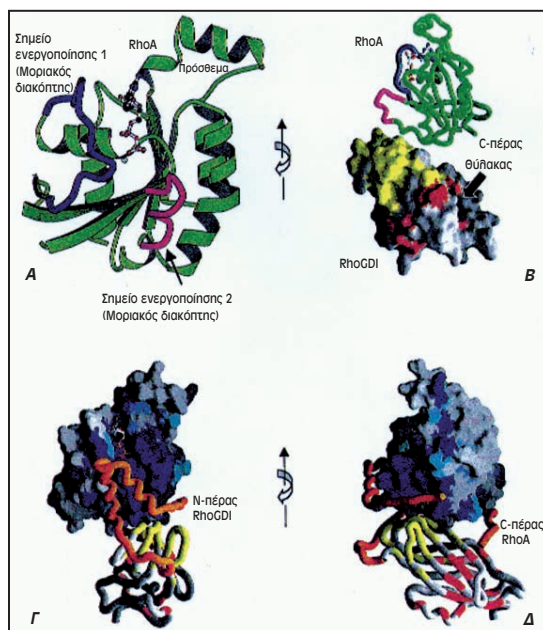


**Εικόνα 5.28:** Ο ανασταλτικός ρόλος της φωσφατάσης στο μηχανισμό μυϊκής σύσπασης στο αγγειακό τοίχωμα. Τα  $Ca^{2+}$  που εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα μέσω των L-τύπου διαύλων από τον εξωκυττάριο χώρο, καθώς και εκείνα που εξέρχονται από το σαροπλασματικό δίκτυο (SR: Sarcoplasmic Reticulum) συνδέονται ανά τέσσερα με ένα μόριο καλμοδοουλίνης. Το σύμπλοκο " $Ca^{2+}$ -καλμοδοουλίνη" ενεργοποιεί την κινάση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase) η οποία φωσφορυλιώνει την ελαφρά αλυσού της μυοσίνης (MLC: Myosin Light Chain) και προάγει τη μυϊκή σύσπαση. Η φωσφατάση αποφωσφορυλιώνει τη MLC και προάγει τη μυϊκή χάλαση και την αγγειοδιαστολή. Η διέγερση των  $\beta_2$ - υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης προάγει την υδρόλυση της ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη) προς cAMP (cyclic AMP: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη). Το κυκλικό αυτό νουκλεοτίδιο προάγει (μέσω της κινάσης PKA) την αρνητική φωσφορυλίωση της MLC με αποτέλεσμα, επίσης, τη χάλαση. Όπου  $G_s$  (stimulating G-protein: διεγείρουσα G-πρωτεΐνη,  $P_i$  (Φωσφορική ρίζα).  
Klabunde R.: *Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin. Google-Internet, 2005*



**Εικόνα 5.29:** Μηχανισμοί “ευαισθητοποίησης στο  $Ca^{2+}$ ” μέσω της αδρανοποίησης της φωσφατάσης της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης από τις Rho-κινάσες. Κατά τη φάση ηρεμίας της λείας μυϊκής ίνας η πρωτεΐνη RhoA ευρίσκεται αδρανής στο κυτταρόπλασμα, ενωμένη με GDP (Guanine Diphosphate: Διφωσφορική γουανοσίνη) και σε σύμπλεγμα με τη RhoGDI (Rho Guanine nucleotide Dissociation Inhibitor: Αναστολέας αποδέσμευσης του γουανινοουκλεοτιδίου). Κατά τη φάση διέγερσης, οι GEFs (Guanine nucleotide Exchange Factors: Παράγοντες ανταλλαγής των γουανινοουκλεοτιδίων) ενεργοποιούν το σύμπλεγμα “RhoA-RhoGDI” ανταλλάσσοντας την GDP με την GTP (Guanine Triphosphate: Τριφωσφορική γουανοσίνη). Στη συνέχεια, η RhoA αποδεσμεύεται από τη RhoGDI και οδεύει προς την κυτταρική μεμβράνη. Εκεί ενεργοποιεί την κινάση RhoA (Rho-kinase) η οποία φωσφορυλιώνει και αδρανοποιεί τη φωσφατάση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης. Υποδοχείς που συνδέονται με  $G_{12/13}$ -πρωτεΐνη (α,β,γ-υπομονάδες) στην κυτταρική μεμβράνη της λείας μυϊκής ίνας, όπως οι υποδοχείς της θρομβοξανθής, οδηγούν μέσω της α-υπομονάδας σε ενεργοποίηση των GEFs. Το αυτό μάλλον συμβαίνει και από τη διέγερση υποδοχών που συνδέονται με  $G_{q/11}$ -πρωτεΐνη (α,β,γ-υπομονάδες) στην κυτταρική μεμβράνη της λείας μυϊκής ίνας, όπως είναι οι  $\alpha_1$ -αδρενεργικοί υποδοχείς, καθώς επίσης και η διέγερση του AA (Arachidonic Acid: Αραχιδονικό οξύ). Επίσης, η διέγερση των υποδοχών αυτών οδηγεί με τη σειρά της σε ενεργοποίηση το σύστημα της PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C). Ακολουθεί η υδρόλυση της  $PIP_2$  (Phosphatidylinositol Biphosphate: Διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη) προς  $InsP_3$  (Inositol Triphosphate:Τριφωσφορική ινοσιτόλη) και DAG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη). Η DAG ενεργοποιεί την PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C) και η  $InsIP_3$  απελευθερώνει  $Ca^{2+}$  από το SR (Sarcoplasmic Reticulum: Σαρκοπλασματικό δίκτυο). Το  $Ca^{2+}$  που εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα συνδέεται με την καλμοδουλίνη (Cam:Calmodulin). Το σύμπλοκο “ $Ca^{2+}$ -Cam” ενεργοποιεί την κινάση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase), η οποία φωσφορυλιώνει τη RLC (Regulatory Light Chain: Ρυθμιστική ελαφρά άλυσος) και προάγει τη μυϊκή σύσπαση. Η φωσφατάση αποφωσφορυλιώνει τη MLC και προάγει τη μυϊκή χάλαση και την αγγειοδιαστολή. Η PKC φωσφορυλιώνει την CPI-17 (PKC–Potentiated Phosphatase Inhibitor of 17 kDa: Αναστολέας της Φωσφατάσης των 17kDa ενδυναμωθείς από την PKC) προς CPI-17(P), η οποία, με τη σειρά της, αδρανοποιεί την PP-1C (καταλυτική υπομονάδα της φωσφατάσης) η οποία, ως γνωστόν αποφωσφορυλιώνει και απενεργοποιεί την RLC. Η αδρανοποίηση της φωσφατάσης ενισχύει τους μηχανισμούς σύσπασης και αυξάνει την “ ευαισθητοποίηση στο  $Ca^{2+}$ ”.

*Somlyo A. et al. J. Physiology,2000*



**Εικόνα 5.30: Δομή του συμπλέγματος RhoA-πρωτεΐνης και RhoGDIA.** (Α) Απεικονίζονται σε σχέδιο δίκην κορδέλας στο μόριο της Rho-πρωτεΐνης οι θέσεις ενεργοποίησης 1 (switch 1) με μπλε χρώμα και ενεργοποίησης 2 (switch 2) με ζωηρό κόκκινο χρώμα. (Β) Κρυσταλλική δομή του συμπλέγματος RhoA-RhoGDI (Rho Guanine nucleotide Dissociation Inhibitor: Αναστολέας αποδέσμευσης του γουανινονουκλεοτιδίου). (Γ) Απεικόνιση του N-τελικού τομέα (υπόλοιπα αμινοξέων 24-68) του RhoGDI. (Δ) Απεικόνιση του C-τελικού τομέα (υπόλοιπα αμινοξέων 24-68) της Rho-πρωτεΐνης.

*Somlyo A. et al. J. Physiology, 2000*

της MLCK από διάφορες κινήσεις ελαττώνει τη συγγενεία της προς το σύμπλοκο "Ca<sup>2+</sup>-καλμοδουλίνη" και καταλήγει στην απευαισθητοποίηση από το Ca<sup>2+</sup> και στη μυϊκή χάλαση (39).

Μια άλλη κίνηση, η PKC, η οποία ενεργοποιείται από τη διέγερση των υποδοχών GPCRs (G-Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη), που στην προκειμένη περίπτωση συνδέονται με την πρωτεΐνη G<sub>q/11</sub>, φωσφορυλιώνει τη MLC σε διαφορετική θέση από τη MLCK και αδρανοποιεί τη μυοσίνη. Επίσης, η PKC περιορίζει το βαθμό της εκ νέου ενεργητικής φωσφορυλίωσης της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης από τη MLCK. Τέλος, η PKC φωσφορυλιώνει διεγερτικά τη CPI-17 (PKC-Potentiated Phosphatase Inhibitor of 17 kDa: Αναστολέας της φωσφατάσης των 17kDa ενδυναμωθείς από την PKC) προς CPI-17(P), η οποία με τη σειρά της αδρανοποιεί την καταλυτική υπομονάδα της φωσφατάσης. Η φωσφατάση, όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι ένα ένζυμο που απομακρύνει τη φωσφορική ρίζα από τη MLC, την απενεργοποιεί και σταματά την αλληλεπίδραση της μυοσίνης με την ακτίνη.

Η αδρανοποίηση της φωσφατάσης ενισχύει τους μηχανισμούς σύσπασης και αυξάνει την "ευαισθητοποίηση στο  $Ca^{2+}$ ". Ως εκ τούτου, γίνεται αντιληπτό ότι η PKC ασκεί με τους μηχανισμούς αυτούς αντιρροπιστικό ρόλο.

Η φωσφορυλίωση της MLC, αν και σημαντική, έχει σχέση μόνο με την ταχεία ανάπτυξη της μυϊκής σύσπασης, ενώ η βραδεία ανάπτυξη της σύσπασης αυτής, καθώς και η διατήρησή της, έχουν σχέση με τη δράση της καλδεσμόνης. Η καλδεσμόνη είναι συνδεδεμένη με την ακτίνη και εμποδίζει την κεφαλή της μυοσίνης να κινηθεί. Στην περίπτωση αυτή, η PKC δρα διεγερτικά καθώς φωσφορυλιώνει την καλδεσμόνη και αναστέλλει τη δράση της προάγοντας τη μυϊκή σύσπαση. Επίσης, το σύμπλοκο " $Ca^{2+}$ -καλμοδουλίνη" συνδέεται με την καλδεσμόνη, την αποσυνδέει από την ακτίνη και προάγει τη μυϊκή σύσπαση.

Οι πρωτεΐνες HSPs (Heat Shock Proteins: Πρωτεΐνες Θερμικής Καταπληξίας) αποτελούν επιπρόσθετους παράγοντες των μηχανισμών της ακτίνης. Ειδικότερα, η HSP27 συμμετέχει στους μηχανισμούς διατήρησης της μυϊκής σύσπασης, ενώ η HSP20 συμβάλλει στη χάλαση που προάγεται από τα κυκλικά νουκλεοτίδια (38).

Δεν είναι ακριβώς γνωστοί όλοι οι μηχανισμοί με τους οποίους τα κυκλικά νουκλεοτίδια cAMP και cGMP προάγουν τη μυϊκή χάλαση. Υπενθυμίζεται ότι η cAMP αποτελεί προϊόν διέγερσης πολλών υποδοχέων GPCRs, μεταξύ των υποδοχέων και οι β-αδρενεργικοί υποδοχείς, ενώ η cGMP είναι προϊόν διέγερσης υποδοχέων της λείας μυϊκής ίνας από τα νατριουρητικά πεπτίδια ANP, BMP και CNP, καθώς και από το οξειδιο του αζώτου (NO) το οποίο παράγεται από διάφορα κύτταρα ή αποδίδεται από φάρμακα.

Πιστεύεται ότι η PKA που ενεργοποιείται από την cAMP είναι σε θέση να φωσφορυλιώνει τη MLCK σε άλλο σημείο, με αποτέλεσμα η τελευταία να παρουσιάζει μειωμένη συγγένεια προς το σύμπλοκο ασβεστίου-καλμοδουλίνης. Η ενεργότητα της PKA εξαρτάται από την αυξημένη παρουσία της cAMP. Η τελευταία διασπάται, όπως ήδη αναφέρθηκε, από τη φωσφοδιεστεράση (PE: Phosphodiesterase). Η δράση της cGMP η οποία ενεργοποιεί την κινάση PKG φαίνεται ότι ασκείται μέσω πολύπλοκων μηχανισμών όπως είναι η υπερπόλωση, ελάττωση του ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  και η διέγερση της MLCP από την κινάση PKG. Επίσης, η cGMP φαίνεται να συνδέεται με την ενεργοποίηση της τελοκίνης, ουσίας η οποία επιτείνει την αποφωσφορυλίωση της MLC (41).

### Μηχανισμοί ευαισθητοποίησης στο $Ca^{2+}$

Αν και ο κύριος μηχανισμός ενεργοποίησης του μηχανισμού σύσπασης των λείων μυϊκών ινών οφείλεται στην αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  και στην επακολουθούσα φωσφορυλίωση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLC) από την εξαρτώμενη από το σύμπλοκο " $Ca^{2+}$ -καλμοδουλίνη" κινάση MLCK, αυτός δεν είναι ο μοναδικός μηχανισμός (39).

Υπάρχει και μια δεύτερη ομάδα μη ασβεστιοεξαρτώμενων μηχανισμών, οι οποίοι προάγουν τη μυϊκή σύσπαση. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί, οι οποίοι αυξάνουν την ευαισθησία στο  $Ca^{2+}$ , μεθοδεύουν ουσιαστικά την αδρανοποίηση της φωσφατάσης της μυοσίνης MLCP (Myosin Light Chain Phosphatase: Φωσφατάση της Ελαφράς Αλύσου της Μυοσίνης) (40,42).

Η φωσφατάση είναι ένα τριμερές ένζυμο που περιέχει μια καταλυτική περιοχή, έναν τομέα της τάξης των 20 kDa και μια υπομονάδα που συνδέεται με τη μυοσίνη. Η φωσφατάση αυτή απομακρύνει τη φωσφορική ρίζα από τη MLC, την απενεργοποιεί και σταματά η αλληλεπίδραση της μυοσίνης με την ακτίνη. Παράλληλα, το  $Ca^{2+}$  απομακρύνεται από το κυτταρόπλασμα με μηχανισμούς που περιγράφονται στη συνέχεια. Οι μηχανισμοί αυτοί προάγουν τη μυϊκή χαλωση (38).

Υπάρχουν τρεις επί μέρους μηχανισμοί με τους οποίους προάγεται η "ευαισθητοποίηση στο  $Ca^{2+}$ ". Ο κυριότερος μεθοδεύεται από την πρωτεΐνη RhoA η οποία ενεργοποιεί την Rho-κινάση που, με τη σειρά της, αφενός μεν επιτείνει τη φωσφορυλίωση της RLC (Regulatory Light Chain: Ρυθμιστική ελαφρά άλυσος), αφετέρου δε φωσφορυλιώνει και αδρανοποιεί τη φωσφατάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης. Ο δεύτερος μηχανισμός ξεκινά από τη διέγερση του αραχιδονικού οξέος και καταλήγει στην ενεργοποίηση της Rho-κινάσης. Ο τρίτος είναι ανεξάρτητος από την πρωτεΐνη RhoA και μεθοδεύεται από την ενεργοποίηση της PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C), η οποία φωσφορυλιώνει και αδρανοποιεί την καταλυτική ομάδα της φωσφατάσης (42).

Οι δύο πρώτοι μηχανισμοί λειτουργούν, όπως ήδη αναφέρθηκε, μέσα από τη βιοχημική οδό των Rho-Rho κινασών. Η Rho κινάση είναι μια κινάση η οποία, όπως επίσης αναφέρθηκε, φωσφορυλιώνει και αδρανοποιεί τη φωσφατάση της μυοσίνης, ενώ συγχρόνως φωσφορυλιώνει και την ελαφρά άλυσος της μυοσίνης επιτείνοντας την ενεργοποίηση της τελευταίας. Η κινάση Rho εμφανίζεται με δύο isoμορφές (40,42).

Κατά τη φάση ηρεμίας, η RhoA, η οποία είναι μια μονομερής G-πρωτεΐνη, ευρίσκεται αδρανής στο κυτταρόπλασμα, ενωμένη με GDP (Guanine Diphosphate: Διφωσφορική γουανοσίνη) και σε σύμπλεγμα με τη RhoGDI (Guanine nucleotide Dissociation Inhibitor: Αναστολέας αποδέσμευσης του γουανινονουκλεοτιδίου). Κατά τη φάση διέγερσης, οι GEFs (Guanine nucleotide Exchange Factors: Παράγοντες ανταλλαγής των γουανινονουκλεοτιδίων) ενεργοποιούμενοι από βιοχημικές οδούς που ξεκινούν από τη διέγερση υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης, ενεργοποιούν με τη σειρά τους το σύμπλεγμα "RhoA-RhoGDI" ανταλλάσσοντας την GDP με την GTP (Guanine Triphosphate: Τριφωσφορική γουανοσίνη). Στη συνέχεια, η RhoA αποδεσμεύεται από τη RhoGDI και οδεύει προς την κυτταρική μεμβράνη. Εκεί ενεργοποιεί τη Rho-κινάση η οποία φωσφορυλιώνει και αδρανοποιεί τη φωσφατάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης (42).

## Μηχανισμοί αποκατάστασης της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του ελεύθερου $\text{Ca}^{2+}$

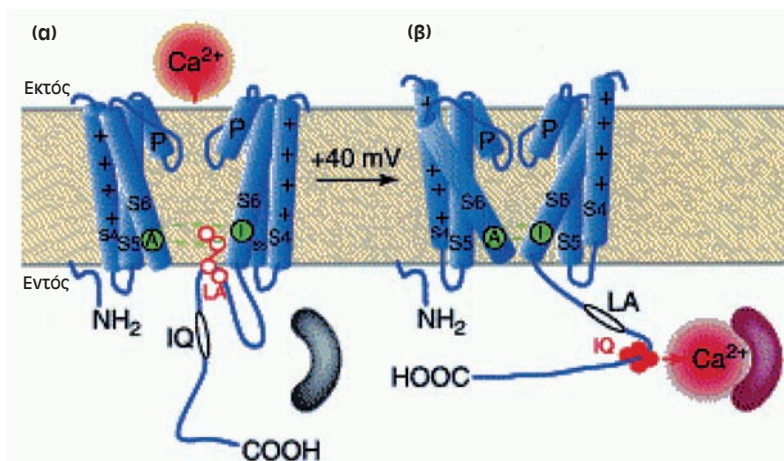
Οι δυναμικοευαίσθητοι διάυλοι του  $\text{Ca}^{2+}$  είναι κλειστοί κατά τη φάση του δυναμικού ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης. Με την αποπόλωση ανοίγουν και γίνονται διαπερατοί στο εξωκυττάριο  $\text{Ca}^{2+}$ . Η ταχεία και πλήρης αδρανοποίηση των διαύλων αυτών αποτελεί ένα βασικό βήμα στο να τερματισθεί τόσο η περαιτέρω είσοδος του ιόντος αυτού όσο και η εξ αυτού πυροδοτούμενη κυτταρική απάντηση (22).

Η CaM κατέχει κεντρικό ρόλο στην ασβεστιοεπαγόμενη αδρανοποίηση των διαύλων αυτών. Κατά τη φάση ηρεμίας, ευρίσκεται συνδεδεμένη με τον αισθητήρα LA στο καρβοξυλικό (COOH) ενδοκυττάριο πέρας του μορίου της  $\alpha 1$ -υπομονάδας. Η σύνδεση αυτή ευνοείται από τη χαμηλή συγκέντρωση του ελεύθερου ενδοκυττάριας  $\text{Ca}^{2+}$ . Η CaM προκαλεί τη σύνδεση της πρωτεΐνης ADSI με τον αισθητήρα LA του τομέα CSD. Καθώς το  $\text{Ca}^{2+}$  εισέρχεται και συνδέεται με την CaM και το σύμπλοκο "CaM- $\text{Ca}^{2+}$ " μετακινείται προς τον αισθητήρα QI, ενώνεται με αυτό και δημιουργεί ένα νέο σύμπλοκο "CaM- QI- $\text{Ca}^{2+}$ " φερόμενο επί της αλυσίδας του καρβοξυλικού πέρατος της  $\alpha 1$ -υπομονάδας. Στη συνέχεια, το καρβοξυλικό πέρας μετακινείται και συνδέεται με την πρωτεΐνη στόχο την οποία ενεργοποιεί απελευθερούμενο το  $\text{Ca}^{2+}$ . Παράλληλα και καθώς το  $\text{Ca}^{2+}$  απελευθερώνεται, κάθε S6 τμήμα των  $\alpha 1$ -υπομονάδων συσπάται και επανατοποθετεί τις πρωτεΐνες ADSI αδρανοποιώντας το διάυλο, ενώ η CaM επιστρέφει στην αρχική της θέση (22).

Καθώς ο μηχανισμός σύσπασης της λείας μυϊκής ίνας φθάνει προς το τέλος, η συγκέντρωση των ελεύθερων  $\text{Ca}^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα επανέρχεται βαθμιαία στα επίπεδα ηρεμίας, διότι τα ιόντα αυτά οδεύουν προς τον εξωκυττάριο χώρο και τις ενδοκυττάριας αποθήκες. Τα  $\text{Ca}^{2+}$  εξέρχονται εκ του κυτταροπλάσματος προς τις ενδοκυττάριας αποθήκες ή τον εξωκυττάριο χώρο κατά τη φάση της επαναπόλωσης με δύο μηχανισμούς (43-45).

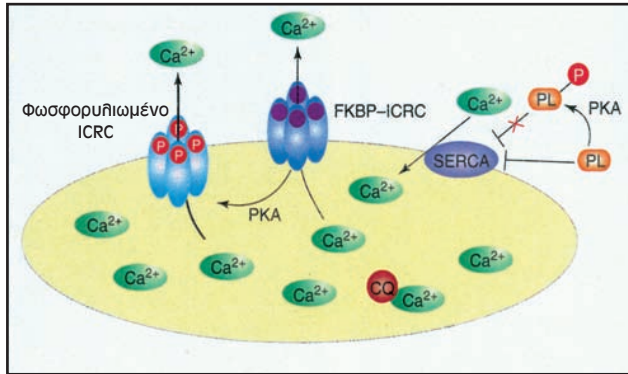
Ο πρώτος μηχανισμός εξόδου είναι η αντλία του  $\text{Ca}^{2+}$  που λειτουργεί με κατανάλωση ενέργειας που αντλεί από τη διάσπαση της ATP και την απελευθέρωση φωσφορικών ριζών. Η αντλία αυτή παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια προς τα  $\text{Ca}^{2+}$  σε σχέση με τις πρωτεΐνες στόχους με τις οποίες αυτά ενώνονται μέσα στο κυτταρόπλασμα. Η αντλία αυτή υπάρχει και στην κυτταρική μεμβράνη και στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου. Στην πρώτη, για κάθε ιόν ασβεστίου που βγαίνει καταναλώνεται ένα μόριο ATP, ενώ στη δεύτερη η αναλογία είναι δύο προς ένα. Η ενεργοποίηση της αντλίας αρχίζει με το σχηματισμό του συμπλόκου " $\text{Ca}^{2+}$ -καλμοδουλίνη" και δεν είναι τίποτε άλλο παρά ένας ακόμη μηχανισμός εξισορρόπησης.

Ο δεύτερος μηχανισμός εξόδου των  $\text{Ca}^{2+}$  είναι με την αντίθετη μετακίνηση  $\text{Na}^+$ . Η σχέση μεταξύ αντίθετα κινούμενων ιόντων εκατέρωθεν της μεμβρά-



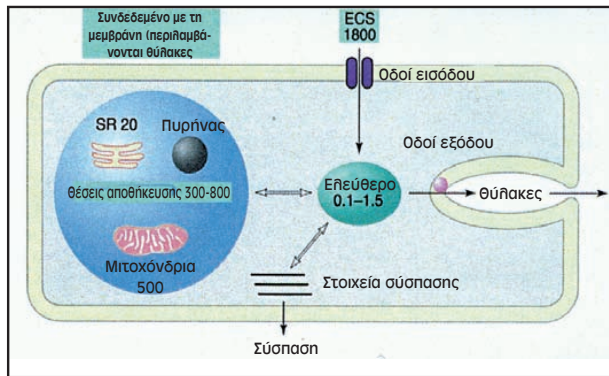
**Εικόνα 5.31: Προτεινόμενο μοντέλο ασβεστιοεξαρτώμενης αδρανοποίησης των δυναμικοευαίσθητων διαύλων.** Η σχηματική παράσταση αναφέρεται στα δύο (II και IV) από τα τέσσερα μοτίβα της  $\alpha 1$ -υπομονάδας που δημιουργούν τον L-διάυλο των  $Ca^{2+}$ . Από τα μοτίβα αυτά αναπαριστώνονται τα τμήματα S4, S5, S6, οι P-αγκύλες, τα ενδοκυττάρια καρβοξυλικά (COOH) και αμινικά ( $NH_2$ ) πέρατα, καθώς και η πρωτεΐνη (κίτρινο) ADSI (Annular Determinant of Slow Inactivation: Διακυτταριδής παράγοντας που καθορίζει τη βραδεία αδρανοποίηση) που ευρίσκεται στα S6 τμήματα. (α) Κατά τη φάση ηρεμίας, η καλμοδουλίνη (CaM) ευρίσκεται σε εκτεταμένο σχηματισμό (κόκκινοι κύκλοι) και είναι συνδεδεμένη με τον αισθητήρα LA στο καρβοξυλικό (COOH) ενδοκυττάριο πέρασ του μορίου της  $\alpha 1$ -υπομονάδας. Έχοντας τη θέση αυτή, δεν μπορεί να έλθει σε επαφή με το ελεύθερο ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$  και τους αναστολείς της. Οι μη κατειλημμένες στο μόριο της CaM θέσεις σύνδεσης με το  $Ca^{2+}$  δίνουν πρόσβαση μόνο στο διαχεόμενο  $Ca^{2+}$  (άσπρο στους κόκκινους κύκλους). Κατά την αποπόλωση, η περιστροφή των S4 τμημάτων και η ελαφρά μετατόπισή τους προς τα άνω είναι υπεύθυνες για την ανταπόκριση των διαύλων στις αλλαγές του δυναμικού και οδηγούν στην ενεργοποίηση αυτών. Καθώς το  $Ca^{2+}$  (κόκκινο) εισέρχεται, συνδέεται με την CaM και το σύμπλοκο "CaM-  $Ca^{2+}$ " μετακινείται προς τον αισθητήρα Q1, ενώνεται με αυτόν και δημιουργεί ένα νέο σύμπλοκο "CaM- Q1-  $Ca^{2+}$ " φερόμενο επί της αλυσίδας του καρβοξυλικού πέρατος της  $\alpha 1$ -υπομονάδας. Στη συνέχεια, το καρβοξυλικό πέρασ μετακινείται και συνδέεται με την πρωτεΐνη στόχο (βυσσινί), την οποία το  $Ca^{2+}$  απελευθερούμενο ενεργοποιεί. (β) Η αποδέσμευση του  $Ca^{2+}$  από το σύμπλοκο προάγει την αδρανοποίηση του διαύλου, η οποία επέρχεται λόγω της σύσπασης των S6 τμημάτων, την επανατοποθέτηση της πρωτεΐνης ADSI και την επακολουθούσα σύμπτωση των τοιχωμάτων του πόρου του διαύλου. Παράλληλα, η απελευθέρωση του  $Ca^{2+}$  προάγει το μετασχηματισμό της CaM προς την εκτεταμένη μορφή του μορίου της, την απομάκρυνσή της από τον αισθητήρα Q1 και την επανασύνδεσή της με τον αισθητήρα LA τον οποίο σταθεροποιεί. Το σύμπλοκο "CaM- LA" επανέρχεται στη θέση ηρεμίας με την πίω κίνηση του καρβοξυλικού πέρατος το οποίο μετακινείται ως αντίδραση στο εκ νέου εγκαθιστάμενο αρνητικό δυναμικό. *Trends Pharmacol. Sci 24, 2003*





**Εικόνα 5.32: Επαναπρόσληψη, εναποθήκευση και απελευθέρωση του  $Ca^{2+}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο.** Η PKA (Protein Kinase A: Πρωτεϊνική Κινάση Α) ρυθμίζει τόσο την πρόσληψη του  $Ca^{2+}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο όσο και την απελευθέρωσή του από αυτό προς το κυτταρόπλασμα. Η φωσφορυλίωση (P) της φωσφολαμβάνης (PL: Phospholamban) από την PKA, αδρανοποιεί και εξουδετερώνει την ανασταλτική δράση την οποία ασκεί το μόριο αυτό στην αντλία SERCA (Sarcoplasmic Endoplasmic Reticulum  $Ca^{2+}$  ATPase:  $Ca^{2+}$  ATPάση του ενδοπλασματικού-σαρκοπλασματικού δικτύου) η οποία, με τη σειρά της, προάγει την είσοδο του  $Ca^{2+}$  στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Πρωτεΐνες όπως η καλσεκουεστρίνη (CQ: Calsequestrin) βοηθούν την εναποθήκευση του  $Ca^{2+}$  σε υψηλές συγκεντρώσεις στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Το  $Ca^{2+}$  απελευθερώνεται από το ενδοπλασματικό δίκτυο προς το κυτταρόπλασμα μέσω των διαύλων ICRCs (Intracellular  $Ca^{2+}$  Release Channels: Δίαυλοι που απελευθερώνουν ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$ ) της τριφωσφορικής ινοσιτόλης και της ρυανοδίνης. Η φωσφορυλίωση των διαύλων ICRCs από την PKA οδηγεί στην απομάκρυνση της ανασταλτικής ως προς τη διάνοιξή τους, πρωτεΐνης FKBP506 (FK Binding Protein 506: FK συνδέουσα πρωτεΐνη 506).

*Trends Pharmacol. Sci. 22,2001*



**Εικόνα 5.33: Ανακεφαλαίωση της διακίνησης του  $Ca^{2+}$  στο επίπεδο της λείας μυϊκής ίνας.** Απεικονίζονται οι οδοί εισόδου των  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα από τον εξωκυττάριο χώρο και τις ενδοκυττάριας αποθήκες και οι οδοί απομάκρυνσης των  $Ca^{2+}$  προς τον εξωκυττάριο χώρο και επαναπρόσληψής των από τις ενδοκυττάριας αποθήκες. Όπου SR (Sarcoplasmic Reticulum: Σαρκοπλασματικό δίκτυο), ECS (Extracellular Space: Εξωκυττάριος χώρος). Συγκέντρωση  $Ca^{2+}$  σε  $\mu M^{-1}$ .

*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*

νης είναι ένα προς τρία. Πρόκειται για μηχανισμό που λειτουργεί με βάση κυρίως τις συγκεντρώσεις των ιόντων, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν χρειάζεται τη, κατανάλωση ενέργειας η οποία δαπανάται για τη διατήρηση της υπεροχής του εξωκυττάρου  $\text{Na}^+$ .

Η κινάση PKA ρυθμίζει τόσο την πρόσληψη του  $\text{Ca}^{2+}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο όσο και την απελευθέρωσή του από αυτό προς το κυτταρόπλασμα. Η αντλία SERCA (Sarcoplasmic Endoplasmic Reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ ATPase), η οποία απαντά τόσο στα μυοκαρδιακά κύτταρα όσο και στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος, προάγει την είσοδο του  $\text{Ca}^{2+}$  στο ενδοπλασματικό δίκτυο, ενώ η φωσφολαμβάνη δρα ανασταλτικά στην αντλία αυτή. Η φωσφορυλίωση της φωσφολαμβάνης από την PKA αδρανοποιεί και εξουδετερώνει την ανασταλτική δράση την οποία ασκεί το μόριο αυτό στη SERCA. Μια ομάδα πρωτεϊνών όπως η τριαδίνη (triadin), η συνδεσμίνη (junctin) και οι συνδεσοφυλλίνες (junctophilins) συμβάλλουν στη δομική οργάνωση των ενδοκυττάρων αποθηκών του ιόντος αυτού, ενώ άλλες πρωτεΐνες όπως η καλσεκουεστρίνη και η καλρετικουλίνη μεθοδεύουν την εναποθήκευση του  $\text{Ca}^{2+}$  σε υψηλές συγκεντρώσεις στο ενδοπλασματικό δίκτυο (13,15,31,32).

### Οι δίαυλοι του $\text{K}^+$

Το μέγεθος του παραγόμενου ηλεκτρικού σήματος και η εξ αυτού εξαρτώμενη ταχύτητα μετάδοσης προσδιορίζονται από την ταχύτητα εισόδου και την ολική ποσότητα του εισερχόμενου  $\text{Na}^+$  κατά την έναρξη της διέγερσης ενός κυττάρου. Οι δύο αυτές παράμετροι εξαρτώνται από την πυκνότητα των διαθέσιμων προς διάνοιξη διαύλων του  $\text{Na}^+$ . Όσο το δυναμικό ηρεμίας έχει χαμηλότερες τιμές (μερική αποπόλωση) τόσο μεγαλύτερο ποσοστό διαύλων  $\text{Na}^+$  απενεργοποιείται, και η ποσότητα των διαθέσιμων προς διάνοιξη διαύλων  $\text{Na}^+$  μειώνεται με επίπτωση στο μέγεθος του σήματος. Στις περιπτώσεις αυτές ομιλούμε για κατεσταλμένο ταχύ δυναμικό δράσης και ενδεχομένως βραδύ δυναμικό δράσης.

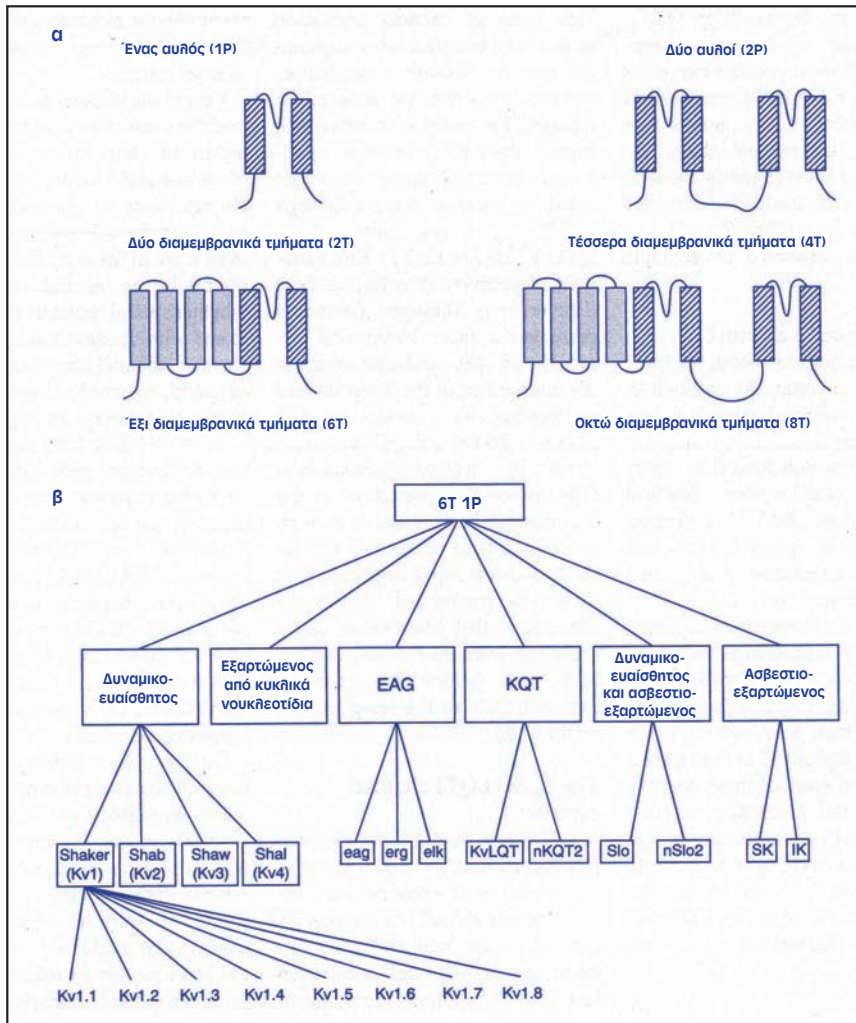
Οι δίαυλοι του  $\text{K}^+$  παίζουν σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής λειτουργίας. Το άνοιγμά τους έχει ως αποτέλεσμα την αποκατάσταση του δυναμικού ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης. Στα διεγερμένα κύτταρα, το άνοιγμά τους θα οδηγήσει στην περάτωση της περιόδου του δυναμικού δράσης, θα επαναπολώσει την κυτταρική μεμβράνη και θα την επαναφέρει στο δυναμικό ηρεμίας. Σε περίπτωση εισόδου μικρής ποσότητας κατιόντων (ασθενές ερέθισμα), μέσω διαύλων  $\text{K}^+$  εξέρχεται αντίστοιχη ποσότητα  $\text{K}^+$  και αποκαθίσταται η ηλεκτρική ισορροπία παρεμποδίζοντας τη διέγερση των κυττάρων κατόπιν εφαρμογής υποουδικού ερεθίσματος. Στη συνέχεια παρέχεται χρόνος για τη μέσω αντλιών επανασύλληψη του εξελθόντος  $\text{K}^+$  και εκδίωξη των άλλων κατιόντων. Το μέγεθος του παραγόμενου ηλεκτρικού κύματος και η εξ αυτού εξαρ-

τώμενη ταχύτητα μετάδοσης εξαρτώνται κατά σειρά από την ταχύτητα εισόδου και την ολική ποσότητα του εισερχόμενου  $\text{Na}^+$  κατά την έναρξη της διέγερσης (φάση Ο του δυναμικού δράσης των γραμμωτών μυϊκών ινών). Οι δύο αυτές ποσότητες εξαρτώνται από την πυκνότητα των διαθέσιμων προς διάνοιξη διαύλων του  $\text{Na}^+$ . Όσο το δυναμικό ηρεμίας έχει χαμηλότερες τιμές (μερική αποπόλωση), τόσο μεγαλύτερος αριθμός των διαύλων  $\text{Na}^+$  απενεργοποιείται και η πυκνότητα των διαθέσιμων προς διάνοιξη διαύλων  $\text{Na}^+$  μειώνεται με αρνητική επίπτωση στο μέγεθος του σήματος (7,46,47).

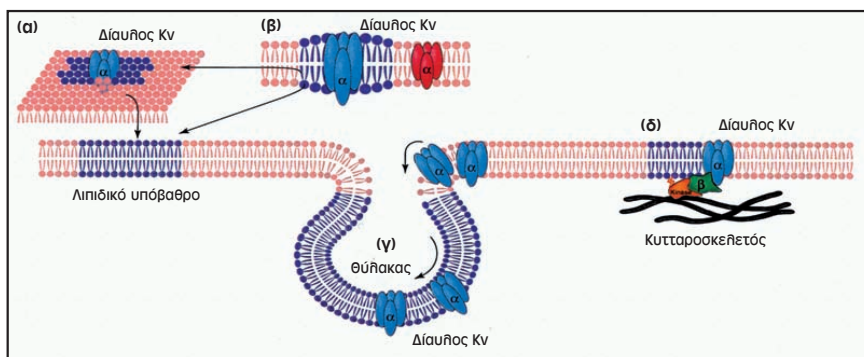
Οι  $\text{K}^+$ -διάυλοι αποτελούν την πλέον ετερογενή ομάδα ιοντικών διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης. Από πλευράς δομής, οι διάυλοι του  $\text{K}^+$  διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες με βάση τον αριθμό των διαμεμβρανικών τμημάτων τους και τον αριθμό των πόρων που διαθέτουν. Η πρώτη κατηγορία περιέχει δύο διαμεμβρανικά τμήματα και έναν πόρο. Η δεύτερη περιέχει τέσσερα διαμεμβρανικά τμήματα και δύο πόρους. Η τρίτη έχει διαμεμβρανικά τμήματα και έναν πόρο και η τέταρτη οκτώ διαμεμβρανικά τμήματα και δύο πόρους.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η τρίτη κατηγορία, δεδομένου ότι είναι καλύτερα μελετημένη και αποτελεί στόχο φαρμακολογικών παρεμβάσεων για φάρμακα που σχετίζονται με παθήσεις του καρδιαγγειακού συστήματος. Στην τρίτη κατηγορία και με βάση τη λειτουργικότητα, μεταξύ των κυριότερων διαύλων περιλαμβάνονται οι  $\text{K}_v$ -διάυλοι που ρυθμίζονται από το δυναμικό, οι διάυλοι που ρυθμίζονται από τα κυκλικά νουκλεοτίδια, οι διάυλοι που ρυθμίζονται από το δυναμικό και το  $\text{Ca}^{2+}$  και οι διάυλοι που ρυθμίζονται μόνο από το  $\text{Ca}^{2+}$ .

Πολλά είδη  $\text{K}^+$ -διαύλων, μεταξύ των οποίων οι  $\text{K}_v$  και οι  $\text{K}_{ca}$  - διάυλοι, αλλά και διάυλοι άλλων ιόντων εγκαθίστανται στην κυτταρική μεμβράνη σε ειδικές θέσεις που λειτουργούν ως λιπιδικά υπόβαθρα με βάση την αρχή της “υδροφοβικής προσαρμογής: hydrophobic matching”, στα οποία η λιπιδική διπλοστιβάδα είναι παχύτερη και πλούσια σε χοληστερόλη και σφιγγολιπίδια. Τα ίδια υπόβαθρα περιέχουν και σηματοδοτούσες πρωτεΐνες. Οι θέσεις αυτές μπορεί να χρησιμεύουν και για τη δημιουργία κελύφους. Ο μηχανισμός που διέπει την εγκατάσταση αυτή αρχίζει με το σχηματισμό ενός λιπιδικού κελύφους γύρω από την πρωτεΐνη του διαύλου, ενώ παράλληλα αυξάνει τη συγγενείά της με τις προϋπάρχουσες περιοχές που χρησιμεύουν ως υπόβαθρα. Πιθανότατα, οι διάυλοι δεν συνδέονται πάντα εξαρχής με τα υπόβαθρα αυτά, αλλά μάλλον μεταναστεύουν προς αυτά μέσω πλάγιας διάχυσης, ενώ διάφορες αλληλεπιδράσεις με πρωτεΐνες θα πρέπει να διευκολύνουν την εγκατάσταση των διαύλων στα λιπιδικά υπόβαθρα. Στις περιπτώσεις αυτές, η σύνδεση των διαύλων είναι έμμεση και μεσολαβεί μια συνδέουσα πρωτεΐνη που αποτελεί τμήμα ενός ευρύτερου συμπλέγματος, συμπεριλαμβανόμενων των πρωτεϊνών που συνδέονται με τον κυτταροσκελετό. Οι μηχανισμοί αυτοί, πέρα από τον προσδιορισμό της σωστής εγκατάστασης των διαύλων, φαίνεται να έχουν και λειτουργικό ρόλο και το όλο θέμα είναι υπό έρευνα (48).



**Εικόνα 5.34: Κατηγορίες διαύλων του καλίου με βάση τη δομή.** Οι διαύλοι του  $K^+$  μπορούν να διαιρεθούν σε τέσσερις κατηγορίες με βάση τον αριθμό των διαμεμβρανικών τμημάτων τους (TM: Transmembrane) και τον αριθμό των αυλών ή πόρων (P:Pore) τους οποίους φέρουν.  
*Trends Pharmacol. Sci.* 18, 1997



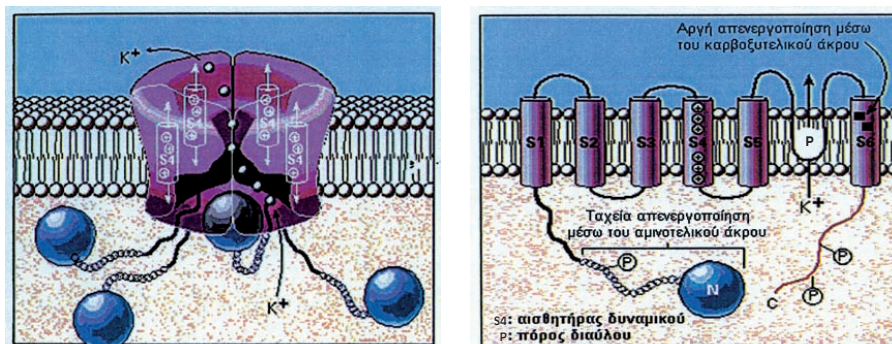
**Εικόνα 5.35: Δυναμικοί μηχανισμοί στόχευσης των δυναμικοευαίσθητων  $K_v$ -διαύλων προς τις μικροπεριοχές των λιπιδικών υποβάθρων.** (α) Ο σχηματισμός ενός λιπιδικού κελύφους γύρω από την πρωτεΐνη του διαύλου αυξάνει τη συγγένειά της με προϋπάρχουσες περιοχές που χρησιμεύουν ως υπόβαθρα. Υπάρχουν όμως και διαύλοι που δεν ευρίσκονται σε ανάλογα υπόβαθρα (κόκκινο). (β) Οι διαύλοι (μπλε) θα πρέπει να κατασκηνώνουν σε μεμβρανικές περιοχές που χρησιμεύουν ως υπόβαθρα (μωβ). (γ) Πιθανότητα, οι διαύλοι δεν συνδέονται πάντα εξαρχής με τα υπόβαθρα αυτά, αλλά μάλλον μεταναστεύουν προς αυτά μέσω πλάγιας διάχυσης. (δ) Αλληλεπιδράσεις με πρωτεΐνες, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και οι κυτταροσκελετικές, θα πρέπει να διευκολύνουν την εγκατάσταση των διαύλων στα λιπιδικά υπόβαθρα.

*Trends Pharmacol. Sci 25,2004*

### **A. Οι διαύλοι του $K^+$ που ρυθμίζονται από το δυναμικό**

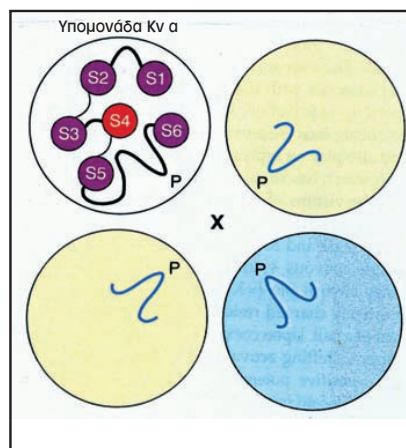
Οι διαύλοι που ρυθμίζονται από το δυναμικό ( $K_v$ -channels: Voltage-gated  $K^+$  channels) είναι υπεύθυνοι για την αποδρομή της ηλεκτρικής διέγερσης των κυττάρων. Η δομή των  $K_v$ -διαύλων είναι τετραμερής. Κάθε διάυλος σχηματίζεται από τέσσερις  $\alpha$ -υπομονάδες που είναι τοποθετημένες κυκλικά. Κάθε  $\alpha$ -υπομονάδα διαθέτει μια περιοχή που θα αποτελέσει τμήμα του πόρου, μια δυναμικοευαίσθητη περιοχή, μια πύλη ενεργοποίησης και μια περιοχή αδρανοποίησης. Κάθε  $\alpha$ -υπομονάδα έχει έξι διαμεμβρανικά τμήματα διατεταγμένα εν σειρά που ονομάζονται S1,S2,S3,S4,S5,S6 και δύο ενδοκυττάρια υδρόφοβα πέρατα, το N-πέρας και το C-πέρας. Το S4 τμήμα παριστάνει το τμήμα που είναι πιο ευαίσθητο στα δυναμικά. Μεταξύ των S5 και S6 τμημάτων υπάρχει μια ειδική περιοχή, η P-αγκύλη, η οποία αποτελεί ένα βασικό τμήμα του πόρου του  $K_v$ -διαύλου. Τα S6 τμήματα που κείνται κατά μήκος του πόρου περιέχουν αμινοξέα που θεωρούνται βασικά για την αδρανοποίηση του διαύλου (7,49,50).

Υπάρχει μεγάλη ποικιλία  $\alpha$ -υπομονάδων λόγω διαφορετικής σύνθεσης σε αμινοξέα, με αποτέλεσμα η καθεμία από αυτές να διαφοροποιείται όσον αφορά τις φυσιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες. Επίσης ορισμένες  $\alpha$ -υπομονάδες συνδέονται σταθερά με επικουρικές ενδοκυττάριας  $\beta$ -υπομονάδες που είναι περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες και οι οποίες, με τη σειρά τους, επηρεάζουν τη συμπεριφορά του διαύλου. Ο συνδυασμός διαφόρων  $\alpha$  και  $\beta$



**Εικόνα 5.36: Δομή των δυναμικοευαίσθητων Kv- διαύλων του K<sup>+</sup> (Αριστερά)** Η δομή των Kv- διαύλων είναι τετραμερής. Κάθε διάυλος σχηματίζεται από τέσσερις α-υπομονάδες που είναι τοποθετημένες κυκλικά. **(Δεξιά)** Κάθε α-υπομονάδα έχει έξι διαμεμβρανικά τμήματα εν σειρά διατεταγμένα που ονομάζονται S1,S2,S3,S4,S5,S6 και δύο ενδοκυττάρια υδροφοβα πέρατα, το N-πέρας και το C-πέρας. Το S4 τμήμα παριστάνει το τμήμα το πιο ευαίσθητο στα δυναμικά. Μεταξύ των S5 και S6 τμημάτων υπάρχει μια ειδική περιοχή, η P-αγκύλη, η οποία αποτελεί ένα βασικό τμήμα του πόρου του Kv-διαύλου. Τα S6 τμήματα που κείνται κατά μήκος του πόρου περιέχουν αμινοξέα που θεωρούνται βασικά για την αδρανοποίηση του διαύλου. Κάθε α-υπομονάδα διαθέτει μια περιοχή που θα αποτελέσει τμήμα του πόρου, μια δυναμικοευαίσθητη περιοχή, μια πύλη ενεργοποίησης και μια περιοχή αδρανοποίησης.

Πούλιου Α.- Internet,2005



**Εικόνα 5.37: Εγκάρσια διατομή των δυναμικοευαίσθητων Kv-διαύλων του K<sup>+</sup>.** Διακρίνονται οι τέσσερις α-υπομονάδες καθώς σχηματίζουν τον πόρο σε εγκάρσια διατομή και τα έξι διαμεμβρανικά τμήματα S από τα οποία αποτελείται η κάθε υπομονάδα. Η P-αγκύλη αποτελεί βασικό δομικό στοιχείο του πόρου. Οι τρεις υπομονάδες έχουν διαφορετικό χρώμα, γιατί τυχαίνει να είναι διαφορετικές αλλά να ανήκουν πάντα στην ίδια υποοικογένεια.

Trends Pharmacol. Sci 18,1997

ισομόρφων αυξάνει τις πιθανότητες εμφάνισης μεγάλης ποικιλίας  $K^+$ -διαύλων. Σε ορισμένους  $K_V$ -διαύλους έχει περιγραφεί η παρουσία και  $\gamma$ -υπομονάδων που ομοιάζουν με δομικά με τις  $\alpha$ -υπομονάδες, δεν μπορούν όμως να σχηματίσουν λειτουργικά τετραμερή.

Οι  $K_V$ -διάυλοι υπάρχουν σε διάφορες μετασχηματιζόμενες μορφές. Αυτές είναι η κλειστή μορφή ηρεμίας, η ενεργοποιημένη αλλά κλειστή μορφή που η διαμόρφωσή της εξαρτάται από την ανάπτυξη του δυναμικού, η ανοικτή μορφή που αναπτύσσεται ανεξάρτητα από το δυναμικό και η αδρανοποιηθείσα μορφή. Κατά τη φάση ηρεμίας, η πύλη των διαύλων του  $K^+$  που εξαρτώνται από το δυναμικό παραμένει κλειστή και δεν επιτρέπει στο  $K^+$  να περάσει διά μέσου αυτών προς τον εξωκυττάριο χώρο. Καθώς το δυναμικό της μεμβράνης τείνει να θετικοποιηθεί ενδοκυτταρίως, παρατηρείται ένας μετασχηματισμός της πύλης που επιτρέπει τη διέλευση των ιόντων  $K^+$  προς τα έξω.

Ο μετασχηματισμός πιθανόν συνίσταται σε εξαναγκασμό σε ελικοειδή κίνηση δίκην κοχλίου υπό την κινούσα δύναμη που προκαλεί η μεταβολή της διαφοράς δυναμικού μεταξύ των δύο επιφανειών της μεμβράνης. Η κίνηση αυτή διανοίγει ή κλείνει τις πύλες, όπως το διάφραγμα του φακού της φωτογραφικής μηχανής.

Οι διάυλοι αυτοί του  $K^+$  αδρανοποιούνται με δύο διαφορετικούς μηχανισμούς. Ο πρώτος μηχανισμός ονομάζεται N-τύπου, είναι ταχύτερος και μεθοδεύεται μέσα από περιοχές που ευρίσκονται κοντά στο N-ενδοκυττάριο πέρασ του διαύλου. Το τμήμα αυτό του διαύλου περιέχει ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα αδρανοποίησης που κλείνει τον πόρο του διαύλου από την πλευρά του κυτταροπλάσματος. Ο δεύτερος μηχανισμός ονομάζεται C-τύπου, εξελίσσεται βραδύτερα και εμπλέκονται περιοχές κοντά στο εξωκυττάριο στόμιο του διαύλου όπου και δρα το αντίστοιχο πρωτεϊνικό σύμπλεγμα αδρανοποίησης.

### ***B. Οι διάυλοι του $K^+$ που είναι ευαίσθητοι στα νουκλεοτίδια***

Οι διάυλοι του  $K^+$  που είναι ευαίσθητοι στην τριφωσφορική αδενοσίνη ή ATP ( $K_{ATP}$ : ATP-sensitive  $K^+$  channels) αποτελούν την κυριότερη ομάδα της οικογένειας των  $K^+$ -διαύλων που ρυθμίζονται από τα κυκλικά νουκλεοτίδια. Οι  $K_{ATP}$ -διάυλοι, οι οποίοι έχουν ευρεθεί σε μια μεγάλη ποικιλία ιστών, είναι οκταμερή που αποτελούνται από τέσσερα SUR τμήματα που περικλείουν έναν κεντρικό Kir 6.2 πόρο. Οι ονομασίες αυτές αντιστοιχούν στα γονίδια που κωδικοποιούν τις παραπάνω υπομονάδες του  $K_{ATP}$ -διαύλου. Απαιτείται η παρουσία και των δύο αυτών υπομονάδων, προκειμένου ο συγκεκριμένος διάυλος να έχει πλήρη λειτουργικότητα. Η ATP εμποδίζει τη διάνοιξη του διαύλου, ενώ η απομάκρυνσή της από αυτόν αποκαθιστά τη λειτουργικότητά του (7,51).

Σύμφωνα με αναφορές, το N-πέρασ της Kir6.2 υπομονάδας ευθύνεται αφενός για την περάτωση της φάσης λειτουργίας του διαύλου που προκαλείται

από το άνοιγμα του διαύλου, αφετέρου οδηγεί το δίαυλο σε μια κλειστή κατάσταση, συνδεδεμένο παράλληλα με την ATP. Την ανασταλτική ενέργεια της ATP στη λειτουργία του διαύλου ανταγωνίζεται η  $PIP_2$  της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτό το επιτυγχάνει με το να αποκρύπτει θέσεις στην υπομονάδα Kir6.2 που είναι σημαντικές για τη δέσμευση της ATP. Ως γνωστόν, η  $PIP_2$  υπόκειται στην ενζυματική διάσπαση από την PLC.

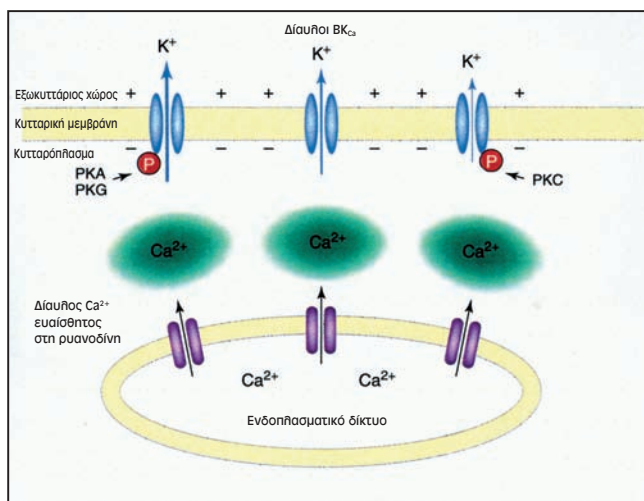
Οι  $K_{ATP}$ -δίαυλοι προστατεύουν τα κύτταρα από τον μεταβολικό τραυματισμό, όπως συμβαίνει στις ισχαιμικές καταστάσεις. Επίσης, χρησιμεύουν ως ευαίσθητοι αισθητήρες των μεταβολικών αλλαγών του κυττάρου και συντονίζουν την ηλεκτρική δραστηριότητα της κυτταρικής μεμβράνης με βάση τις μεταβολές αυτές (7,47-49,51).

Ιδιαίτερα σημαντικός για την προστασία του μυοκαρδίου είναι ο ρόλος των  $K_{ATP}$ -διαύλων της μιτοχονδριακής μεμβράνης. Η έξοδος των  $K^+$  δια των εν λόγω διαύλων αυξάνει τη θετικότητα του περιμιτοχονδριακού σχισμοειδούς χώρου και χαλιναγωγεί την έξοδο των διερχόμενων μέσω της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας  $H^+$  που συνεπάγεται την κατανάλωση καυσίμων από τα ενεργειακά υποστρώματα. Άρα, η διάνοιξη περισσότερων  $K_{ATP}$ -διαύλων περιορίζει περαιτέρω τη σπατάλη  $O_2$ , όταν η παροχή του είναι περιορισμένη. Με τον τρόπο αυτό εξοικονομείται ενέργεια για την προς τα έξω άντληση των  $Na^+$  και  $Ca^{2+}$ , μηχανισμός που είναι ζωτικός για την επιβίωση του κυττάρου. Ο μηχανισμός αυτός ανήκει στους μηχανισμούς του οξέος ισχαιμικού εγκλιματισμού και συνοδεύει τον επόμενο που βασίζεται σε διάνοιξη των σαρκοπλασματικών  $K_{ATP}$ -διαύλων (51).

Οι  $K_{ATP}$ -δίαυλοι σχετίζονται, επίσης, με την ομαλή λειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος. Ο φαρμακολογικός αποκλεισμός των διαύλων αυτών, όπως θα αναπτυχθεί στη συνέχεια, οδηγεί σε θετικοποίηση του εσωτερικού της κυτταρικής μεμβράνης, σε αποπόλωση και σε διέγερση της έκκρισης της ινσουλίνης. Αντίθετα, η διάνοιξη από φάρμακα των διαύλων αυτών στις λείες μυϊκές ίνες οδηγεί σε θετικοποίηση του εσωτερικού της κυτταρικής μεμβράνης, σε υπερπόλωση και σε χάλαση των τελευταίων. Προκειμένου δε περί αγγείων, οδηγεί σε αγγειοδιαστολή (51).

Στους  $K^+$  που ρυθμίζονται από τα κυκλικά νουκλεοτίδια αναφέρεται και μια άλλη κατηγορία διαύλων που ενεργοποιείται από την κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP: cyclic Guanine Monophosphate). Ο δίαυλος αυτός έχει έξι διαμεμβρανικά τμήματα, έναν δυναμικοευαίσθητο αισθητήρα, μια περιοχή πόρου, μια περιοχή σύνδεσης για κυκλικά νουκλεοτίδια και πιθανές θέσεις για φωσφορυλίωση από τις κινάσες PKA και PKC. Η ύπαρξή του έχει διαπιστωθεί στους νεφρούς, την καρδιά και τη θωρακική αορτή και φαίνεται ότι συμβάλλει στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου. Ιδιαίτερα έχει ευρεθεί ότι ενδογενείς αγγειοδιασταλτικές ουσίες όπως το ANP (Atrial Natriuretic Peptide: Κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο) και αγγειοδιασταλτικά φάρμακα όπως το νιτροπρωσικό νάτριο προάγουν τη διάνοιξη των διαύλων αυτών (52,53).



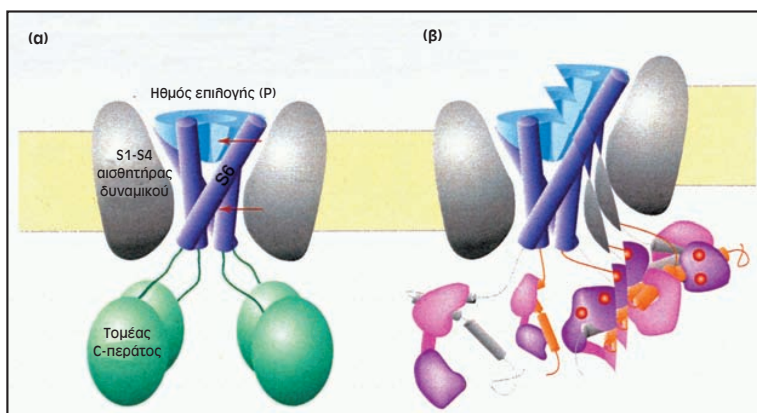


**Εικόνα 5.38:** Σχηματική παράσταση των ενεργειών των πρωτεϊνικών κινάσων στους αυξημένης αγωγιμότητας ασβεστιοεξαρτώμενους διαύλους του K<sup>+</sup> στις λείες μυϊκές ίνες. Τόσο η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup> από την εκκένωση των ενδοκυττάριων αποθηκών όσο και η αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης προάγουν τη διάνοιξη των αυξημένης αγωγιμότητας ασβεστιοεξαρτώμενων διαύλων του K<sup>+</sup> (Large-conductance BK<sub>Ca</sub>), ώστε να επέλθει το πέρας της κυτταρικής διέγερσης. Οι κινάσες PKA και η PKG φωσφορυλιώνουν τους διαύλους αυτούς, τους ανοίγουν και διευκολύνοντας την έξοδο του K<sup>+</sup> ελαττώνουν το θετικό φορτίο στο εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης, δημιουργώντας τις προϋποθέσεις χάλασης της λείας μυϊκής ίνας. Αντίθετα, η PKC φωσφορυλιώνει τους διαύλους αυτούς σε άλλη θέση και προκαλεί το κλείσιμό τους, αυξάνει το θετικό φορτίο στο εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης και παρατείνει τη διέγερση του κυττάρου διευκολύνοντας τη μυϊκή σύσπαση.

*Trends Pharmacol. Sci.* 22, 2001

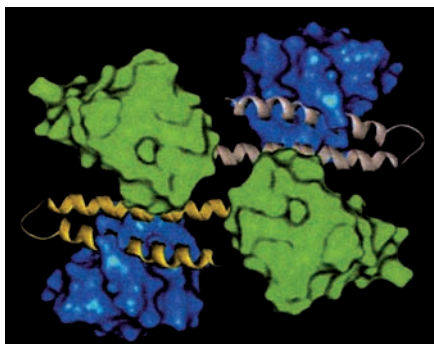
### **Γ. Οι αυξημένης αγωγιμότητας ασβεστιοεξαρτώμενοι διάυλοι του K<sup>+</sup>**

Οι αυξημένης αγωγιμότητας ασβεστιοεξαρτώμενοι διάυλοι του K<sup>+</sup> (Large-conductance BK<sub>Ca</sub>) στις λείες μυϊκές ίνες είναι μοναδικοί, καθώς ολοκληρώνουν τις μεταβολές τόσο στις ενδοκυττάριες συγκεντρώσεις του Ca<sup>2+</sup> όσο και στο δυναμικό της κυτταρικής μεμβράνης. Οι πρωτεϊνικές κινάσες επηρεάζουν τη λειτουργία των διαύλων αυτών. Οι κινάσες PKA και PKG που εξαρτώνται από τη cAMP και τη cGMP αντίστοιχα, προάγουν τη λειτουργία των διαύλων αυτών και διευκολύνοντας την έξοδο του K<sup>+</sup> ελαττώνουν το θετικό φορτίο στο εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης, δημιουργώντας τις προϋποθέσεις χάλασης της λείας μυϊκής ίνας. Αντίθετα, η PKC που ενεργοποιείται από τη διακυλογλυκερόλη (DG) και κατ' επέκταση από το σύστημα της PLC, προκαλεί το κλείσιμο των διαύλων αυτών, τη θετικοποίηση του εσωτερικού της κυτταρικής μεμβράνης, την είσοδο των Ca<sup>2+</sup> και τη σύσπαση της λείας μυϊκής ίνας (54).



**Εικόνα 5.39: (Αριστερά)** Σχηματική παράσταση ενός τετραμερούς διαύλου ιόντων. Αναπαριστώνται τα τέσσερα διαμεμβρανικά τμήματα S1-S4 της  $\alpha$ -υπομονάδας που δρουν ως αισθητήρες του δυναμικού, τα τμήματα S5 (δεν φαίνονται), οι P-αγκύλες και τα τμήματα S6 που δημιουργούν τον πόρο ή αυλό του διαύλου και περιέχουν τους εκλεκτικούς ηθμούς που συνίστανται από την P-αγκύλη και τη δέσμη των τμημάτων S6. Τα κόκκινα βέλη δείχνουν τις πιθανές θέσεις ελέγχου της διέλευσης των ιόντων. Τα C-πέρατα περιέχουν τους ρυθμιστικούς τομείς που μπορεί να συνδέονται με κυκλικά νουκλεοτίδια ή να είναι αισθητήρες του  $Ca^{2+}$ . **(Δεξιά) Μοντέλο διαύλου SKCa του καλίου.** Στο C-πέρας του S6-τμήματος της καθεμίας από τις τέσσερις  $\alpha$ -υπομονάδες παρατηρούνται οι θέσεις σύνδεσης (εναλλασσόμενα γκρι και πορτοκαλί) με το μόριο της καλμοδουλίνης (δίλοβο σχήμα, C- λοβός, ασθενές μωβ και N-λοβός, έντονο μωβ) που δρα ως αισθητήρας του  $Ca^{2+}$ . Τα δύο μόρια της καλμοδουλίνης (αριστερά) δεν είναι συνδεδεμένα με  $Ca^{2+}$ . Τα άλλα δύο μόρια της καλμοδουλίνης (δεξιά) είναι συνδεδεμένα με  $Ca^{2+}$  (κόκκινοι κύκλοι) και το γεγονός αυτό προάγει το διμερισμό των C-περάτων.

*Trends Pharmacol. Sci 22, 2001*



**Εικόνα 5.40: Διμερισμός του διαύλου SKCa του καλίου.** Καθένα από τα δύο μόρια της καλμοδουλίνης αποτελείται από έναν N-λοβό (πράσινο) και έναν C-λοβό (μπλε) που ενώνονται με μια ζώνη (κυανού). Αναπαριστώνται οι δύο τομείς σύνδεσης με την καλμοδουλίνη (κορδέλες κίτρινες) στο C-πέρας του S6-τμήματος της καθεμίας από τις δύο ομάδες του τετραμερούς του διαύλου.

Όψη εικόνας από την κυτταρική μεμβράνη.  
*Trends Pharmacol. Sci 22, 2001*

#### **Δ. Οι διαύλοι SKCa του καλίου**

Οι διαύλοι αυτοί ανήκουν στους τετραμερείς διαύλους στους οποίους ανήκουν και πολλοί άλλοι εκλεκτικοί διαύλοι ιόντων, όπως οι L-διαύλοι του  $\text{Ca}^{2+}$  των οποίων έχει γίνει ήδη περιγραφή. Οι διαύλοι SKCa του καλίου ρυθμίζονται από την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του ελεύθερου  $\text{Ca}^{2+}$ . Για τη ρύθμιση αυτή, στο C-πέρας της S6-έλικας της καθεμίας από τις τέσσερις ομάδες υπάρχει ενσωματωμένο ένα μόριο καλμοδουλίνης. Τα μόρια της καλμοδουλίνης αποτελούνται από έναν N-λοβό και έναν C-λοβό που ενώνονται με μια ζώνη. Καθώς το ενδοκυττάριο ελεύθερο  $\text{Ca}^{2+}$  αυξάνει, ενώνεται με το N-λοβό της καλμοδουλίνης και την ενεργοποιεί. Η καλμοδουλίνη προάγει τον ενδομοριακό διμερισμό των άκρων των C-περάτων των υπομονάδων των διαύλων αυτών. Ο διμερισμός αυτός προάγει το άνοιγμα των διαύλων αυτών και την έξοδο του  $\text{K}^+$  (55).

Οι  $\beta_1$ -υπομονάδες των ασβεστιοεξαρτώμενων διαύλων  $\text{K}^+$  οι οποίοι κυριαρχούν στις λείες μυϊκές ίνες παρουσιάζουν ευαισθησία στις τοπικές ριπές του  $\text{Ca}^{2+}$ , συντονίζουν τους διαύλους αυτούς και συμβάλλουν στη μείωση της αρτηριακής πίεσης (38).

### **Φαρμακολογικές παρεμβάσεις**

#### **Φαρμακολογικές παρεμβάσεις στο επίπεδο των διαύλων του ασβεστίου**

Οι αποκλειστές των διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην κλινική πράξη ως αντιυπερτασικά, ως αντιστηθαγγικά και ως αντιαρρυθμικά φάρμακα. Διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες, τις φαινυλακυλαμίνες, τις βενζοδιαζεπίνες και τις διυδροπυριδίνες (43,56-59).

Ιδιαίτερη σημασία για το αγγειακό τοίχωμα έχουν οι δυναμικοευαίσθητοι L-διαύλοι. Ως γνωστόν, η  $\alpha_1$ -υπομονάδα του διαύλου αποτελεί και την κυρίαρχη δομική και λειτουργική μονάδα του διαύλου. Αποτελείται, όπως ήδη έχει περιγραφεί, από 4 μοτίβα (I,II,III,IV), καθένα από τα οποία συνίσταται από 6 τμήματα (S1,S2,S3,S4,S5,S6). Το τμήμα S6 αποτελεί το κυριότερο σημείο σύνδεσης των αποκλειστών των διαύλων.

Υπάρχει, επίσης, μια δομική και αμοιβαία σχέση μεταξύ της  $\beta$ -υπομονάδας των δυναμικοευαίσθητων διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  και των φαρμάκων που αναστέλλουν την είσοδο του  $\text{Ca}^{2+}$  ως προς τους αναπτυσσόμενους μηχανισμούς που θα οδηγήσουν στην αδρανοποίηση των διαύλων αυτών. Η σχέση αυτή προσδιορίζει την ευαισθησία των εσωτερικών μηχανισμών αδρανοποίησης σε σχέση με τα φάρμακα που δρουν ως αποκλειστές. Ισόμορφα όπως η  $\beta_{1b}$ -υπομονάδα επιταχύνουν την αδρανοποίηση του διαύλου, ενώ άλλα όπως η  $\beta_{1a}$ -υπομονάδα δρουν ανασταλτικά. Οι συνδέσεις της  $\beta$ -υπομονάδας με την  $\alpha_1$ -υπομονάδα σε θέσεις όπως η ενδοκυττάρια αγκύλη μεταξύ των μοτίβων I και II ή τα N και

C-πέρατα της α1-υπομονάδας αποτελούν σημεία που καθορίζουν τη συμπεριφορά του διαύλου ως προς την αδρανοποίηση. Όσο ταχύτερα επέρχεται η αδρανοποίηση, τόσο πιο αποτελεσματικά είναι τα φάρμακα αυτά, ανεξάρτητα από τους μετασχηματισμούς της α1-υπομονάδας. Δεν είναι γνωστοί όλοι οι επιμέρους μηχανισμοί και γι' αυτό προτείνονται διάφορα μοντέλα (25).

Οι φαινυλακυλαμίνες παρουσιάζουν μεγάλη συγγένεια με την α1-υπομονάδα των L-διαύλων του ασβεστίου. Αποκλείουν ταχύτερα τους διαύλους αυτούς, όταν οι τελευταίοι είναι ανοικτοί, γιατί το σημείο σύνδεσής τους ευρίσκεται στην ενδοκυττάρια πλευρά του διαύλου. Η βεραπαμίλη, που επιπλέον έχει ενέργειες α<sub>1</sub>-αδρενεργικού αποκλειστή, είναι ο κυριότερος εκπρόσωπος της κατηγορίας αυτής.

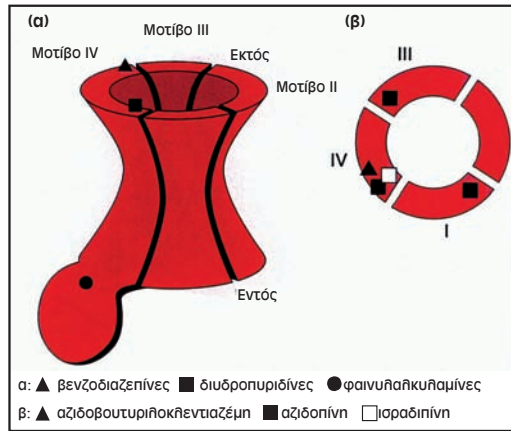
Κυριότερος εκπρόσωπος των βενζοδιαζεπινών είναι η διλτιαζέμη. Το σημείο σύνδεσής της στο δίαυλο ευρίσκεται κοντά στο αντίστοιχο της βεραπαμίλης και μακριά από εκείνο των διυδροπυριδινών.

Οι διυδροπυριδίνες ενώνονται με τον υποδοχέα τους στην εξωκυττάρια επιφάνεια του διαύλου. Η πρώτη γενιά των παραγώγων αυτών αποτελείται από φάρμακα χωρίς ιδιαίτερη εκλεκτικότητα, όπως η νιφεδιπίνη. Η δεύτερη γενιά απαρτίζεται από φάρμακα με αυξημένη αγγειοεκλεκτικότητα, όπως η ισραδιπίνη και η φελοδιπίνη. Η τρίτη γενιά, πέραν της αγγειοεκλεκτικότητας, παρουσιάζει και μακρά παραμονή στην περιοχή των υποδοχέων που κλινικά μεταφράζεται σε παρατεταμένη δράση. Η λασιδιπίνη είναι ένας από τους εκπροσώπους της γενιάς αυτής.

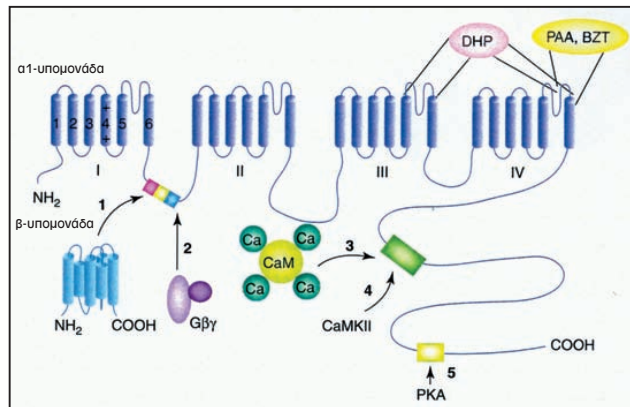
Έχει διαπιστωθεί ότι η βραχυχρόνια θεραπεία με διυδροπυριδίνες που δρουν ως αποκλειστές των L-διαύλων του Ca<sup>2+</sup> οδηγεί στην αύξηση της παραγωγής του NO από το ενδοθήλιο. Ο μηχανισμός αυτός δεν σχετίζεται με τον αποκλεισμό των διαύλων του συγκεκριμένου ιόντος, δεδομένου, μάλιστα, ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα δεν διαθέτουν αυτούς τους διαύλους, αλλά μάλλον οφείλεται σε αντιοξειδωτική δράση. Η *in vitro* φαρμακολογική έρευνα έχει δείξει ότι τα φάρμακα αυτά δρουν ως εξουδετερωτές των οξειδωτικών ριζών. Η προκαλούμενη αύξηση του NO συμβάλλει στις αγγειοδιασταλτικές δράσεις των φαρμάκων αυτών αλλά και στις αντιθρομβωτικές, αντιμιτωτικές και αντιαθηρωματικές τους ιδιότητες (42,56).

Δεν θα πρέπει να λησμονείται ότι φάρμακα όπως το ψυχοτρόπο χλωροπρομαζίνη καταλαμβάνουν τις θέσεις σύνδεσης της καλμοδουλίνης με το Ca<sup>2+</sup>. Για το λόγο αυτό οι ασθενείς που τα λαμβάνουν παρουσιάζουν ελαττωμένο αγγειακό τόνο, που εκδηλώνεται με ορθοστατική υπόταση.

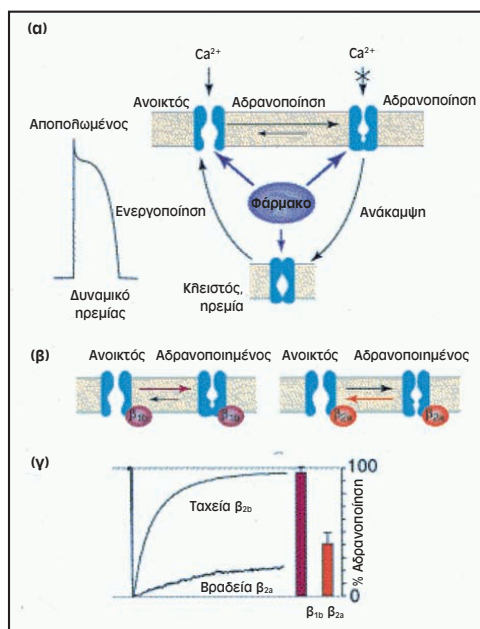
Όσον αφορά τον ερευνητικό τομέα, θεωρείται σκόπιμο να γίνει στο παρόν κεφάλαιο μνεία στις Rho κινάσες. Η αυξημένη σύσπαση ή η μη φυσιολογική σύσπαση του αγγειακού τοιχώματος αποτελεί μείζονα παράγοντα διαφόρων παθήσεων του καρδιαγγειακού συστήματος, όπως είναι η αρτηριακή υπέρτα-



**Εικόνα 5.41: Θέσεις υψηλής συγγένειας των φαρμάκων αποκλειστών του δυναμικοευαίσθητου διαύλου του  $Ca^{2+}$ .** Σήμανση στην  $\alpha 1$ -υπομονάδα των θέσεων υψηλής συγγένειας των φαρμάκων αποκλειστών της εισόδου του  $Ca^{2+}$ . *Trends Pharmacol. Sci. 16, 1995*



**Εικόνα 5.42: Αλληλεπιδράσεις των υπομονάδων των διαύλων του  $Ca^{2+}$  και θέσεις σύνδεσης των φαρμάκων αποκλειστών των διαύλων αυτών.** Αναπαριστώνται οι αλληλεπιδράσεις των υπομονάδων αυτών τόσο μεταξύ τους όσο και με ενδοκυττάρειες σηματοδοτικές οδούς. Ειδικότερα στις λείες μυϊκές ίνες, η ενεργοποίηση της κινάσης CaMKII προκαλεί τη φωσφορυλίωση των L-διαύλων με αποτέλεσμα τη συχνή και μακρά διάνοξη των διαύλων αυτών. Στις καρδιακές μυϊκές ίνες, η φωσφορυλίωση του καρβοξυλικού (COOH) -πέρατος στην  $\alpha 1$ -υπομονάδα από την κινάση PKA, που ενεργοποιείται από τη διέγερση των  $\beta$ -αδρενεργικών υποδοχέων, προκαλεί την αθρόα είσοδο  $Ca^{2+}$ . Καταγράφονται, επίσης, οι θέσεις σύνδεσης των αποκλειστών των διαύλων του  $Ca^{2+}$ . Όπου CaM: Καλμοδουλίνη, CaMKII: Κινάση εξαρτώμενη από το σύμπλοκο " $Ca^{2+}$ -καλμοδουλίνη", Gβγ: Σύμπλοκο βγ της G-πρωτεΐνης, DHP: Διυδροπυριδίνες, PAA: Φαινυλαλκυλαμίνες, BZT: Βενζοδιαζεπίνες. *Trends Pharmacol. Sci. 22, 2001*

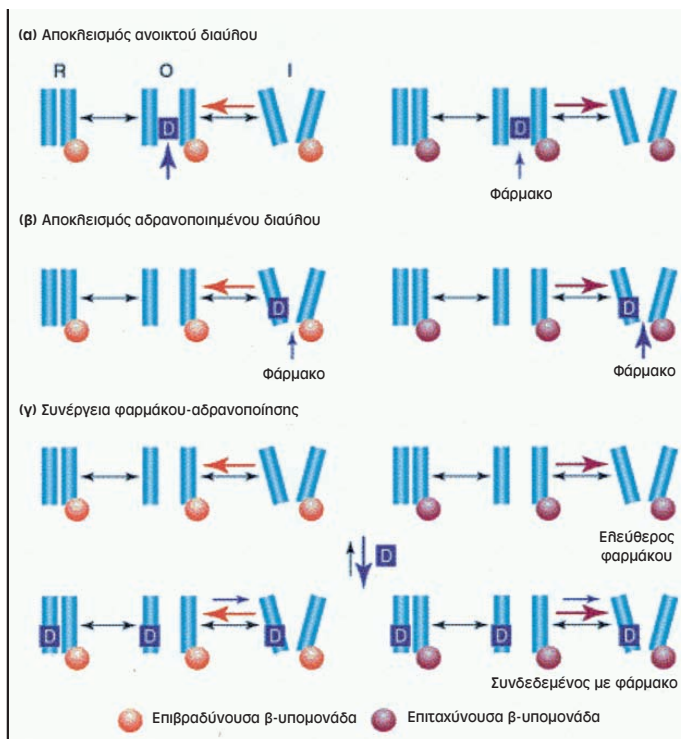


**Εικόνα 5.43: Μετασηματισμοί των δυναμικοευαίσθητων διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  κατά τη διαδρομή του δυναμικού δράσης και φαρμακολογικός αποκλεισμός.** (α) Κατά τη διαδρομή του δυναμικού δράσης, οι διάυλοι αυτοί πρώτα ανοίγουν (ενεργοποίηση) και στη συνέχεια κλείνουν (απενεργοποίηση) λόγω μετασηματισμών του μορίου τους. Όταν το δυναμικό δράσης επιστρέψει στη φάση ηρεμίας, οι διάυλοι ανακάμπτουν και μεταπίπτουν σε μια νέα κατάσταση ηρεμίας, πλην όμως εξακολουθούν να παραμένουν κλειστοί. Τα φάρμακα που δρουν ως αποκλειστές των διαύλων αυτών παρουσιάζουν αυξημένη συγγένεια προς τις ανοικτές και αδρανοποιημένες καταστάσεις των διαύλων αυτών. (β) Διαφορετικές  $\beta$ -υπομονάδες επηρεάζουν διαφορετικά τις μετατροπές των διαύλων αυτών από την ανοικτή στην αδρανοποιημένη μορφή. Η  $\beta_{1b}$ -υπομονάδα επιταχύνει την αδρανοποίηση του διαύλου (κόκκινο βέλος), ενώ η  $\beta_{1a}$ -υπομονάδα δρα ανασταλτικά προάγοντας τη μετάπτωσή του στην ανοικτή μορφή (πορτοκαλί βέλος). (γ) Ιστογράμμο που καταδεικνύει τις διαφορές μεταξύ των  $\beta_{1b}$ -υπομονάδων και  $\beta_{1a}$ -υπομονάδων ως προς την αδρανοποίηση των διαύλων.

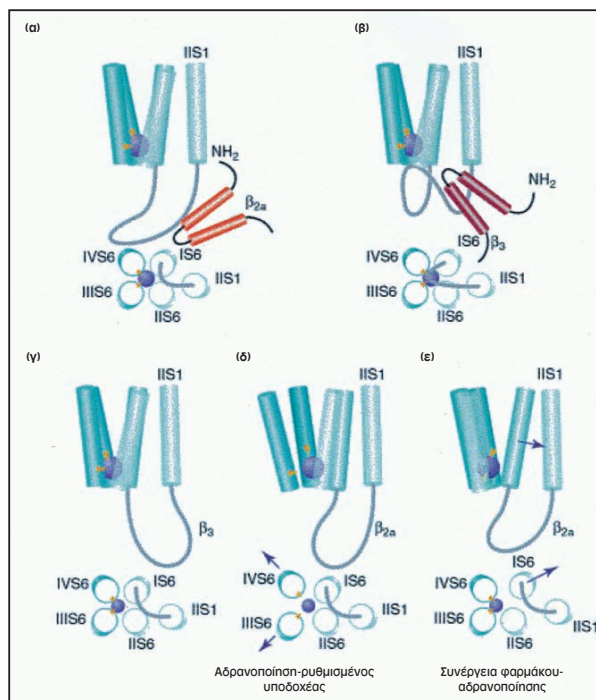
*Trends Pharmacol. Sci. 23,2002*

ση και η σπασμογενής στηθάγχη. Έχει διαπιστωθεί ότι πολλές ενδογενείς ουσίες οι οποίες συσπών τις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος, όπως η σεροτονίνη, η αγγειοτασίνη II, η ενδοθηλίνη-1, η ισταμίνη, η βαζοπρεσίνη και η θρομβοξάνη, πραγματοποιούν αυτή τη δράση όχι μόνο μέσω της βιοχημικής οδού του  $\text{Ca}^{2+}$  αλλά και μέσω της βιοχημικής οδού των Rho-Rho κινασών, καθώς οι υποδοχείς τους συνδέονται και με την G12/13-πρωτεΐνη (40).

Επίσης, οι κινάσες αυτές έχουν και άλλες δράσεις, όπως η μετανάστευση και η είσοδος των μονοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα και η μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών στην υπενδοθηλιακή στιβάδα, καθώς και η δημιουργία τοπικών προσκολλήσεων.



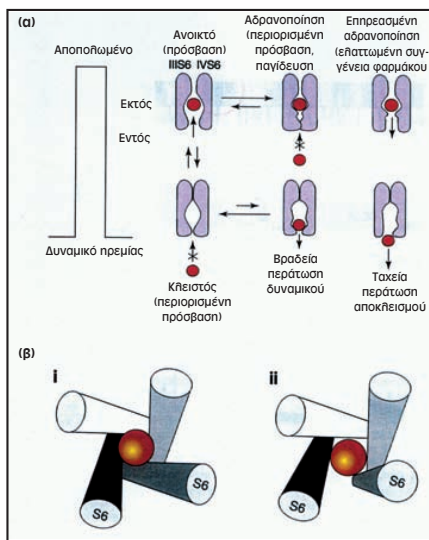
**Εικόνα 5.44: Μοντέλα συμμετοχής της β-υπομονάδας στους μηχανισμούς αδρανοποίησης των διαύλων του  $Ca^{2+}$  και στην ευαισθησία στα φάρμακα αποκλειστές.** Κατά τη διαδρομή του δυναμικού δράσης, οι διαύλοι κινούνται από την κατάσταση ηρεμίας (R) στην ανοικτή (O) και στη συνέχεια στην αδρανοποιημένη (I) μορφή. (α: Μοντέλο αποκλεισμού του ανοικτού διαύλου). Πρόκειται για τη φάση κατά την οποία το φάρμακο (D) αποκλείει το διάλυλο, ενώ αυτός είναι ανοικτός. Η παρουσία επιβραδυντικής β-υπομονάδας στο μόριο του διαύλου αυξάνει τον αριθμό των ανοικτών (R) διαύλων (πορτοκαλί βέλος) που θα είναι προσιτοί στο φάρμακο και ως εκ τούτου αυξάνει και την ευαισθησία στο φάρμακο αυτό (μωβ βέλος αριστερά) σε σχέση με τους διαύλους που έχουν επιταχυντική β-υπομονάδα (μωβ βέλος δεξιά). (β: Μοντέλο υψηλής συγγένειας με τον αδρανοποιηθέντα διάλυλο). Τα φάρμακα αποκλειστές παρουσιάζουν υψηλού βαθμού τάση σύνδεσης με τους αδρανοποιηθέντες διαύλους. Η παρουσία επιταχυντικής β-υπομονάδας στο μόριο του διαύλου αυξάνει τον αριθμό των αδρανοποιημένων (I) διαύλων (δεξιά, κόκκινο βέλος), γεγονός που θα πρέπει να ευνοεί τον αποκλεισμό τους (μωβ βέλος). Το αντίθετο συμβαίνει όταν στο μόριο του διαύλου υπάρχει επιβραδυντική β-υπομονάδα (αριστερά, πορτοκαλί βέλος). (γ: Αδρανοποίηση από φάρμακα. Μοντέλο συνέργειας). Τα φάρμακα (D) συνδέονται με το διάλυλο ανεξάρτητα από την κατάσταση στην οποία ευρίσκεται (κάθετο μωβ βέλος) και προάγουν την αδρανοποίησή τους (οριζόντια μωβ βέλη). Η επιτάχυνση του αποκλεισμού είναι αποτέλεσμα της συνέργειας του φαρμάκου με την υπάρχουσα στο διάλυλο επιταχυντική β-υπομονάδα (δεξιά, κόκκινο βέλος), ενώ ο αποκλεισμός βαίνει με βραδύτητα, όταν στο διάλυλο υπάρχει επιβραδυντική β-υπομονάδα (αριστερά, πορτοκαλί βέλος).  
Trends Pharmacol. Sci. 23,2002



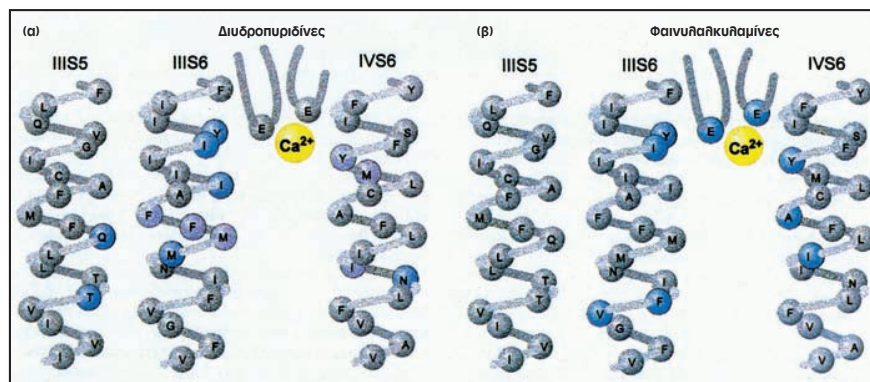
**Εικόνα 5.45: Μοντέλα συμμετοχής της β-υπομονάδας στους μηχανισμούς αδρανοποίησης των διαύλων του  $Ca^{2+}$  από τα φάρμακα αποκλειστές.** Πλάγια και εκ του κυτταροπλάσματος όψη του αυλού του διαύλου και του συνδεδεμένου με αυτόν φαρμάκου (μωβ σφαίρα). Καταγράφονται οι πιθανές θέσεις που καθορίζουν το σημείο σύνδεσης του φαρμάκου (κίτρινα τρίγωνα) στα διαμεμβρανικά τμήματα IIIS6 και IVS6 των αντίστοιχων μοτίβων του διαύλου. **(α και β) Μοντέλο κάλυψης της άρθρωσης (hinge lid) για την αδρανοποίηση του διαύλου.** Το μόριο του φαρμάκου παγιδεύεται στον αυλό από μέρος του συνδέσμου μεταξύ των μοτίβων I και II που ρυθμίζεται από τη β-υπομονάδα. Οι επιταχυντικές β<sub>1</sub> και β<sub>3</sub> υπομονάδες παγιδεύουν το φάρμακο πιο αποτελεσματικά σε σχέση με την επιβραδυντική β<sub>2a</sub> υπομονάδα. **(γ) Μοντέλο αδρανοποίησης του διαύλου που βασίζεται στις αλληλεπιδράσεις του διαμεμβρανικού τμήματος S6.** Οι μετασχηματισμοί μεταξύ των διαμεμβρανικών τμημάτων S6 των επιμέρους μοτίβων που σχηματίζουν τον αυλό και των πέριξ τμημάτων του αυλού-πόρου κατά την εξέλιξη της αποπόλωσης οδηγούν σε στένωμα του αυλού στο κάτω μέρος και στο κλείσιμο του διαύλου. **(γ έως δ) Τροποποίηση της αγκύλης.** Η τροποποίηση αυτή μεταξύ των μοτίβων I και II από τη β-υπομονάδα μπορεί να επηρεάζει το μετασχηματισμό του διαμεμβρανικού τμήματος S6. Οι επερχόμενες μεταβολές στην αδρανοποίηση των διαύλων μπορεί να αλλάζουν άμεσα την τοποθεσία των καθοριστικών της δέσμευσης του φαρμάκου παραμέτρων μεταβάλλοντας τη συγγένεια των φαρμάκων. **(ε) Εναλλακτικές περιπτώσεις.** Εναλλακτικά, οι θέσεις σύνδεσης μπορεί να μην επηρεασθούν. Στην περίπτωση αυτή, η επιτάχυνση του αποκλεισμού μπορεί να είναι το αποτέλεσμα συνέργειας μεταξύ των μετασχηματισμών που προάγουν το φάρμακο και η β-υπομονάδα και που οδηγούν το διάυλο σε βαθιά κατάσταση αδρανοποίησης. Η συνύπαρξη επιβραδυντικών β-υπομονάδων ελαττώνει το βαθμό αδρανοποίησης του διαύλου και το βαθμό αποκλεισμού από το φάρμακο. Υπενθυμίζεται ότι η α1-υπομονάδα του διαύλου αποτελείται από 4 μοτίβα (I,II,III,IV) που το καθένα από αυτά αποτελείται από 6 τμήματα (S1, S2,S3,S4,S5,S6).

*Trends Pharmacol. Sci.* 23,2002



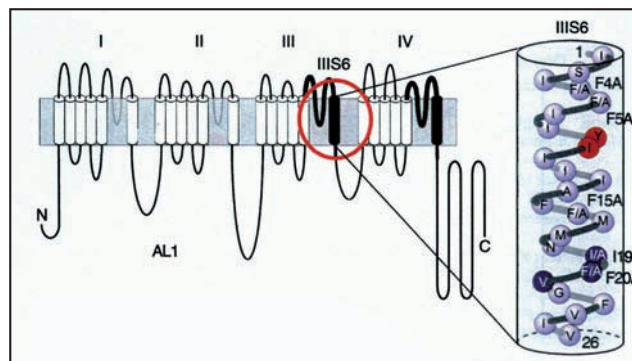


**Εικόνα 5.46: Μοντέλο που παρουσιάζει τις διάφορες φάσεις αλληλεπίδρασης των φαρμάκων αποκλειστών των διαύλων του  $Ca^{2+}$  με τους διαύλους αυτούς. (α)** Η πρόσβαση του μορίου των φαινολκαλκαμινών (κόκκινο) προς τα σημεία σύνδεσης επί των διαύλων είναι περιορισμένη κατά τη φάση ηρεμίας. Με την αποπόλωση του κυττάρου, απομακρύνονται οι μηχανισμοί ανάσχεσης και τα φάρμακα αυτά εισέρχονται από την κυτταροπλασματική πλευρά του διαύλου. Στη συνέχεια, συνδέονται με τα παραπάνω αναφερθέντα σημεία του διαύλου. Όταν η αδρανοποίηση του διαύλου είναι ανεπηρέαστη από άλλους μηχανισμούς ή από αίτια μετάλλαξης, τότε ο αποκλεισμός είναι αποτελεσματικότερος γιατί τα φάρμακα αυτά παγιδεύονται μέσα στον πόρο και η άρση του αποκλεισμού είναι βραδεία. Όταν άλλοι μηχανισμοί ή μεταλλάξεις επηρεάζουν την αδρανοποίηση του πόρου, τότε εμφανίζεται ελαττωμένη συγγένεια προς τα φάρμακα αυτά και η άρση του αποκλεισμού είναι ταχεία. Άλλοι αποκλειστές όπως οι βενζοδιαζεπίνες και οι διυδροπυριδίνες φθάνουν μέχρι τα σημεία σύνδεσης του διαύλου από τον εξωκυττάριο χώρο, χωρίς να διέλθουν δια του αυλού του διαύλου. Οι διυδροπυριδίνες μπορούν και αντιδρούν και με τους αδρανοποιημένους διαύλους. (β) Αναπαράσταση του πόρου που σχηματίζεται από τα τέσσερα S6 τμήματα της  $\alpha 1$ -υπομονάδας του διαύλου και του μορίου του φαρμάκου (κόκκινο) που είναι παγιδευμένο στον πόρο του διαύλου (i) και η αντίστοιχη θέση του σε έναν διασπασμένο δίαυλο λόγω μεταλλάξεων που αφορούν το S6 τμήμα (ii). Υπενθυμίζεται ότι η  $\alpha 1$ -υπομονάδα του διαύλου αποτελείται από 4 μοτίβα (I,II,III,IV) που το καθένα από αυτά αποτελείται από 6 τμήματα (S1, S2,S3,S4,S5,S6). *Trends Pharmacol. Sci* 19,1998



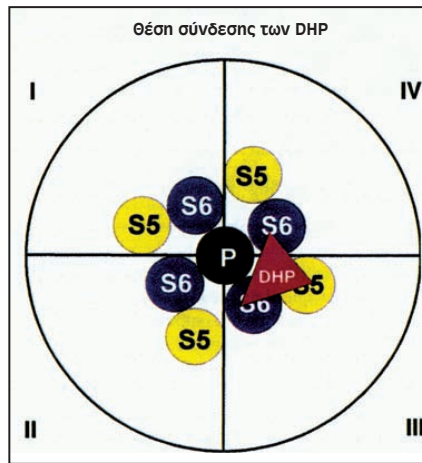
Εικόνα 5.47: Σχεδιάγραμμα μοντέλου συμμετοχής των υπολοίπων των αμινοξέων των διαμεμβρανικών τμημάτων IIIIS5 IIIIS6 και IVS6 της  $\alpha 1$ -υπομονάδας στη σύνδεση με τα φάρμακα αποκλειστές διυδροπυριδίνες (DHP) και φαινυλαλκυλαμίνες (PAA) στον L-διάλυτο του  $\text{Ca}^{2+}$  των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. (α) Η αλληλουχία α1c των αμινοξέων αναπαριστάται με απλό γραμματικό κώδικα. Μεταλλάξεις στο επίπεδο ορισμένων αμινοξέων (μπλε) ελαττώνουν στο πενταπλάσιο τη συγγένεια προς τις DHP. Οι σταθερές επαναλήψεις του γλουταμινικού οξέος στα τμήματα III και IV συμβάλλουν στη σύσταση ισχυρών θέσεων σύνδεσης με το  $\text{Ca}^{2+}$ , όπως αναπαριστάται και στην εικόνα. (β) Τα υπόλοιπα των αμινοξέων που συμμετέχουν στη σύνδεση των PAA είναι μπλε χρωματισμένα. Στο τμήμα IVS6, τα ίδια υπόλοιπα αμινοξέων συμμετέχουν στη σύνδεση των βενζοδιαζεπινών. Υπενθυμίζεται ότι η  $\alpha 1$ -υπομονάδα του διαύλου αποτελείται από 4 μοτίβα (I,II,III,IV) που το καθένα από αυτά αποτελείται από 6 τμήματα (S1, S2,S3,S4,S5,S6).

*Trends Pharmacol. Sci 19,1998*



Εικόνα 5.48: Πειραματικό μοντέλο που αναπαριστά το ρόλο των παραγόντων που ρυθμίζουν την αδρανοποίηση των διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  από τις φαινυλαλκυλαμίνες. Οι παράγοντες αυτοί ευρίσκονται στο τμήμα S6 του μοτίβου III της  $\alpha 1$ -υπομονάδας του διαύλου. Τα τμήματα S6 που κείνται προς την πλευρά του πόρου περιέχουν αμινοξέα που σχετίζονται με την αδρανοποίηση του διαύλου και προσδιορίζουν τις θέσεις σύνδεσης των φαρμάκων αποκλειστών των διαύλων αυτών. Απεικονίζονται τα αμινοξέα που έχουν ρόλο στην αδρανοποίηση του διαύλου (βαθύ μπλε).

*Trends Pharmacol. Sci 19,1998*



**Εικόνα 5.49:** Πιθανή αναδιάταξη περίξ του πόρου του διαύλου του  $\text{Ca}^{2+}$  των διαμεμβρανικών ελίκων που εμπλέκονται στη σύνδεση με τις διυδροπυριδίνες. Καταγράφονται σε εγκάρσια διατομή τα 4 μοτίβα (I,II,III,IV) που αποτελούν το μόριο της  $\alpha 1$ -υπομονάδας του διαύλου και η αναδιάταξη των τμημάτων S5 και S6 του κάθε μοτίβου. Η αναδιάταξη αυτή δημιουργεί έναν τομέα υψηλής συγγένειας προς τα φάρμακα αυτά.

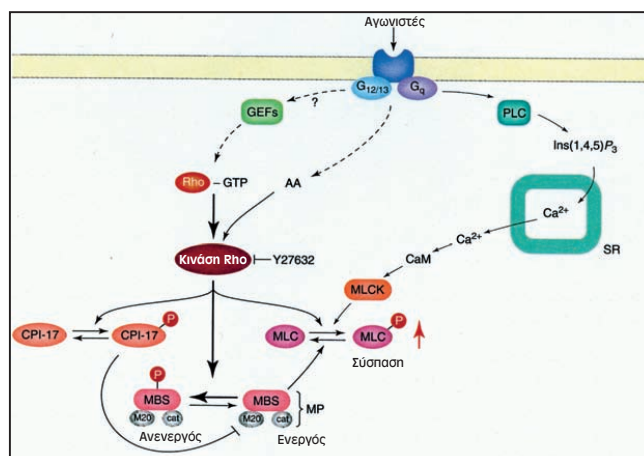
*Trends Pharmacol. Sci 19,1998*

Ως εκ τούτου, η βιοχημική οδός των Rho-κινασών αποτελεί σήμερα στόχο για μελλοντικές ανασταλτικές ή τροποποιητικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις σε καταστάσεις όπως είναι η αρτηριοσκλήρωση, η υπέρταση και η σπασμογενής στηθάγχη. Δυνητικοί στόχοι είναι οι υποδοχείς όπου μελετάται η δράση διαφόρων αποκλειστών, η ενεργοποίηση των RhoA-πρωτεϊνών GTP με προσπάθειες να υδρολυθεί προς GDP, η ενίσχυση του αδρανούς συμπλόκου "RhoA-RhoGDI" και η αδρανοποίηση των Rho-κινασών. Θα πρέπει, όμως, πρώτα να διερευνηθούν ερωτήματα όπως πώς επηρεάζεται ο βιοχημικός αυτός δρόμος από εξωκυττάρια ερεθίσματα, τι μεταβολές παρουσιάζει από τις αναφερθείσες παθήσεις και το κατά πόσο τα ευρήματα στα πειραματόζωα αντιστοιχούν και στον άνθρωπο (40,42).

### **Φαρμακολογικές παρεμβάσεις στο επίπεδο των διαύλων του καλίου**

Συνοψίζοντας όσα εξετάθησαν, επισημαίνεται ότι οι διαύλοι του  $\text{K}^+$  έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής λειτουργίας και αποτελούν, όπως ήδη αναφέρθηκε, την πλέον ετερογενή ομάδα ιοντικών διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης. Φάρμακα τα οποία τροποποιούν τη δραστηριότητα των διαφόρων  $\text{K}^+$ -διαύλων είναι δυνητικά χρήσιμα για την αντιμετώπιση διαφόρων παθήσεων όπως η υπέρταση, οι διάφορες αρρυθμίες και οι διαταραχές της λειτουργίας των λείων μυϊκών ινών (60-62).

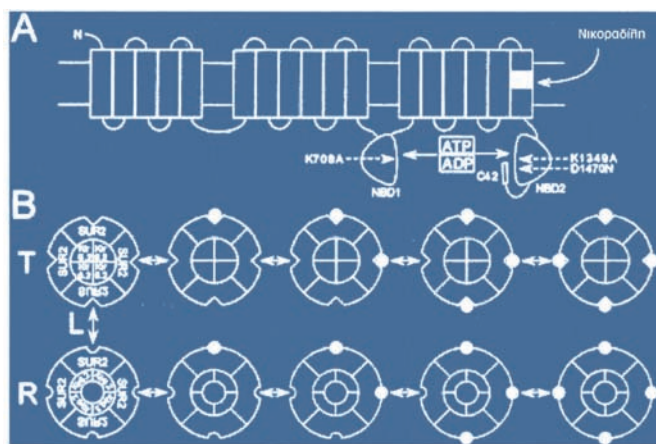
Το άνοιγμα των διαύλων αυτών έχει ως αποτέλεσμα την περαιτέρω αρνη-



**Εικόνα 5.50: Μηχανισμός σύσπασης των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος και ο ενισχυτικός ρόλος του βιοχημικού δρόμου των Rho-κινάσων. Φαρμακολογικοί στόχοι.** Η διέγερση από τον αγωνιστή του επταδιαμεμβρανικού υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη ακολουθεί τρεις βιοχημικούς δρόμους. Ο πρώτος έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μέσω της Gq πρωτεΐνης του ενζυμικού συστήματος της PLC (Phospholipase C). Ένα από τα τελικά προϊόντα της ενεργοποίησης του συστήματος αυτού είναι η Ins (1,4,5) P<sub>3</sub> (Inositol 1,4,5 Triphosphate: Τριφωσφορική ινοσιτόλη). Ο δεύτερος αυτός αγγελιαφόρος διεγείρει τους ομώνυμους υποδοχείς-διεύλους στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου και προάγει την απελευθέρωση του Ca<sup>2+</sup>. Η σύνδεση των Ca<sup>2+</sup> με την καλμοδουλίνη (CaM) κινητοποιεί την κίνηση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase), η οποία φωσφορυλιώνει την ελαφρά αλυσού της μυοσίνης (MLC: Myosin Light Chain). Ακολουθεί η ένωση της μυοσίνης με την ακτίνη και η μυϊκή σύσπαση. Ο δεύτερος βιοχημικός δρόμος από τη διέγερση του ίδιου επταδιαμεμβρανικού υποδοχέα ενεργοποιεί μέσω της G<sub>12/13</sub>-πρωτεΐνης τους GEFs (Guanine Exchange Factors: Παράγοντες ανταλλαγής της γουανοσίνης) οι οποίοι, με τη σειρά τους, ενεργοποιούν τη Rho-GTPάση. Το αποτέλεσμα είναι η ενεργοποίηση της Rho κινάσης. Ο τρίτος βιοχημικός δρόμος από τη διέγερση του επταδιαμεμβρανικού υποδοχέα οδηγεί πάλι στην ενεργοποίηση της Rho κινάσης μέσω του αραχιδονικού οξέος (AA). Η ενεργοποιηθείσα πλέον Rho-κινάση φωσφορυλιώνει την ελαφρά αλυσού της μυοσίνης (MLC) στην υπομονάδα MBS (Myosin Binding Subunit) επιτείνοντας την ενεργοποίηση της τελευταίας. Παράλληλα, φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί τον CPI-17 ο οποίος είναι αναστολέας της δράσης της φωσφατάσης της μυοσίνης. Με τον τρόπο αυτό δεν αποφωσφορυλιώνεται η ελαφρά αλυσού της μυοσίνης από τη φωσφατάση και επιτείνεται η μυϊκή σύσπαση. Οι βιοχημικοί αυτοί δρόμοι παρουσιάζουν μοριακούς στόχους για φαρμακολογικές παρεμβάσεις (βλέπε κείμενο).

*Trends Pharmacol. Sci. 22:32-39,2001*

τικοποίηση του δυναμικού του εσωτερικού της κυτταρικής μεμβράνης και την υπερπόλωση. Φάρμακα που δρουν ως ευοδωτές των διαύλων του K<sup>+</sup> προκαλούν υπερπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης και αδρανοποιούν το κύτταρο. Η ενέργεια αυτή οδηγεί σε χάλαση των λείων μυϊκών ινών και σε δυνατότητα χρησιμοποίησης των ουσιών αυτών ως αγγειοδιασταλτικών και βρογχοδιασταλτικών φαρμάκων. Ευοδωτές των K<sup>+</sup>- διαύλων, όπως η χρομαλίνη, η πιτασιδίλη και η νικορανδίλη, έχουν προταθεί ως άμεσα αγγειοδιασταλτικά φάρμακα



**Εικόνα 5.51: Αλλοστερικό μοντέλλο των SUR2 διαύλων  $K_{ATP}$  και θέση δράσης της νικορανδίου (A) Ο διάυλος σε επιμήκη διατομή.** Οι άνω και κάτω γραμμές παριστάνουν τα όρια της κυτταρικής μεμβράνης. Ο διάυλος SUR2 έχει 17 διαμεμβρανικά τμήματα, ένα NBDI-1 (Nucleotide Binding Domain: Σημείο σύνδεσης των νουκλεοτιδίων) μεταξύ των 11 και 12 διαμεμβρανικών τμημάτων και ένα NBDI-2 στο C-πέρας του μορίου, ενώ ο υποδοχέας της νικορανδίου ευρίσκεται στο 17<sup>ο</sup> διαμεμβρανικό τμήμα. Οι NBDI-1 και NBDI-2 χρησιμεύουν ως υποδοχείς των ενδοκυττάρων ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη) και ADP (Adenosine Diphosphate: Διφωσφορική αδενοσίνη). Εξ αυτών, το NBDI-2 έχει ισχυρότερη ενεργότητα ATPάσης. Αναπαριστώνται επίσης οι θέσεις μεταλλάξεων K708A, K1349A, D1470N. **(B) Ο ίδιος διάυλος σε εγκάρσια διατομή.** Διακρίνεται η ετεροοκταμερής δομή του διαύλου που αποτελείται από 4 SUR2 και 4 Kir6.2. Αναπαριστώνται και οι δύο σειρές μετασηματισμένων στερεοχημικών μορφών, η ενεργός (R) και η ανενεργός (T), η οποία αδυνατεί να ανοίξει τον πόρο του διαύλου. Υπάρχει μια δυναμική ισορροπία μεταξύ των δύο μορφών. Κάθε SUR2 έχει έναν υποδοχέα (εσοχή) για τον προσδέτη (●). Ο προσδέτης ο οποίος έχει μεγαλύτερη συγγένεια προς τις (R) μορφές, στρέφει την ισορροπία αυτή προς την (R) μορφή. Το L παριστάνει τη σχέση των συγκεντρώσεων των (R) προς τις (T) εν απουσία οιοδήποτε προσδέτη.

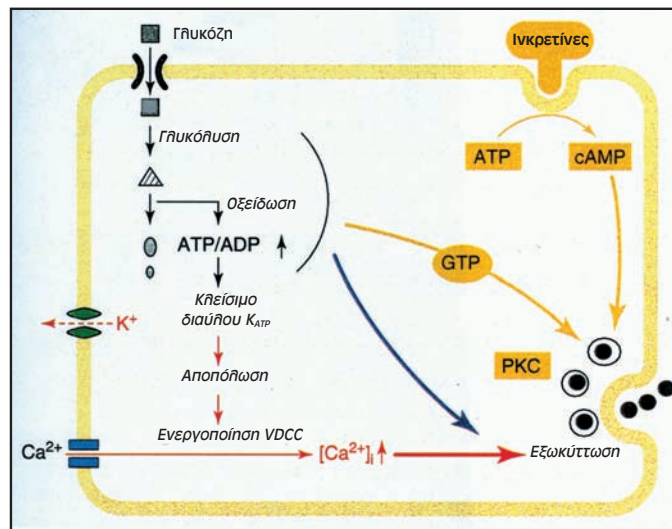
*Yamada M.: Mol. Pharmacol., 2004*

για τη θεραπεία της αγγειοσπαστικής και της χρόνιας σταθερής στηθάγχης. Η νικορανδίου, μάλιστα, αυξάνει και τα επίπεδα της cGMP όπως και τα νιτρώδη (7, 51).

Αντίθετα, το κλείσιμο των διαύλων αυτών έχει ως αποτέλεσμα την προς το θετικό πορεία του δυναμικού του εσωτερικού της κυτταρικής μεμβράνης και την αποπόλωση. Φάρμακα που δρουν ως αποκλειστές των διαύλων αυτών προκαλούν αποπόλωση και διεγείρουν το κύτταρο. Τα παράγωγα της σουλφονουρίας αποκλείουν τους  $K_{ATP}$ -διαύλους και θετικοποιούν το εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτό οδηγεί σε αποπόλωση και είσοδο των  $Ca^{2+}$  από τον εξωκυττάριο χώρο και διέγερση της έκκρισης της ινσουλίνης. Με το μηχανισμό αυτό προάγουν τη λειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος και δρουν ως υπογλυκαιμικά φάρμακα στον μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη (7,61,62).

Οι υποδοχείς των παραγών της σουλφονουλουρίας είναι μέλη της υπερκογένειας των ABC (ATP-binding cassette), δηλαδή των ενδογενών μορίων που συνδέονται με την ATP. Τα μόρια αυτά συνυπάρχουν σε ετερο-οκταμερές σύμπλοκο με τους  $K_{ATP}$ -διαύλους. Το σύμπλεγμα αυτό επιτρέπει την ταχεία μετατροπή των μεταβολικών σημάτων σε μεταβολές του δυναμικού της μεμβράνης (63).

Ο αποκλεισμός των  $K_{ATP}$  διαύλων από τις σουλφονουλουρίες μπορεί να προσέφερε τα μέγιστα στην αντιμετώπιση της ισσουλινικής ανεπάρκειας, ωστόσο η μη εκλεκτικότητα των ουσιών αυτών οδήγησε στον αποκλεισμό και των  $K_{ATP}$ -διαύλων στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος αυξάνοντας τον τόνο. Ιδιαίτερα στο ισχαιμικό μυοκάρδιο ανταγωνίζονται τους προαναφερθέντες μηχανισμούς ισχαιμικού εγκλιματισμού (preconditioning) με δυσμενείς επιπτώσεις. Η δεύτερη γενιά των σουλφονουλουριών φαίνεται να έχει μεγαλύτερη εκλεκτικότητα προς τα  $\beta$ -κύτταρα του παγκρέατος και, ως εκ τούτου, καλύτερη συμπεριφορά.



**Εικόνα 5.52: Μηχανισμός αποκλεισμού των  $K_{ATP}$ -διαύλων των  $\beta$ -κυττάρων στο πάγκρεας.** Ο αποκλεισμός των διαύλων αυτών θετικοποιεί το εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης και προάγει την αποπόλωση του κυττάρου και τη διέγερση του μηχανισμού εξωκύττωσης της ινσουλίνης. Φάρμακα όπως οι σουλφονουλουρίες αποκλείουν αυτούς τους διαύλους του  $K^+$ . Η μη εκλεκτικότητα της πρώτης γενιάς των σουλφονουλουριών προκάλεσε καρδιαγγειακά προβλήματα λόγω αποκλεισμού και των αντίστοιχων  $K_{ATP}$ -διαύλων στα αγγεία και την καρδιά.

*Trends Pharmacol. Sci 19, 1998*

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Pobuko D., Kuo K., Dai J., Lee C., vanBreemen C.: Organellar junctions promote targeted  $Ca^{2+}$  signaling in smooth muscle. Why two membranes are better than one. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:8-15,2004
2. Rizzuto R., Pozzan T., Carafoli E.:  $Ca^{2+}$  on the move. Ways and means to translate a multifarious signal. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:348-350,2002
3. Genazzani A., Billington R.: NAADP. An atypical  $Ca^{2+}$  release messenger? *Trends Pharmacol. Sci.* 23:165-167,2002
4. Μισσοπούλου - Κόκκα Α.: Διακίνηση των ιόντων του ασβεστίου διά των δυναμικοευαίσθητων διαύλων στην κυτταρική μεμβράνη των λείων μυικών ινών. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 13: 129-133,1995
5. Berridge M.: Le calcium, un deuxième messenger universel. *Triangle* 26: 71-82,1986
6. Hurwitz L., Fitzpatrick D.: Localization of calcium pump activity in smooth muscles. *Science* 179: 354-355,1973
7. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 2003
8. Chuang T., Iacovelli L., Sallèse M. and Blasi A.: G - protein coupled receptors. Heterologous regulation of homologous desensitization and its implications. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:416-421,1996
9. Κόκκας Β, Κ.Α.Παπαδόπουλος, Μισσοπούλου Α.: Μηχανισμοί διακίνησης των ιόντων ασβεστίου σε κυτταρικό επίπεδο. *Αρτηριακή Υπέρταση* 5:61-68, 1996
10. Sancho J., Alvarez J., Montero M., Vilalobos C.:  $Ca^{2+}$  influx following receptor activation. *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 12-13,1992
11. Fasolato C., Innocenti B. and Pozzan T.: Receptor activated  $Ca^{2+}$  influx. *Trends Pharmacol. Sci.* 15: 77-82,1994
12. Lullman H., Mohr K., Ziegel A., Bieger D.: Color atlas of pharmacology. George Thieme Verlag, New York, 1993
13. Birnbaumer L., Mattera R., Yatani A., VanDongen A., Graf R., Sanford J., Codina J., Brown A.: Roles of G- proteins in coupling of receptors to ionic channels. In: Nahorski St. (ed) "Transmembrane signaling. Intracellular messengers and implications for drug development". Wiley - Interscience Publ., New York pp.43- 71, 1990
14. Jarvis S., Zamponi G.: Interactions between presynaptic  $Ca^{2+}$  channels, cytoplasmic messengers and proteins of the synaptic vesicle release complex. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 519-525, 2001
15. Sorrentino V., Rizzuto R.: Molecular genetics of  $Ca^{2+}$  stores and intracellular  $Ca^{2+}$  signalling. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:461-466, 2001
16. Catterall W. And Striessing J.: Receptor sites for  $Ca^{2+}$  channel antagonists. *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 256-262,1992
17. Richards M., Butcher A., Dolphin A.:  $Ca^{2+}$  channel  $\beta$ -subunits. Structural insights

- aid our understanding. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:626-632, 2004
18. Li S., Westwick J., Poll C.: Receptor-operated  $\text{Ca}^{2+}$  influx channels in leukocytes: a therapeutic target? *Trends Pharmacol. Sci.* 23: 63-69, 2002
  19. Karaki H.: Historical techniques: Cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  and contraction in smooth muscle. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:388-393, 2004
  20. Claphan D., Montell C., Schultz G., Julius D.: International Union of Pharmacology. XLIII. Compendium of voltage-gated ion channels. Transient Receptor Potential Channels. *Pharmacol. Rev.* 55:591-596, 2003
  21. Muth J., Varadi G., Schaartz A.: Use of transgenic mice to study voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channels. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:526-532, 2001
  22. Soldatov N.:  $\text{Ca}^{2+}$  channel moving tail. Link between  $\text{Ca}^{2+}$  induced inactivation and  $\text{Ca}^{2+}$  signal transduction. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:167-171, 2003
  23. Varadi G., Mori Y., Mikala G. And Schwartz A.: Molecular determinants of  $\text{Ca}^{2+}$  channel function and drug action. *Trends Pharmacol. Sci.* 16: 43-49, 1995
  24. Richards M., Butcher A., Dolphin A.:  $\text{Ca}^{2+}$  channel  $\beta$ -subunits. Structural insights AID our understanding. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:626-639, 2004
  25. Hering S.:  $\beta$ -subunits. Fine tuning of  $\text{Ca}^{2+}$  channel block. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:509-513, 2002
  26. Richards M., Butcher A., Dolphin A.:  $\text{Ca}^{2+}$  channel  $\beta$ -subunits. Structural insights AID our understanding. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:626-632, 2004
  27. Krause D., Purdy R., Pearce J., Duckles S.: Vascular neuroeffector mechanisms. The next 30 years. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:541-542, 2002
  28. Gunthorpe M., Benham C., Randal A., Davis J.: The diversity in the valinoid (TRPV) receptor family of ion channels. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:183-191, 2002
  29. Fleig A., Penner R.: The TRPM ion channel subfamily. Molecular, biophysical and functional features. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:633-629, 2004
  30. Ambudkar I.:  $\text{Ca}^{2+}$  signaling microdomains. Platforms for the assembly and regulation of TRPC channels. *Trends Pharmacol. Sci.* 27:25-31, 2005
  31. Genazzani A. and Galione A.: A  $\text{Ca}^{2+}$  release mechanism gated by the novel pyridine nucleotide NAADP. *Trends Pharmacol. Sci.* 18: 108-110, 1997
  32. Mikoshita K.: Inositol 1,4,5 triphosphate receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 86-88, 1993
  33. Hasenfuss G., Seider T.: Treatment of heart failure through stabilization of the cardiac ryanodine receptor. *Circulation* 107:378-389, 2003
  34. Thrower E., Hagar R., Ehrlich B.: Regulation of Ins (1,4,5) P3 receptor isoforms by endogenous modulators. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:580-586, 2001
  35. Jiang M., Lokuta A., Farrell E.: Abnormal  $\text{Ca}^{2+}$  release, but not normal ryanodine receptor, in canine and human heart failure. *Circ. Res.* 91:1015-24, 2002
  36. Taylor C.:  $\text{Ca}^{2+}$  sparks a wave of excitement. *Trends Pharmacol. Sci.* 15: 271-274, 1994
  37. Park B., Pirmohamed M.; Genetic susceptibility to adverse drug effects. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:298-304, 2001



38. Karim S., Rhee A., Given A., Faulx M., Hoit B.: Vascular reactivity in heart failure. *Circ. Res.* 95:612-627,2004
39. Wu X., Haystead T., Nakamoto R.: Acceleration of myosin light chain dephosphorylation and relaxation of smooth muscle by telokin. *J. Biol. Chem.* 273:11362-11369,1998
40. Fukata Y., Amano M., Kaibuchi K.: Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:32-39,2001
41. Buxton I.: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. In: Brunton L. (ed) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological basis of therapeutics" MacGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp1-39,2006
42. Somlyo A., Somlyo A.: Signal transduction by G-proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J. Physiology* 522:177-185,2000
43. Κόκκας Β. και Παπαδόπουλος Κ.: Ασβέστιο και αγγειακός τόνος. Δυνατότητες φαρμακολογικής παρέμβασης. *Αρτηριακή υπέρταση* Φ20: 4-6, 1988
44. Hartshorne DJ.: Biochemical basis for contraction of vascular smooth muscle. *Chest* 78: 140-145,1980
45. Schaub MC., Kunz B.: Regulation of contraction in cardiac and smooth muscles. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8:S117-S123,1986
46. Grissmer S.: Potassium channels still hot. *Trends Pharmacol.Sci.* 18:347-350, 1997
47. Pongs O.: Structural basis of voltage-gated K<sup>+</sup> channel pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.* 13:359-364, 1992
48. Martens J., O; Connell K., Tamkun M.: Targeting of ion channels to membrane microdomains. Localization of K<sub>v</sub> channels to lipid rafts. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:16-21,2004
49. Cook D. and Bryan J.: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels come of age. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:477-479, 1998
50. Robertson B.: The real life of voltage gated K<sup>+</sup> channels. More than model behaviour. *Trends Pharmacol. Sci.* 18:474-483,1997
51. Escande D. and Caverio J.: K<sup>+</sup> channel openers and natural cardioprotection. *Trends Pharmacol. Sci.* 13:269-271,1992
52. Guo H., Cui X., Cui YG., Kim S.: Inhibitory effect of C-type natriuretic peptide on spontaneous contraction in gastric antral circular smooth muscle of rat. *Acta Pharmacol. Sin.* 24:1021-1026, 2003
53. Bkaily G.: Bethanidine, nitroprusside and atrial natriuretic factor open a cGMP-sensitive K<sup>+</sup> channel in aortic muscle. *Prog. Clin. Biol. Res.* 327:507-515,1990
54. Schubert R., Nelson M.: Protein kinases: Tuners of the BK<sub>Ca</sub> channel in smooth muscle. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:505-512,2001
55. Yellen G.: Dimers among friends. Ion channel regulation by dimerization of tail domains. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:439-441,2001

56. Striessnig J., Grabner M., Mitterrdoffer J.: Structural basis of drugs binding to L-Ca<sup>2+</sup> channels. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:108-115, 1998
57. Hoffman B.: Therapy of hypertension. In: Brunton L. (ed) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological basis of therapeutics" MacGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 845-868
58. Williams G.: Hypertensive vascular disease. In: Braunwald E. (ed) "Harrison's principles of internal medicine". MacGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp1414-1430, 2001
59. Berkels R., Egink G., Marsen T., Bartels H.: Nifedipine increases endothelial nitric oxide bioavailability by antioxidative mechanisms. *Hypertension* 37:240-248, 2001
60. Cook D. and Bryan J.: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels come of age. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:477-479, 1998
61. Aizawa T., Komatsu M., Asanuma N.: Glucose action beyond ionic events in the pancreatic  $\beta$ -cell. *Trends Pharmacol. Sci* 19: 496-499, 1998
62. Yamada M., Kurachi Y.: The nucleotide-binding domains of sulfonylurea receptor 1A and 2B play different functional roles in nicorandil-induced activation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. *Mol Pharmacol.* 65:1207-1211, 2004
63. Cooper D., Crossthwaite A.: Higher-order organization and regulation of adenylyl cyclases. *Trends Pharmacol. Sci.* 27:426-432, 2006

- 6 Ενδογενείς μονοαμίνες και αγγειακό τοίχωμα
- 7 Πουρινικά νουκλεοτίδια και αγγειακός τόνος
- 8 Πεπτίδια και πεπτιδικές ορμόνες στην αρτηριακή υπέρταση
- 9 Αγγειοτασίνη II και νατριουρητικά πεπτίδια.  
α. Ανταγωνισμός στο επίπεδο του αγγειακού τοιχώματος και των νεφρών



Paul Trendelenburg  
(1884-1931)

Πρωτοπόρος στην έρευνα των κατεχολαμινών.



## ΕΚΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΜΟΝΟΑΜΙΝΕΣ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ

Κ. Α. Παπαδόπουλος, Β. Α. Κόκκας και Γ. Κ. Σακαντάμης

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι κατεχολαμίνες, η ισταμίνη και η 5-υδροξυτρυπταμίνη είναι ενδογενείς μονοαμίνες οι οποίες, μεταξύ άλλων, συμμετέχουν στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου και της αρτηριακής πίεσης. Οι κατεχολαμίνες ασκούν τις ενέργειες αυτές διεγείροντας δύο είδη υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου στόχου. Πρόκειται για τους α και β-αδρενεργικούς υποδοχείς οι οποίοι διακρίνονται σε επίμερους κατηγορίες και υποτύπους. Το είδος του υποδοχέα και η κυτταρική του εντόπιση προσδιορίζουν και το είδος της ασκούμενης δράσης στον αγγειακό τόνο. Η ισταμίνη έχει αγγειοδιασταλτική δράση η οποία διαμεσολαβείται τόσο μέσω των H1-υποδοχέων όσο και μέσω των H2-υποδοχέων. Οι H1-υποδοχείς έχουν μεγαλύτερη συγγένεια προς την ισταμίνη και η αγγειοδιαστολή την οποία προκαλούν είναι ταχεία και σύντομη. Εδράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και ασκούν την ενέργεια αυτή διεγείροντας την απελευθέρωση από αυτά αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως είναι το NO. Οι H2-υποδοχείς ευρίσκονται στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος και η δράση τους επέρχεται βραδέως και διαρκεί περισσότερο. Η 5-υδροξυτρυπταμίνη ή σεροτονίνη ενεργεί στα κύτταρα στόχους δεσμευόμενη σε ειδικούς υποδοχείς που χαρακτηρίζονται από ανομοιογένεια εντόπισης και λειτουργίας. Αποτέλεσμα της διαφοροποίησης αυτής είναι και οι φαρμακολογικές διαφορές μεταξύ τους, που συνίστανται στην ικανότητα αποκλεισμού τους από διάφορα φάρμακα. Υποδοχείς που διεγείρονται από την 5-υδροξυτρυπταμίνη είναι αφενός οι ειδικοί σεροτονινεργικοί, αφετέρου οι αδρενεργικοί που συμπληρωματικά διεγείρονται από την ίδια ουσία.

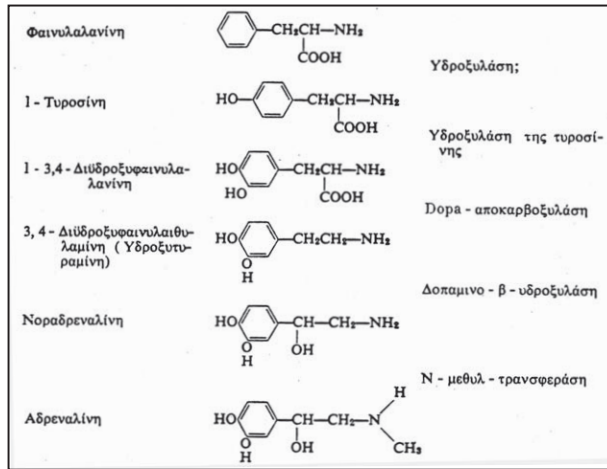
## Κατεχολαμίνες

### *Σύνθεση και απελευθέρωση των κατεχολαμινών*

Η αρχική πηγή σύνθεσης των κατεχολαμινών είναι η τυροσίνη, η οποία με τη μορφή της L-τυροσίνης προσλαμβάνεται μέσω της κυτταρικής μεμβράνης του συμπαθητικού νευρώνα. Η DOPA (3,4-dihydroxyphenylalanine:3,4-διυδροξυφαινυλαλανίνη) είναι ένα αμινοξύ το οποίο συντίθεται από την τυροσίνη με τη δράση της τυροσινικής υδροξυλάσης και μεταβολίζεται προς δοπαμίνη με τη δράση της αρωματικής-αμινοξυ-αποκαρβοξυλάσης. Η πρώτη, κατά σειρά σύνθεσης, κατεχολαμίνη είναι η δοπαμίνη. Η κατεχολαμίνη αυτή χρησιμεύει ως νευρομεταβιβαστής κυρίως στα βασικά γάγγλια του ΚΝΣ, πλην όμως υποδοχείς της έχουν εντοπισθεί και εκτός ΚΝΣ σε περιφερειακούς ιστούς. Με την υδροξυλίωση της δοπαμίνης σχηματίζεται το μόριο της νοραδρεναλίνης. Η νοραδρεναλίνη αποτελεί τον κατ' εξοχήν νευρομεταβιβαστή στο περιφερειακό συμπαθητικό νευρικό σύστημα. Με τη μεθυλίωση της νοραδρεναλίνης σχηματίζεται η αδρεναλίνη η οποία αποτελεί και την κύρια ορμόνη που απελευθερώνεται από τη μελώδη ουσία των επινεφριδίων (1,2,3).

Κατά τη διέγερση του συμπαθητικού απελευθερώνεται η νοραδρεναλίνη από την κυτταρική (προσυναπτική) μεμβράνη της μεταγαγγλιακής συμπαθητικής νευρικής ίνας με μηχανισμούς εξωκύττωσης και πρωτεϊνικής μεταφοράς. Η νοραδρεναλίνη διασχίζει τη συναπτική σχισμή και διεγείρει τους υποδοχείς της στην κυτταρική (μετασυναπτική) μεμβράνη του κυττάρου στόχου. Μικρό ποσοστό της νοραδρεναλίνης αδρανοποιείται από την κατεχολο-ορθο-μεθυλοτρανσφεράση (COMT: Catechol-o-methyl transferase). Το υπόλοιπο ποσό επαναπροσλαμβάνεται από τη νευρική απόληξη με ενεργό μεταφορά, αδρανοποιείται από τη μιτοχονδριακή μονοαμινοοξειδάση (MAO:Monoamine Oxidase) και διασπάται από τη δεϋδρογενάση. Η συντιθέμενη και ποσοστό της επαναπροσλαμβανόμενης νοραδρεναλίνης ευρίσκονται αποθηκευμένες στα χρωμιόφιλα κοκκία και προστατεύονται από την αδρανοποιητική δράση των ενζύμων αυτών. Όταν η συγκέντρωση της νοραδρεναλίνης στη συναπτική σχισμή είναι χαμηλή, προκαλεί τη διέγερση των  $\beta_2$ -αδρενεργικών προσυναπτικών υποδοχέων και την προαγωγή της εκ νέου απελευθέρωσης της νοραδρεναλίνης. Η μεγάλη αύξηση της συγκέντρωσης της νοραδρεναλίνης στη συναπτική σχισμή έχει ως αποτέλεσμα την υπερέχουσα διέγερση των  $\alpha_2$ -αδρενεργικών προσυναπτικών υποδοχέων οι οποίοι έχουν υψηλότερο ουδό διέγερσης, και την αναστολή της απελευθέρωσης της νοραδρεναλίνης (1,2,4).

Οι περιαγγειακές συμπαθητικές απολήξεις απελευθερώνουν, εκτός της νοραδρεναλίνης, τους αγγειοσυσπαστικούς παράγοντες ATP (Adenosine Triphosphate:Τριφωσφορική αδενοσίνη) και NPY (Neuropeptide Y: νευροπεπτίδιο Y) καθώς και τη σχετικά πρόσφατα ανακαλυφθείσα AMP-ribose



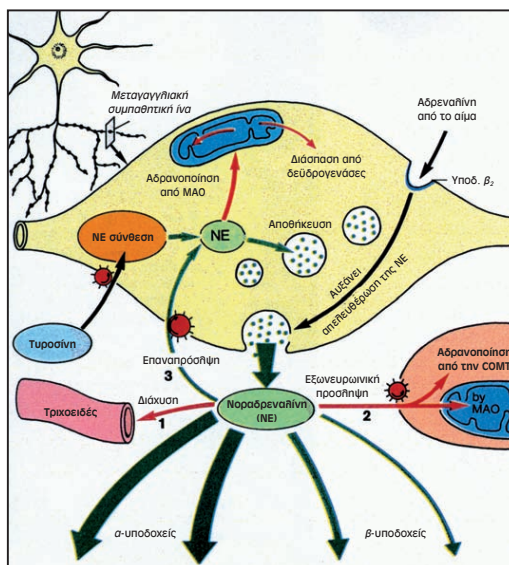
Εικόνα 6.1: Βιοσύνθεση των κατεχολαμινών.  
 Παραδέλλης Α., Κλινική Φαρμακολογία, 1992

(Adenosine Monophosphate ribose: Ριβόζη της μονοφωσφορικής αδενοσίνης). Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι οι προσυναπτικές πρωτεΐνες SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment receptor: υποδοχέας προσκόλλησης του παράγοντα που είναι ευαίσθητος στη διαλυτή N-αιθυлмаαλεϊμίδη) προάγουν την απελευθέρωση τόσο της νοραδρεναλίνης όσο και της ακετυλοχολίνης από τις περιαγγειακές νευρικές ίνες του ΑΝΣ στα μικρά αγγεία (5).

Η δοπαμίνη που απελευθερώνεται από τις δοπαμινεργικές νευρικές απολήξεις επαναπροσλαμβάνεται από την ειδική πρωτεΐνη-μεταφορέα DAT (Dopamine Transporter) και εναποθηκεύεται σε ειδικά μικροκυτίδια μεταφερόμενη από την πρωτεΐνη VMAT2 (Vesicular Monoamine Transporter 2:Αγγειακός μεταφορέας των μονοαμινών) (6).

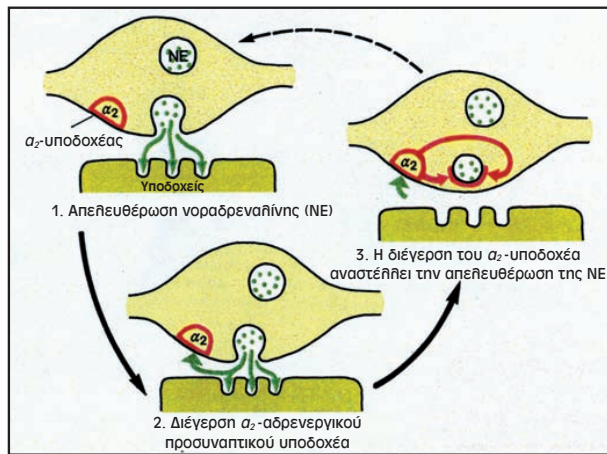
Οι πρωτεΐνες μεταφορείς των μονοαμινών, όπως της δοπαμίνης, της 5-HT και της νοραδρεναλίνης, μεταφέρουν δια της προσυναπτικής μεμβράνης τις αμίνες αυτές πάλι στην τελική απόληξη της νευρικής ίνας από την οποία απελευθερώνονται. Με το μηχανισμό αυτό ρυθμίζουν και ελέγχουν το πυροδοτούμενο στη μετασυναπτική μεμβράνη σήμα (7).

Υπάρχουν ισχυρές αποδείξεις ότι η DOPA ευρίσκεται και ως τελικό προϊόν σε ορισμένους νευρώνες του ΚΝΣ, συμπεριλαμβανόμενων εκείνων του πυρήνα της μονήρους δέσμης (Tractus Solitarii). Επίσης, ότι η ίδια ουσία απελευθερώνεται από τις προσαγωγούς νευρικές ίνες που έρχονται από τους τασεοϋποδοχείς προς τα εγκεφαλικά κέντρα, όπως είναι οι κατασταλτικές θέσεις του πυρήνα της μονήρους δεσμίδας (Nucleus Tractus Solitarii), ενώ απελευθερώνεται και από τις νευρικές οδούς προς τη διεγερτική περιοχή RVLM (Rostral Ventrolateral

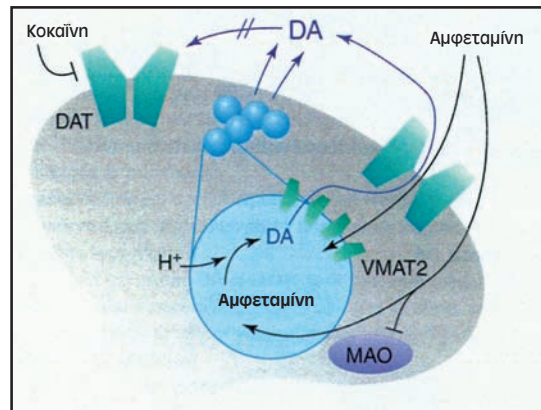


**Εικόνα 6.2: Μηχανισμοί απελευθέρωσης της νοραδρεναλίνης από τις μεταγαγγλιακές ίνες του συμπαθητικού.** Η αρχική πηγή σύνθεσης της νοραδρεναλίνης είναι η τυροσίνη η οποία με τη μορφή της L-τυροσίνης προσλαμβάνεται μέσω της κυτταρικής μεμβράνης της συμπαθητικής νευρικής ίνας. Κατά τη διέγερση του συμπαθητικού απελευθερώνεται η νοραδρεναλίνη από την κυτταρική (προσυναπτική) μεμβράνη της μεταγαγγλιακής συμπαθητικής νευρικής ίνας με μηχανισμούς εξωκύττωσης και πρωτεϊνικής μεταφοράς. Η νοραδρεναλίνη διασχίζει τη συναπτική σχισμή και διεγείρει τους υποδοχείς της στην κυτταρική (μετασυναπτική) μεμβράνη του κυττάρου στόχου. Μικρό ποσοστό της νοραδρεναλίνης αδρανοποιείται από την κατεχολο-ορθο-μεθυλοτρανσφεράση (COMT). Το υπόλοιπο ποσό επαναπροσλαμβάνεται από τη νευρική απόληξη με ενεργό μεταφορά, αδρανοποιείται από τη μιτοχονδριακή MAO (Μονοαμινοοξειδάση: Μονοαμινοοξειδάση) και διασπάται από τη δεϋδρογενάση. Η συντιθέμενη και ποσοστό της επαναπροσλαμβανόμενης νοραδρεναλίνης ευρίσκονται αποθηκευμένες στα χρωμιόφιλα κοκκία και προστατεύονται από την αδρανοποιητική δράση των ενζύμων αυτών. Η ελάττωση της συγκέντρωσης της νοραδρεναλίνης στη συναπτική σχισμή, διακόπτοντας την ανασταλτική διέγερση των  $\alpha_2$  αδρενεργικών υποδοχέων, επιτρέπει την υπερίσχυση της οδωτικής διέγερσης των  $\beta_2$  - αδρενεργικών προσυναπτικών υποδοχέων και την προαγωγή της εκ νέου απελευθέρωσης της νοραδρεναλίνης. *Despotopoulos A., Silbernagl S.: Color Atlas of Physiology, 1991*





**Εικόνα 6.3:** Μηχανισμός αναστολής της απελευθέρωσης της νοραδρεναλίνης από τις μεταγαγγλιακές ίνες του συμπαθητικού. Η αύξηση της συγκέντρωσης της νοραδρεναλίνης στη συναπτική σχισμή έχει ως αποτέλεσμα τη διέγερση των  $\alpha_2$ -αδρενεργικών προσυναπτικών υποδοχέων και την αναστολή της απελευθέρωσης της νοραδρεναλίνης.  
Despotopoulos A., Silbernagl S.: *Color Atlas of Physiology*, 1991



**Εικόνα 6.4:** Μηχανισμοί επαναπρόσληψης και εναποθήκευσης της δοπαμίνης από τις προγαγγλιακές ίνες. Η πρωτεΐνη μεταφορέας της δοπαμίνης (DAT: Dopamine Transporter) επαναφέρει την απελευθερωθείσα δοπαμίνη στο εσωτερικό της νευρικής απόληξης. Το αυτό συμβαίνει με τη νοραδρεναλίνη μέσω της πρωτεΐνης μεταφορέα (NET: Norepinephrine Transporter) και με την 5-HT μέσω της (SERT: Serotonin Transporter). Η MAO (Monoamine Oxidase: Μονοαμινοξειδάση) διασπά τις μονοαμίνες στα σημεία αυτά, όχι όμως και τις εναποθηκευμένες στα χρωμοφιλα κοκκία ή κυστίδια, όπου οι μονοαμίνες μεταφέρονται από την VMAT2 (Vesicular Monoamine Transporter 2: Μεταφορέας 2 των μονοαμινών στα κυστίδια). Η κοκαΐνη και η αμφεταμίνη αυξάνουν τη συγκέντρωση των μονοαμινών αυτών στη συναπτική σχισμή, διότι η μεν πρώτη αδρανοποιεί τις πρωτεΐνες μεταφορείς η δε δεύτερη προάγει την απελευθέρωση των μονοαμινών και αδρανοποιεί τη MAO.  
*Trends Pharmacol. Sci* 23,2002

Medulla:Ραμφιαία κοιλιοπλάγια περιοχή) η οποία με τη σειρά της στέλνει ώσεις προς τα συμπαθητικά κέντρα της θωρακικής μοίρας της σπονδυλικής στήλης. Με τους μηχανισμούς αυτούς, η DOPA συμμετέχει έμμεσα στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου και της αρτηριακής πίεσης (8).

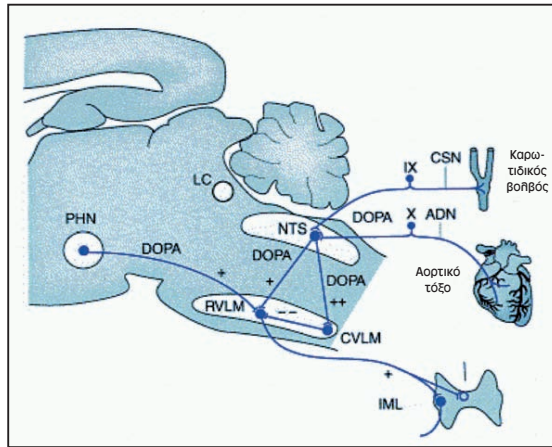
### **Αδρενεργικοί υποδοχείς**

Είναι γνωστό ότι οι αδρενεργικοί υποδοχείς είναι ρυθμιστές του αγγειακού τόνου και της αρτηριακής πίεσης. Οι κατεχολαμίνες ασκούν τις ενέργειες αυτές διεγείροντας δύο είδη υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου στόχου. Πρόκειται για τους α και β-αδρενεργικούς υποδοχείς οι οποίοι διακρίνονται σε επιμέρους κατηγορίες και υποτύπους (1,2,5,9-11).

Οι α-αδρενεργικοί υποδοχείς διακρίνονται στους  $\alpha_1$  και στους  $\alpha_2$ -υποτύπους. Από αυτούς, οι  $\alpha_1$ -αδρενεργικοί υποδοχείς διακρίνονται επίσης στους  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  και  $\alpha_{1D}$  επιμέρους υποτύπους. Οι τρεις αυτοί επιμέρους υποτύποι έχουν κοινό το 75% των αμινοξέων και διαφέρουν ως προς το υπόλοιπο 25%.

Και οι τρεις γνωστοί υποτύποι των α-αδρενεργικών υποδοχέων είναι αγγειοσυσπαστικοί, αλλά ο κυριαρχών υποτύπος ποικίλλει ανάλογα με το αγγείο. Οι  $\alpha_{1A}$ -αδρενεργικοί υποδοχείς συνιστούν τους βασικούς συσπαστικούς των λείων μυϊκών ινών αδρενεργικούς υποδοχείς και η διέγερσή τους προάγει την αγγειοσύσπαση σε έναν μεγάλο αριθμό αρτηριών και φλεβών. Επίσης, οι ίδιοι υποδοχείς προάγουν την αύξηση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Οι  $\alpha_{1B}$ -αδρενεργικοί υποδοχείς αποτελούν το κυρίαρχο είδος των α-αδρενεργικών υποδοχέων στην καρδιά και σε συνεργασία με τους  $\alpha_{1A}$ -αδρενεργικούς υποδοχείς προάγουν την υπερτροφία του μυοκαρδίου. Επίσης, οι  $\alpha_{1B}$ -υποδοχείς διεγείρουν την αύξηση των ινοβλαστών στο αγγειακό τοίχωμα και μαζί με τους  $\alpha_{1A}$ -αδρενεργικούς υποδοχείς προάγουν τη μετανάστευση των ίδιων κυττάρων στο τοίχωμα αυτό. Από τους υποδοχείς αυτούς, οι τύπου  $\alpha_{1B}$ -υποδοχείς απευαισθητοποιούνται ταχύτερα από τους  $\alpha_{1A}$ -υποδοχείς. Οι  $\alpha_{1D}$ -αδρενεργικοί υποδοχείς είναι οι κύριοι υποδοχείς που προάγουν τη σύσπαση στην αορτή και τα στεφανιαία αγγεία και απευαισθητοποιούνται ταχύτερα από τους δύο προηγούμενους. Επίσης, προάγουν τη μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών στο αγγειακό τοίχωμα.

Οι  $\alpha_2$ -αδρενεργικοί υποδοχείς διακρίνονται επίσης στους  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  και  $\alpha_{2C}$  επιμέρους υποτύπους. Οι  $\alpha_{2A}$ -αδρενεργικοί υποδοχείς εντοπίζονται, μεταξύ άλλων, και στη μεμβράνη της τελικής συμπαθητικής ίνας. Οι προσυναπτικοί αυτοί υποδοχείς διεγείρονται από την αύξηση των κατεχολαμινών στη συναπτική σχισμή δρουν ανασταλτικά στην περαιτέρω απελευθέρωση των κατεχολαμινών. Οι  $\alpha_{2B}$ -αδρενεργικοί υποδοχείς εντοπίζονται, μεταξύ άλλων, και στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και προάγουν τη σύσπαση αυτών με μηχανισμό που αναφέρεται στη συνέχεια. Οι  $\alpha_{2C}$ -αδρενεργικοί υποδοχείς



**Εικόνα 6.5: Μηχανισμοί δράσης της DOPA στο αντανακλαστικό των τασεοϋποδοχέων.** Προσαγωγικοί ίνες του ADN (Aortic Depressor Nerve: Αορτικό κατασταλτικό νεύρο) από το αορτικό τόξο και ίνες του CSN (Carotid Sinus Nerve: Νεύρο καρωτιδικού βολβού) από τον καρωτιδικό βολβό καταλήγουν σε κατασταλτικές θέσεις του πυρήνα NTS (Nucleus Tractus Solitarius: Πυρήνας της μονήρους δεσμίδας) στο ΚΝΣ. Από τον πυρήνα NTS ξεκινούν διεγερτικές ίνες προς την CVLM (Caudal Ventrolateral Medula:Κερκοφόρος κοιλιοπλάγια περιοχή προμήκους) και την RVLM (Rostral Ventrolateral Medula: Ραμφιαία κοιλιοπλάγια περιοχή προμήκους) οι οποίες απελευθερώνουν γλουταμινικό οξύ. Η ένταση της οδού NTS-RVLM (+) είναι ισχυρότερη από εκείνη της οδού NTS-CVLM (++). Νευρικές ίνες που εκπορεύονται από την περιοχή CVLM απελευθερώνουν GABA (γ-αμινοβουτυρικό οξύ) και δρουν ανασταλτικά (-) στην περιοχή RVLM. Η ίδια περιοχή RVLM δέχεται διεγερτικές ώσεις από τον πυρήνα PHN (Posterior Hypothalamic Nucleus: Οπίσθιος υποθαλαμικός πυρήνας). Διεγερτικές ίνες από την περιοχή RVLM προβάλλουν απευθείας σε συμπαθητικά κέντρα της IML (Intermediolateral:Ενδομεσοπλάγια) περιοχής στον νωτιαίο μυελό στο ύψος της θωρακοσφυϊκής μοίρας. Αυτά διεγείρομενα απελευθερώνουν κατεχολαμίνες και προάγουν την αγγειοσυσπαση. Με τον τρόπο αυτό, η περιοχή RVLM ελέγχει την αρτηριακή πίεση σε καταστάσεις τόσο ηρεμίας όσο και αντανακλαστικών μεταβολών της. Η DOPA φαίνεται να απελευθερώνεται από τις προσαγωγούς κατασταλτικές νευρικές οδούς AND-NTS-CVLM και τις διεγερτικές νευρικές οδούς PHN-RVLM.

*Trends Pharmacol. Sci. 23,2002*

απαντούν κυρίως στον εγκέφαλο, όπου ρυθμίζουν τη δοπαμινική νευρομεταβίβαση δρώντας ανασταλτικά στην απελευθέρωση της ουσίας αυτής. Ακόμη, οι ίδιοι υποδοχείς δρουν ανασταλτικά στην απελευθέρωση κατεχολαμινών από τη μυελώδη ουσία των επινεφριδίων. Οι  $\alpha_{2c}$ -υποδοχείς έχουν ανασταλτική αποτελεσματικότητα στη χαμηλής συχνότητας νευρική διέγερση, ενώ οι  $\alpha_{2A}$ -υποδοχείς είναι πιο αποτελεσματικοί, όταν υπάρχει νευρική διέγερση υψηλής συχνότητας.

Οι  $\beta$ -αδρενεργικοί υποδοχείς διακρίνονται στους  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  και  $\beta_3$ -υποτύπους. Από αυτούς, οι  $\beta_1$ -αδρενεργικοί υποδοχείς απαντούν κυρίως και μεταξύ άλλων στην καρδιά, τους νεφρούς και τα λιποκύτταρα. Πρόκειται για τους κύριους υποδοχείς που η διέγερσή τους είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση της

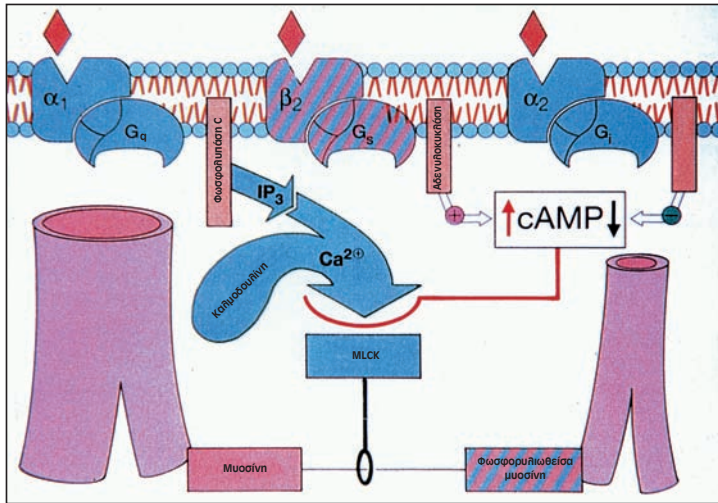
θετικής inóτροπης και χρονóτροπης απόκρισης της καρδιάς. Οι  $\beta_2$ -αδρενεργικοί υποδοχείς απαντούν κυρίως και μεταξύ άλλων στην καρδιά, τις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων, των βρόγχων και του γαστρεντερικού σωλήνα, τα ηπατικά κύτταρα και τα λευκοκύτταρα. Ιδιαίτερης σημασίας, για το θέμα που αναπτύσσεται, είναι η αγγειοδιασταλτική τους δράση. Οι  $\beta_3$ -αδρενεργικοί υποδοχείς απαντούν μεταξύ άλλων στην καρδιά, τα αγγεία και τον λιπώδη ιστό. Πρόκειται για υποδοχείς οι οποίοι σχετίζονται με μεταβολικές δράσεις, στα αγγεία προάγουν την αγγειοδιαστολή, ενώ στην καρδιά ασκούν αρνητική inóτροπη δράση με μηχανισμούς που αναφέρονται στη συνέχεια.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για το θέμα που αναπτύσσεται παρουσιάζουν οι αγγειοδραστικές ενέργειες των αδρενεργικών υποδοχέων σε μοριακό επίπεδο.

Η διέγερση των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος οδηγεί στη σύσπαση αυτών και σε αγγειοσυστολή. Αυτό οφείλεται στο ότι οι υποδοχείς αυτοί μεταφέρουν το σήμα μέσω της  $G_q$ -πρωτεΐνης στο ενζυμικό σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C). Τα τελικά προϊόντα της καταλυτικής δράσης του ενζυμικού αυτού συστήματος είναι η τριφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη ( $IP_3$ : Inositol Triphosphate) και η διακυλογλυκερόλη (DG: Diacylglycerol). Οι δύο αυτοί δεύτεροι αγγελιαφόροι περνούν στο κυτταρόπλασμα και η μεν  $IP_3$  διεγείρει τους υποδοχείς της στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και απελευθερώνει  $Ca^{2+}$ , η δε διακυλογλυκερόλη διεγείρει την πρωτεϊνική κινάση C (PKC). Η αύξηση του  $Ca^{2+}$  διεγείρει τη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών, η δε PKC φωσφορυλιώνει οδωτικά πρωτεΐνες που συμμετέχουν στους μηχανισμούς μετάδοσης του σήματος, καθώς και στους μηχανισμούς μυϊκής σύσπασης.

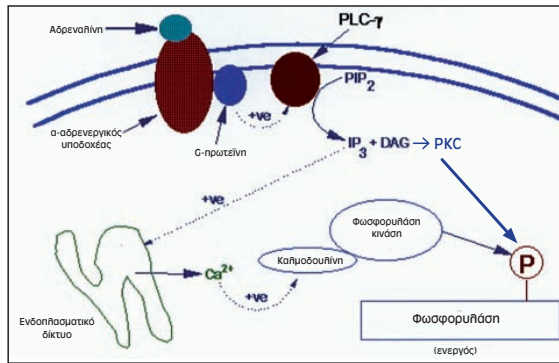
Η διέγερση των  $\beta_2$ -αδρενεργικών υποδοχέων των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος οδηγεί στη χάλαση αυτών και σε αγγειοδιαστολή. Οι υποδοχείς αυτοί διεγείρουν μέσω της  $G_s$ -πρωτεΐνης το ενζυμικό σύστημα της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenyl Cyclase). Η ενζυματική δράση του τελευταίου οδηγεί στο σχηματισμό της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP). Ο δεύτερος αυτός αγγελιαφόρος εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα και ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση A (PKA: Protein Kinase A). Η φωσφορυλιωτική δράση της κινάσης αυτής που αναστέλλει την MLCK (Myosin Light Chain Kinase: κινάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης) και η ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  οδηγούν σε χάλαση των λείων μυϊκών ινών.

Η διέγερση των  $\alpha_2$ -αδρενεργικών υποδοχέων των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος οδηγεί στη σύσπαση αυτών και σε αγγειοσυστολή, με διαφορετικό, όμως, μηχανισμό. Στην περίπτωση αυτή, οι υποδοχείς μεταδίδουν το σήμα στην  $G_i$ -πρωτεΐνη η οποία με τη σειρά της προκαλεί την αδρανοποίηση της AC. Τότε υπερισχύει το σύστημα της PLC και το αγγείο οδηγείται σε σύσπαση μέσω μηχανισμών που έχουν αναπτυχθεί στα προηγούμενα κεφάλαια.

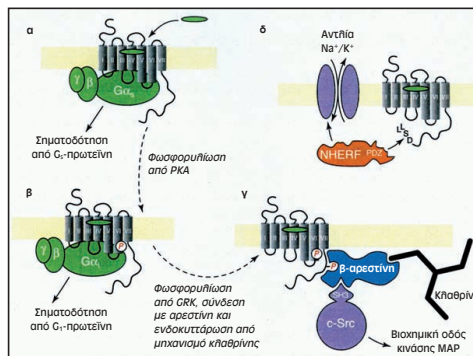


**Εικόνα 6.6: Αγγειοκινητικές δράσεις των κατεχολαμινών.** Η διέγερση των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος έχει ως αποτέλεσμα τη μέσω  $G_q$ -πρωτεΐνης διέγερση του συστήματος της φωσφολιπάσης C (PLC) και το σχηματισμό της τριφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης ( $IP_3$ ). Η  $IP_3$  περνά στο κυτταρόπλασμα και διεγείρει τους υποδοχείς/δι-αύλους της στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και απελευθερώνει  $Ca^{2+}$ , το οποίο με τη σειρά του σχηματίζει σύμπλοκο με την καλμοδοουλίνη. Το σύμπλοκο αυτό ενεργοποιεί την κινάση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase) που φωσφορυλιώνει τη μυοσίνη στο επίπεδο της ελαφράς αλυσού. Η φωσφορυλιωθείσα μυοσίνη ενώνεται με την ακτίνη, με αποτέλεσμα τη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών και με επακόλουθο την αγγειοσύσπαση. Η διέγερση των  $\beta_2$ -αδρενεργικών υποδοχέων έχει ως αποτέλεσμα τη μέσω  $G_s$ -πρωτεΐνης διέγερση του συστήματος της αδενυλοκυκλάσης και το σχηματισμό της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP: cyclic Adenosine Monophosphate) η οποία αίρει τους μηχανισμούς αγγειοσύσπασης και προάγει την αγγειοδιαστολή. Η διέγερση των  $\alpha_2$ -αδρενεργικών υποδοχέων έχει ως αποτέλεσμα τη μέσω  $G_i$ -πρωτεΐνης αναστολή του συστήματος της αδενυλοκυκλάσης και την υπερίσχυση του συστήματος της PLC, γεγονός που οδηγεί στην αγγειοσύσπαση.

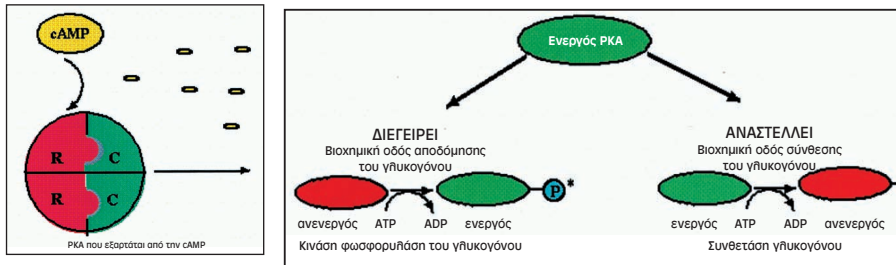
Lullman H. et al.: *Color Atlas of Pharmacology*, 1993



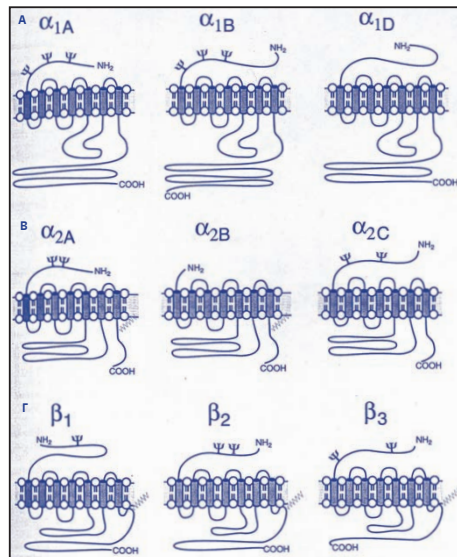
**Εικόνα 6.7: Μηχανισμοί φωσφορυλίσεων από τη διέγερση των α-αδρενεργικών υποδοχέων.** Η διέγερση των α-αδρενεργικών υποδοχέων μεταδίδεται μέσω της  $G_{q/11}$ -πρωτεΐνης στο ενζυμικό σύστημα της PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C). Από τα συντιθέμενα προϊόντα η DAG (Diacylglycerol:Διακυλογλυκερόλη) ενεργοποιεί την PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C), η οποία φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες, η δε  $IP_3$  (Inositol Triphosphate:Τριφωσφορική φωσφατιδυλοϊνσοσιτόλη) απελευθερώνει ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$  και προάγει τη σύσπαση της λείας μυϊκής ίνας. Αυτό γίνεται διότι τέσσερα  $Ca^{2+}$  ενώνονται με την καλμοδουλίνη και το σχηματιζόμενο σύμπλοκο προάγει την ενεργοποίηση κινασών και φωσφορυλασών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και η κινάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης (MLCK:Myosin Light Chain Kinase).  
 Google-Internet,2005



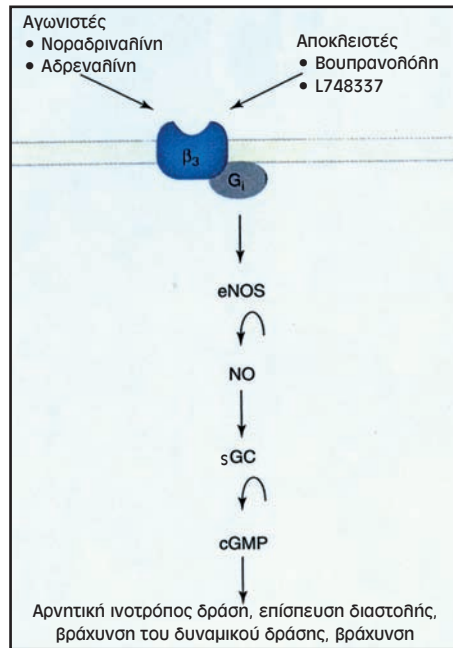
**Εικόνα 6.8: Οδοί πολλαπλών σταθμών ή σημάτων που κινητοποιούνται από τον  $\beta_2$ -αδρενεργικό υποδοχέα.** Η σύνδεση του αγωνιστή με τον υποδοχέα προκαλεί: (α) Την πυροδότηση της βιοχημικής οδού που προάγεται από τη  $G_s$ -πρωτεΐνη και τη φωσφορυλιωτική δράση της κινάσης PKA. (β) Τη θετική αλληλεπίδραση με την οδό που κινητοποιεί η  $G_i$ -πρωτεΐνη μέσω των φωσφορυλίσεων της PKA. (γ) Την ενεργοποίηση της μιτωτικής οδού της MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase), αφού προηγηθεί η φωσφορυλίωση του υποδοχέα από την κινάση GRK (G Protein coupled Receptor Kinase) και η ένωσή του με την β-αρεστίνη. Η β-αρεστίνη ενεργοποιεί το μηχανισμό ενδοκυττάρωσης του υποδοχέα που μεθοδεύεται από την κλαθρίνη και επιστρατεύει τον C-Src που κινητοποιεί την οδό της MAPK. (δ) Καταγράφονται, επίσης, σήματα που δεν εξαρτώνται από τη  $G$ -πρωτεΐνη, όπως η αντλία ανταλλαγής  $Na^+/H^+$  μέσω της σύνδεσσης με τον ρυθμιστικό παράγοντα ανταλλαγής  $Na^+/H^+$  (NHERF:  $Na^+/H^+$  Exchanger regulatory Factor).  
 Trends Pharmacol. Sci 19,1998



**Εικόνα 6.9: Βιοχημικός καταρράκτης γλυκογονόλυσης. (αριστερά)** Η PKA (Protein Kinase A: Πρωτεϊνική κινάση Α) που εξαρτάται από την cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη) είναι ένα τετραμερές που αποτελείται από δύο ρυθμιστικές υπομονάδες και δυο καταλυτικές. Η cAMP αποτελεί δεύτερο αγγελιαφόρο ο οποίος συντίθεται ενδοκυττάρια από την ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη) ύστερα από την ενεργοποίηση του συστήματος της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenyl Cyclase) στην κυτταρική μεμβράνη. Μεταξύ των υποδοχέων που προάγουν την ενεργοποίηση του συστήματος αυτού περιλαμβάνονται και οι β-αδρενεργικοί υποδοχείς. (δεξιά) Η ενεργοποιηθείσα PKA διεγείρει την αποδόμηση του γλυκογόνου και αναστέλλει τη σύνθεση της ADP (Adenosine Diphosphate: Διφωσφορική αδενοσίνη). Όπου P (Φωσφορική ρίζα), C (Catalytic: Καταλυτική), R (Regulatory: Ρυθμιστική). *Phosphorylation. Google-Internet,2006*



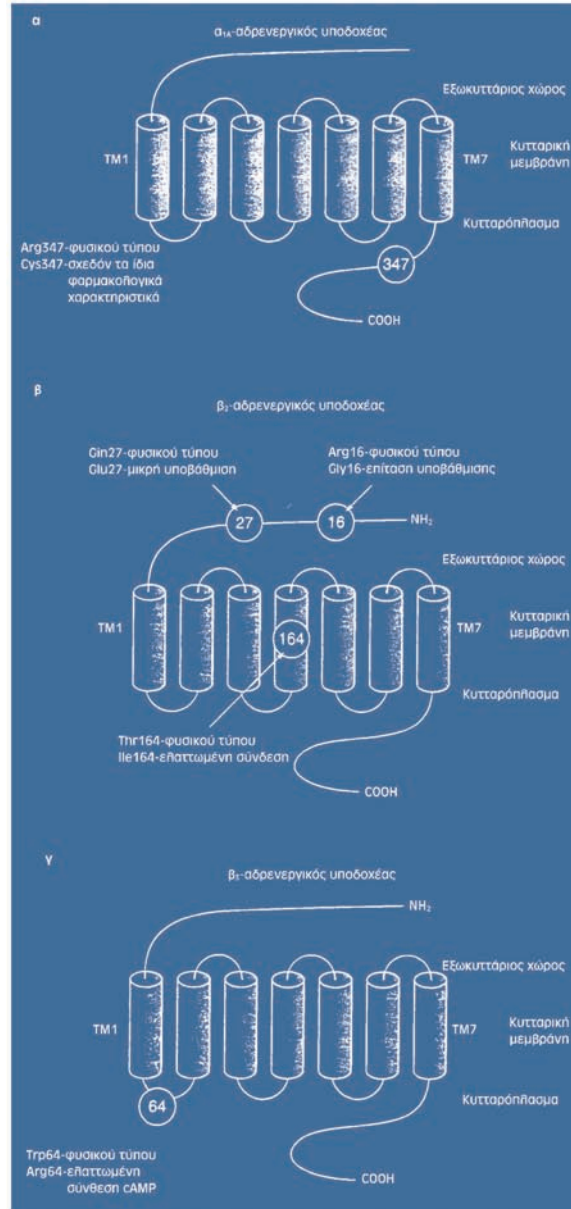
**Εικόνα 6.10: Υποτύποι α και β-αδρενεργικών υποδοχέων.** Τα σημεία με την ένδειξη Ψ αποτελούν θέσεις N-γλυκοζυλίωσης και τα σημεία με το γαλάζιο σπείραμα θέσεις θειοακυλίωσης. *Hardman J., Libird L. (eds) " Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics" 2001*



**Εικόνα 6.11: Μηχανισμός δράσης των  $\beta_3$ -αδρενεργικών υποδοχέων στην καρδιά.** Η διέγερση των υποδοχέων αυτών ενεργοποιεί τη συνθάση του NO (NOS) μέσω της  $G_i$ - πρωτεΐνης, η οποία με τη σειρά της διεγείρει στο κυτταρόπλασμα τη διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC:soluble Guanylcyclase). Το αποτέλεσμα είναι η αύξηση της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP:cyclic Guanine Monophosphate) και η πρόκληση ενεργειών όπως η αρνητική ινότροπη ενέργεια, η επίσπευση της διαστολής και η βράχυνση του δυναμικού δράσης.  
*Trends Pharmacol. Sci. 26, 2005*

Οι κατεχολαμίνες ασκούν αγγειοδιασταλτική δράση μέσω της διέγερσης των  $\beta_3$ -αδρενεργικών υποδοχέων στο ενδοθήλιο. Η διέγερση των υποδοχέων αυτών από τις κατεχολαμίνες οδηγεί στην ενεργοποίηση της ενδοθηλιακής συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου (eNOS). Το συντιθέμενο NO περνά στο μέσο χιτώνα και διεγείρει τη διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC: soluble Guanylcyclase) με αποτέλεσμα η σχηματιζόμενη κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP: cyclic Guanosine Triphosphate) να προάγει τη χάλαση των λείων μυϊκών ινών. Παράλληλα, η διέγερση των ίδιων υποδοχέων στην καρδιά προκαλεί αρνητική ινότροπη δράση, επιταχύνει την έλευση της διαστολής και βραχύνει το δυναμικό δράσης. Στον λιπώδη ιστό, η  $\beta_3$ -αδρενεργική διέγερση οδηγεί σε ενδοκυτάρια λιπόλυση και αναστολή της λιποσύνθεσης (12,13).





**Εικόνα 6.12: Πολυμορφισμοί των αδρενεργικών υποδοχέων.** Με κύκλο επισημαίνονται οι κυριότερες μορφές πολυμορφισμών στο αμινοτικό N-τέρας του μορίου του υποδοχέα και οι λειτουργικές επιπτώσεις από τους πολυμορφισμούς αυτούς.  
*Trends Pharmacol. Sci* 20,1999

### **Δοπαμίνη και νεφρική λειτουργία**

Η δια των ούρων απεκκρινόμενη ποσότητα της δοπαμίνης (DOPA-αμίνη) υπερβαίνει κατά πολύ την αφικνούμενη δια της αιματογενούς οδού στους νεφρούς ασύζευκτη τοιαύτη. Το γεγονός αυτό είναι σαφώς δηλωτικό του ότι σημαντική ποσότητα της απεκκρινόμενης δοπαμίνης είναι προϊόν αυτόχθονης παραγωγής. Ως πιθανές προελεύσεις έχουν θεωρηθεί υποθετικά νεφρικά δοπαμινεργικά νεύρα και συνέκκριση της DOPA από νοραδρενεργικούς νευρώνες των νεφρών καθώς και η κυκλοφορούσα ή ιστική τυροσίνη.

Οι πρόσφατες παρατηρήσεις συγκλίνουν στην άποψη ότι η δοπαμίνη των ούρων προέρχεται κατ' εξοχήν από νεφρική πρόσληψη και αποκαρβοξυλίωση της αιματογενώς κυκλοφορούσης διϋδροξυφαινολαλανίνης (14-20). Από παρατηρήσεις προκύπτει ότι δοπαμίνη συντίθεται στα επιθήλια των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων του νεφρού από την DOPA (18-20), όπου είναι αναγκαία για τη σύνθεση η παρουσία της αποκαρβοξυλάσης (Decorboxylase) και του  $\text{Na}^+$ . Η χορήγηση από του στόματος καρβι-DOPA που αναστέλλει την αποκαρβοξυλάση περιορίζει κατά 70% την απέκκριση της δοπαμίνης (15,17,21), ενώ η σιτιογενής φόρτισης με  $\text{Na}^+$  αυξάνει την απέκκριση (22-24).

Η δοπαμίνη αποτελεί σημαντικό νατριουρητικό παράγοντα έχοντας θεραπευτική εφαρμογή επί καρδιογενούς καταπληξίας. Η δυσχέρεια απόδειξης του ρόλου της δοπαμίνης στην ομοιοστασία του  $\text{Na}^+$  προέρχεται από την ύπαρξη πολλών παραλλήλως λειτουργούντων ομοιοστατικών μηχανισμών που αμβλύνουν το αποτέλεσμα παρεμβάσεων σε μεμονωμένους τοιούτους. Οι μηχανισμοί, όμως, αυτοί αποκτούν σημασία σε παθολογικές καταστάσεις όπου αναζητείται επιστράτευση τέτοιων μηχανισμών. Πάντως, δεν υπάρχει έλλειψη σχετικών αποδείξεων για το ρόλο της δοπαμίνης. (15,17,21,25,26). Σύμφωνα με τις σχετικές παρατηρήσεις, η αύξηση του διηθούμενου  $\text{Na}^+$  στο αρχικό διήθημα των ούρων ενεργοποιεί την πρόσληψη DOPA από τα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια, τη σύνθεση της δοπαμίνης και την επακόλουθη νατριούρηση μέσω αναστολής της επαναρόφησης  $\text{Na}^+$ .

Ο πιθανός ρόλος της νεφροσωληναριακής πρέλευσης δοπαμίνης φαίνεται ότι συνίσταται στη ρύθμιση της νεφρικής απέκκρισης του  $\text{Na}^+$ . Υπάρχουν αποδείξεις ότι σε ορισμένους ασθενείς με ιδιοπαθή αρτηριακή υπέρταση υπολείπεται η νεφρογενής παραγωγή της δοπαμίνης. Τούτο αφορά κατ' εξοχήν ασθενείς με υπέρταση επί υψηλής πρόσληψης άλατος καθώς και σε ορθοστατικά άτομα με γενετική προδιάθεση για ιδιοπαθή αρτηριακή υπέρταση. Φαίνεται ότι συμβαίνει μειωμένη νεφρική πρόσληψη και αποκαρβοξυλίωση της DOPA ειδικά στους ασθενείς εκείνους που είναι πολύ ευαίσθητοι στα υπερτασικά αποτελέσματα του σιτιογενούς  $\text{Na}^+$  (22,23).

### Συμπαθητικογενείς βλάβες

Το συμπαθητικό νευρικό σύστημα επηρεάζει πολλές αιμοδυναμικές και νεφρικές παραμέτρους. Στις πρώτες περιλαμβάνονται ο αγγειακός τόνος και η δι' αυτού φλεβική επαναφορά και οι αρτηριακές αντιστάσεις, η καρδιακή συχνότητα και ο όγκος παλμού. Στις δεύτερες ανήκει κυρίως η σωληναριακή επαναρόφηση μέσω μεταβολών της νεφρικής άρδευσης αλλά και μέσω άμεσης δράσης στα επιθήλια των ουροφόρων οδών. Από την άλλη μεριά, η άνοδος της αρτηριακής πίεσης επάγει αντανακλαστική μείωση του τόνου του συμπαθητικού, από οποιαδήποτε αιτία και αν προέρχεται (1,27).

Ο φυσιολογικός ρόλος του συμπαθητικού στην κυκλοφορία συνίσταται στη διατήρηση της αρτηριακής άρδευσης των λειτουργικών οργάνων και την ανακατανομή του κυκλοφορούντος και δεξαμενιζόμενου στις αιματοποθήκες αίματος. Όταν παρίσταται ανάγκη αύξησης της καρδιακής παροχής, τότε αυξάνει και ο τόνος του συμπαθητικού.

Η αύξηση του τόνου του συμπαθητικού προκαλεί επίσης την αύξηση του φλεβικού τόνου και την προσαγωγή αυξημένης ποσότητας δεξαμενιζόμενου αίματος στην καρδιά, η οποία, σύμφωνα με το νόμο του Starling, αυξάνει τον όγκο παλμού. Η λυσित्रοπική δράση στο μυοκάρδιο επιταχύνει και διευκολύνει τη διαστολική χάλαση των κοιλιών και διευκολύνει την πλήρωσή τους. Η θετική ινότροπη ενέργεια επί του μυοκαρδίου αυξάνει το κλάσμα εξώθησης και επιτείνει την αύξηση του όγκου παλμού. Η θετική χρονότροπος φάση μαζί με την αύξηση του όγκου παλμού μεγιστοποιεί την καρδιακή παροχή. Η ορθή κατανομή της καρδιακής παροχής υπέρ των εντονότερα λειτουργούντων και μεταβολιζόντων οργάνων επιτυγχάνεται με συνδυασμό αγγειοσυσπαστικών και αγγειοδιασταλτικών δράσεων.

Όργανα που δεν λειτουργούν έντονα υφίστανται αγγειοσύσπαση μέσω της α-αδρενεργικής διέγερσης και εκτρέπουν το πλεονάζον γι' αυτά αίμα προς άλλες περιοχές. Αντίθετα, όργανα με έντονη δραστηριότητα, υπό την επίδραση των αθρόα παραγόμενων μεταβολικών παραγόντων και της τοπικής οξέωσης αναστέλλουν την ανταπόκριση των α-αδρενεργικών υποδοχέων, ενώ διατηρούν τη διασταλτική ενέργεια των β-αδρενεργικών υποδοχέων.

Σε περιπτώσεις κυκλοφοριακής ανεπάρκειας ή υπερδιέγερσης του συμπαθητικού προκαλείται γενικευμένη αγγειοσύσπαση, καθώς το σύστημα αυτό ενεργεί καταχρηστικά. Καταχρηστική διέγερση του συμπαθητικού συμβαίνει επίσης σε διάφορες νοσηρές καταστάσεις, δημιουργώντας λόγω της εκτεταμένης αγγειοσύσπασης ακόμη και ισχαιμία των οργάνων, διότι η μεγάλη αύξηση των αντιστάσεων ενδέχεται να υπερνικά τους μηχανισμούς αύξησης της καρδιακής παροχής.

Η υπερβολική δραστηριότητα του συμπαθητικού γίνεται υπαίτια βλαβών ιδιαίτερα από το καρδιαγγειακό σύστημα, με προεξάρχουσες την υπέρταση,

την καρδιακή υπερτροφία, τις καρδιακές αρρυθμίες και την εν καιρώ αναπτυσσόμενη καρδιακή ανεπάρκεια. Οι βλάβες αυτές σχετίζονται με τρεις μηχανισμούς (27):

### ***α-αδρενεργική διέγερση***

Η  $\alpha_1$ -αδρενεργική διέγερση συνδέεται με αγγειοσύσπαση και μείωση της ιστικής άρδευσης. Η αγγειοσύσπαση, όντας ισχυρότερη στα μετατριχοειδή φλεβίδια προκαλεί διίδρωση πλάσματος, αύξηση αιματοκρίτη ενδεικτική της αιμοσυμπύκνωσης και επιρρέπεια για θρομβώσεις. Η αγγειοσύσπαση αυτή οφείλεται στη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος η οποία προάγεται μέσω της διέγερσης του συστήματος της PLC (1,28-32).

Ιδιαίτερη σημασία έχει η νεφρική αγγειοσύσπαση, που είναι κατά πολύ ισχυρότερη των άλλων αγγειακών παροχών. Η  $\alpha_1$ -αδρενεργική διέγερση τόσο με αιμοδυναμικούς μηχανισμούς που σχετίζονται με την περισωληναριακή ισχαιμία και αύξηση της απορροφητικής ικανότητας των τριχοειδών που περιβάλλουν τα νεφρικά σωληνάρια όσο και με άμεση διέγερση του συστήματος  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  στα επιθήλια των εγγύς ουροφόρων σωληναρίων, μέσω της παραγωγής διακυλογλυκερόλης που προκαλεί, προάγει την αύξηση της επαναρόφησης  $\text{Na}^+$  και ύδατος. Επίσης, η  $\alpha_1$ -αδρενεργική διέγερση εξασκεί μέσω του συστήματος της διακυλογλυκερόλης αυξητική δράση, ιδιαίτερα στον μέσο χιτώνα των αρτηριών, προκαλώντας μετατροπή της αγγειοσυσπαστικής υπέρτασης σε τοιαύτη, οφειλόμενη σε κεντρομόλο υπερτροφία σε βάρος του αυλού του αγγείου. Με το μηχανισμό αυτό συμβάλλει στην υπερτροφία του μυοκαρδίου (33,34).

Σε μεταβολικό επίπεδο, η  $\alpha_1$ -αδρενεργική διέγερση προκαλώντας αγγειοσύσπαση στους μυς μειώνει τη διάθεση της γλυκόζης προς αυτούς, συμβάλλοντας έτσι στη δημιουργία αντίστασης στην ινσουλίνη (35,36).

Η  $\alpha_2$ -αδρενεργική διέγερση σε μετασυναπτικό επίπεδο, οφειλόμενη κυρίως στις κυκλοφορούσες κατεχολαμίνες, μετέχει των μηχανισμών που εκφράζονται κυρίως ως αποτέλεσμα της  $\alpha_1$ -αδρενεργικής διέγερσης. Είναι αξιοσημείωτο ότι επί χρόνιου αποκλεισμού των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων αυξάνεται ο αριθμός των μετασυναπτικών  $\alpha_2$ -αδρενεργικών υποδοχέων και εξουδετερώνεται μερικώς το αποτέλεσμα του αποκλεισμού αυτού. Πρέπει ακόμη να εξαρθεί ότι τα αιμοπετάλια διαθέτουν  $\alpha_2$ -αδρενεργικούς υποδοχείς και ότι η διέγερση αυτών των υποδοχέων τα ενεργοποιεί.

### ***β-αδρενεργική διέγερση***

Η  $\beta_1$ -αδρενεργική διέγερση αυξάνει σημαντικά την καρδιακή συχνότητα, είναι δε γνωστό ότι η συνεχής ταχυκαρδία αποτελεί παράγοντα φθοράς του μυοκαρδίου οδηγώντας επί ακραίων περιπτώσεων σε ταχυκαρδιομυοπάθεια, πιθανώς

επηρεάζοντας τις μιτοχονδριακές δραστηριότητες όπως και τις λειτουργίες και τη δομή του σαρκοπλασματικού δικτύου ως συνέπεια της αυξημένης διακίνησης του  $\text{Ca}^{2+}$ . Η δράση των  $\beta_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων εξασκείται μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς. Βασικό ρόλο σε αυτούς παίζει η ενεργοποίηση της PKA η οποία φωσφορυλιώνει πολλές πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη διακίνηση του  $\text{Ca}^{2+}$  (32).

Επίσης, η διέγερση των  $\beta_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων στο μυοκάρδιο προάγει δυσανάλογα προς το ύψος της αρτηριακής πίεσης την ανάπτυξη καρδιακής υπερτροφίας μέσω της κινητοποίησης αυξητικών μηχανισμών. Προάγει, ακόμη, την αρρυθμιογένεση ιδίως στο υπερτροφικό, καταπονημένο και ισχαιμικό μυοκάρδιο (28,37-39).

Η  $\beta_2$ -αδρενεργική διέγερση προάγει την αγγειοδιαστολή, διότι προκαλεί χάλαση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος μέσω της διέγερσης του συστήματος της AC. Παράλληλα, η  $\beta_2$ -αδρενεργική διέγερση ενισχύει τη θετική χρονότροπο, ινότροπο και βαθμότροπο δράση της  $\beta_1$ -αδρενεργικής διέγερσης στην καρδιά. Όταν μάλιστα, υπάρχει χρόνιος αποκλεισμός των  $\beta_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων, αυτοί υποκαθίστανται κατά ικανό ποσοστό από τους  $\beta_2$ -αδρενεργικούς υποδοχείς. Επίσης, η  $\beta_2$ -αδρενεργική διέγερση προάγει στο ήπαρ τη νεογλυκογένεση αλλά και τη γλυκογονόλυση, ενώ ταυτόχρονα μειώνει τη χρησιμοποίηση της γλυκόζης από το ήπαρ και τους μυς. Με τον τρόπο αυτό εξασκείται διαβητογόνο δράση. Ακόμη μετατρέπει τις γραμμωτές ίνες βραδείας αντίδρασης σε γραμμωτές ίνες ταχείας αντίδρασης που παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη (1,28,32,40-42).

Η διέγερση των  $\beta_3$ -αδρενεργικών υποδοχέων προκαλεί λιπόλυση, ιδίως στον κορμοκοιλιακό λιπώδη ιστό, και απελευθερώνει αθρόα ελεύθερα λιπαρά οξέα με αποτέλεσμα την αντίσταση στην ινσουλίνη και πολλαπλές επιπτώσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα, οι οποίες αναπτύσσονται σε άλλα κεφάλαια (43,44).

Συνοψίζοντας τη διαφορική ενέργεια της  $\beta$ -αδρενεργικής διέγερσης στο μυοκάρδιο και τις λείες μυϊκές ίνες, διαφοροποίηση που οφείλεται στην κινητοποίηση διαφορετικών μοριακών μηχανισμών, θα μπορούσαν να αναφερθούν τα εξής:

Η  $\beta$ -αδρενεργική διέγερση στο εργατικό μυοκάρδιο αυξάνει, μέσω της παραγωγής της cAMP, τον αριθμό των διαθέσιμων L-τύπου διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$ , με αποτέλεσμα κατά τη διάρκεια της διέγερσης να ενισχύεται το ρεύμα του εισερχόμενου  $\text{Ca}^{2+}$  και η διαθεσιμότητά του για την προσήλωση στην τροπομοσίνη C και την ενεργοποίηση της μυοσίνης. Παράλληλα, με τις κατάλληλες φωσφορυλιώσεις αυξάνεται η δραστηριότητα της MLCK και η ταχύτητα βηματισμού των κεφαλών της μυοσίνης επί της ακτίνης, άρα η ταχύτητα και η ένταση συστολής. Κατά τη φάση της διαστολής επισπεύδεται μέσω κατάλληλων φωσφορυλιώσεων η δέσμευση του  $\text{Ca}^{2+}$  (λυσιτροπισμός) στο σαρκοπλασματικό δίκτυο,

το οποίο φέροντας πλέον αυξημένο φορτίο  $\text{Ca}^{2+}$  απελευθερώνει μεγαλύτερη ποσότητα κατά την επόμενη συστολή.

Αντίθετα, στις λείες μυϊκές ίνες η  $\beta$ -αδρενεργική διέγερση οδηγεί, πάλι μέσω της παραγωγής της cAMP, σε φωσφορυλιώσεις που αφορούν μόνο τη δέσμευση του  $\text{Ca}^{2+}$  στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, από θέσεις του οποίου εγγύς της σαρκοπλασματικής μεμβράνης εκβάλλεται το  $\text{Ca}^{2+}$  στον μεσοκυττάριο χώρο και τοιουτοτρόπως δημιουργείται η τονική διαστολή.

Χαρακτηριστικός είναι ο πολυμορφισμός των  $\beta$ -αδρενεργικών υποδοχέων. Ο πολυμορφισμός των  $\beta$ -υποδοχέων επηρεάζει άλλοτε άλλως τη λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος στην κλινική πράξη. Ορισμένες φορές δημιουργεί προβλήματα τόσο με την εμφάνιση παθολογικών καταστάσεων όσο και με τη θεραπευτική αγωγή (5,45).

### **Οξειδωση των κατεχολαμινών**

Η έκλυση μεγάλων ποσοτήτων κατεχολαμινών δημιουργεί διάφορα προϊόντα οξειδωσης στους ιστούς, με αποτέλεσμα κυτταρικές βλάβες. Μεταξύ άλλων απελευθερώνονται το αδρενόχρωμα, η αδρενολουτίνη, η 5,6 διυδροξυ-1-μεθυλιδόνη που δημιουργείται επί υπάρξεως ισχαιμίας, το διμερές αδρενοχρώματος-αδρενολουτίνης, η ρεομελανίνη και, τέλος, οι πλέον τοξικές ελεύθερες ρίζες (27,46,47).

Η νοραδρεναλίνη, η αδρεναλίνη και η δοπαμίνη καταβολίζονται επίσης προς Ο-κινόνες των κατεχολαμινών ανοικτής αλύσου, οι οποίες συνδέονται προς αμινοξέα πρωτεϊνών φέροντα ομάδες  $-\text{SH}$ ,  $-\text{OH}$  και  $\text{NH}_2$ . Η σύνδεση αυτή προκαλεί αλλοίωση της λειτουργίας των πρωτεϊνών, η οποία έχει ιδιαίτερη σημασία προκειμένου για αλλοιώσεις πυρηνικών πρωτεϊνών (47).

### **Ισταμίνη**

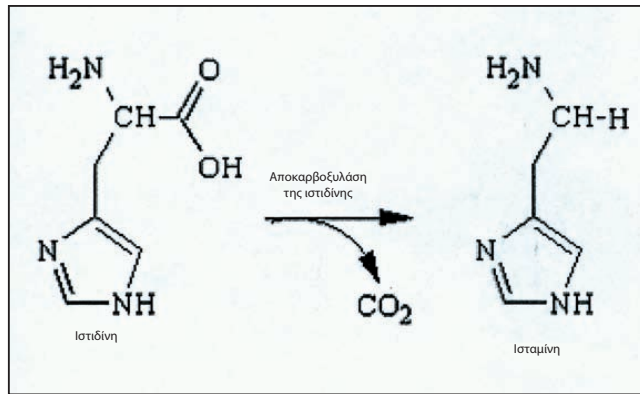
Πρόκειται για μια αμίνη η οποία σχηματίζεται με την αποκαρβοξυλίωση της ιστιδίνης. Ευρίσκεται προσχηματισμένη και αποθηκευμένη σε πολλά κύτταρα της φλεγμονής, όπως τα σιτευτικά κύτταρα και τα βασεόφιλα, και απελευθερώνεται με αποσάθρωση των κυττάρων αυτών μετά τη διέγερσή τους η οποία οδηγεί σε αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  σε αυτά. Πρόκειται για μία ιδιαίτερα αγγειοδραστική ουσία η οποία, μεταξύ άλλων, προκαλεί διαστολή των αγγείων και ιδιαίτερα των τριχοειδών και αύξηση της διαπερατότητάς τους λόγω σύσπασης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε αλλεργικές καταστάσεις απελευθερώνεται από τα κύτταρα αυτά και είναι υπεύθυνη για τα κυριότερα συμπτώματα που παρατηρούνται κατά τις αντιδράσεις αυτές. Επιπλέον, η απελευθέρωση της ισταμίνης είναι συνδεδεμένη με την εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης. Η ουσία αυτή αποτελεί βασικό παράγοντα ο οποίος συμμετέχει

στην εμφάνιση της τοπικής αγγειοδιαστολής και στην αύξηση της διαβατότητας του ενδοθηλίου μετά ιστική βλάβη (48,49)

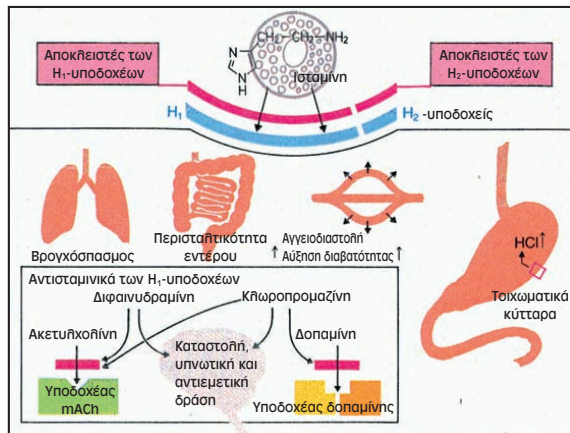
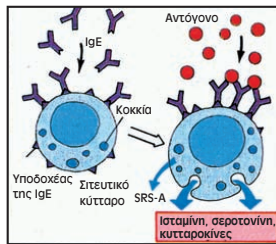
Η ισταμίνη ασκεί τις ενέργειές της μέσω των H- υποδοχέων της. Οι υποδοχείς αυτοί που ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων στόχων ανήκουν στην οικογένεια των επταδιαμεμβρανικών υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνες και διακρίνονται σε τέσσερις υποτύπους, τους H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub> και H<sub>4</sub>. Οι H<sub>1</sub>-υποδοχείς σχετίζονται με την εκδήλωση διαφόρων αλλεργικών εκδηλώσεων οι οποίες αντιμετωπίζονται με αντιισταμινικά φάρμακα πρώτης, δεύτερης και τρίτης γενιάς. Τα φάρμακα της δεύτερης γενιάς δεν προκαλούν τον ίδιο βαθμό καταστολής του ΚΝΣ σε σχέση με τα φάρμακα της πρώτης, ενώ εκείνα της τρίτης γενιάς παρουσιάζουν βελτιωμένες φαρμακοκινητικές παραμέτρους. Οι H<sub>2</sub>-υποδοχείς σχετίζονται με την έκκριση του γαστρικού υγρού και τα φάρμακα αποκλειστές των υποδοχέων αυτών χρησιμοποιούνται κυρίως στη θεραπευτική αγωγή του πεπτικού έλκους. Οι H<sub>3</sub>-υποδοχείς ευρίσκονται κυρίως στο ΚΝΣ, προάγουν τη διέγερση κέντρων που σχετίζονται με τον έμετο και τα φάρμακα αποκλειστές των υποδοχέων αυτών χρησιμοποιούνται στην καταστολή του εμέτου, κυρίως από τα αντικαρκινικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Τέλος, οι H<sub>4</sub>-υποδοχείς στα σιτευτικά κύτταρα και τα λευκοκύτταρα έχουν ρόλο στην εξέλιξη της φλεγμονής (50,51).

Η αγγειοδιαστολή διαμεσολαβείται τόσο μέσω των H<sub>1</sub>-υποδοχέων όσο και μέσω των H<sub>2</sub>-υποδοχέων. Οι H<sub>1</sub>-υποδοχείς έχουν μεγαλύτερη συγγένεια προς την ισταμίνη και η αγγειοδιαστολή την οποία προκαλούν είναι ταχεία και σύντομη. Εδράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και ασκούν την ενέργεια αυτή διεγείροντας την απελευθέρωση από αυτά αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως είναι το NO. Οι H<sub>2</sub>-υποδοχείς ευρίσκονται στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος και η δράση τους επέρχεται βραδέως και διαρκεί περισσότερο. Προκαλούν χάλαση των λείων μυϊκών ινών διεγείροντας το σύστημα της AC στην κυτταρική μεμβράνη των τελευταίων. Ακολουθεί η αύξηση της cAMP η οποία περνά στο κυτταρόπλασμα και προκαλεί ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup> με μηχανισμούς που έχουν ήδη περιγραφεί (48).

Παράλληλα, η ισταμίνη προκαλεί αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών λόγω της σύσπασης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Στην αύξηση της τριχοειδικής διαπερατότητας συνεπικουρείται και από τη θρομβοξάνη που συντίθεται και απελευθερώνεται τόσο από τα συρρέοντα αιμοπετάλια όσο και από τα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ουσία αυτή συσπά επίσης τα ενδοθηλιακά κύτταρα συμβάλλοντας στην αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Τις ενέργειες αυτές στα ενδοθηλιακά κύτταρα τις προκαλεί αυξάνοντας το ελεύθερο ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup> σε αυτά (48,49).



**Εικόνα 6.13. Σύνθεση της ισταμίνης.** Η ισταμίνη είναι προϊόν αποκαρβοξυλίωσης της ιστιδίνης. Η ουσία αυτή προάγει την αγγειοδιαστολή και την αύξηση της διαβατότητας του ενδοθηλίου. *Wikipedia-Internet, 2006*



**Εικόνα 6.14: Ισταμίνη. (άνω) Απελευθέρωση.** Υπό την επίδραση της ανοσοσφαιρίνης IgE, το σιτευτικό κύτταρο διεγείρεται και απελευθερώνει μεταξύ άλλων την ισταμίνη, τη σεροτονίνη, κυτταροκίνες και τη SRS-A (Slow Reacting Substance-A: Βραδέως αντιδρώσα ουσία-A). **(κάτω) Ενέργειες της ισταμίνης.** Στο επίπεδο του αγγειακού τοιχώματος, η ισταμίνη προάγει την αγγειοδιαστολή και αυξάνει τη διαβατότητα του ενδοθηλίου λόγω της σύσπασης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Όπου MACH (Μουσκαρινικός υποδοχέας της ακετυλοχολίνης).

*Despotopoulos A. Color Atlas of Physiology, 1991 - Lullman H. et al. Color Atlas of Pharmacology, 1993*



## 5- υδροξυτρυπταμίνη

Η 5- υδροξυτρυπταμίνη (5-HT) ή σεροτονίνη είναι μια ενδογενής αμίνη η οποία συντίθεται από την τρυπτοφάνη με τη δράση της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης. Η δράση της ασκείται μέσω των υποδοχέων της, οι οποίοι διακρίνονται σε διάφορους υποτύπους (52-55).

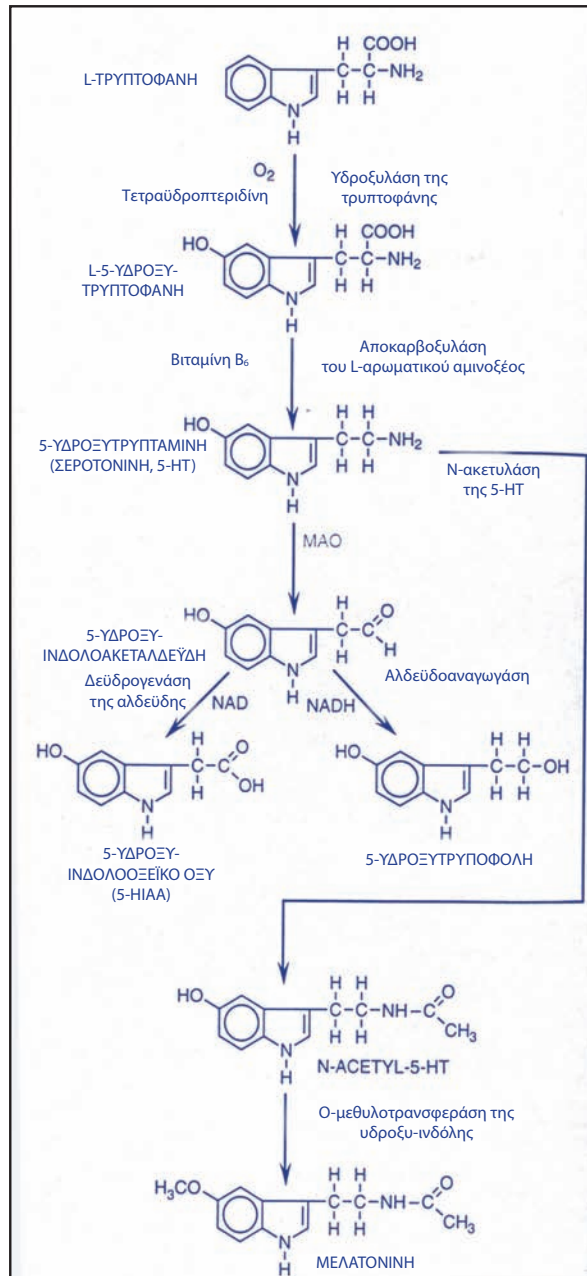
### *Περιφερειακοί υποδοχείς και αγγειοκινητικές δράσεις της σεροτονίνης*

Όπως και άλλοι νευρομεταβιβαστές ή χημικοί μεταβιβαστές, έτσι και η σεροτονίνη ενεργεί στα κύτταρα στόχους δεσμευόμενη σε ειδικούς υποδοχείς που χαρακτηρίζονται από ανομοιογένεια εντόπισης και λειτουργίας. Αποτέλεσμα της διαφοροποίησης αυτής είναι και οι φαρμακολογικές διαφορές μεταξύ τους που συνίστανται στην ικανότητα αποκλεισμού τους από διάφορα φάρμακα. Υποδοχείς που διεγείρονται από τη σεροτονίνη είναι αφενός οι ειδικοί σεροτονινεργικοί (5 ή 5-HT), αφετέρου οι αδρενεργικοί που συμπληρωματικά διεγείρονται από την ίδια ουσία.

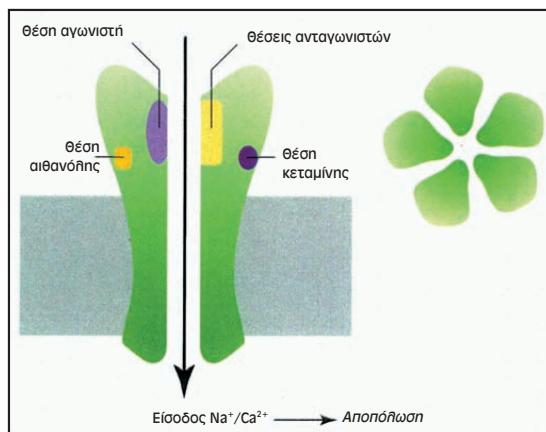
Οι ειδικοί σεροτονινεργικοί υποδοχείς ταξινομούνται σε τέσσερις τύπους. Πρόκειται για τους υποδοχείς 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> και HT<sub>4</sub>. Όλοι αυτοί οι υποτύποι υποδοχέων της σεροτονίνης συνδέονται με G-πρωτεΐνη. Οι 5-HT<sub>1</sub> υποδοχείς δεν είναι ενιαίοι, αλλά αποτελούν και αυτοί μια ετερογενή ομάδα καθώς χωρίζονται σε πέντε διαφορετικούς επιμέρους υποτύπους. Και οι πέντε αυτοί υποτύποι συνδέονται με το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης, το οποίο και διεγείρουν σχηματίζοντας την cAMP. Παράλληλα, ο υποτύπος σεροτονικού υποδοχέα 5-HT<sub>1A</sub> ενεργοποιεί τη διάνοξη των διαύλων του K<sup>+</sup> και δρα ανασταλτικά στη διάνοξη των δυναμικοευαίσθητων διαύλων POC (Potential Operating Channels) του Ca<sup>2+</sup>. Οι 5-HT<sub>2</sub> υποδοχείς δεν είναι και αυτοί ενιαίοι αλλά υποδιαιρούνται σε τρεις επί μέρους υποτύπους. Και οι τρεις αυτοί υποτύποι συνδέονται με το σύστημα της φωσφολιπάσης C το οποίο και διεγείρουν. Οι 5-HT<sub>3</sub> υποδοχείς αποτελούνται από έναν τύπο και η διέγερσή τους οδηγεί στη διάνοξη διαύλων ιόντων. Οι 5-HT<sub>4</sub> υποδοχείς αποτελούνται από διαφορετικούς υποτύπους και η διέγερσή τους οδηγεί στην ενεργοποίηση του συστήματος της αδενυλοκυκλάσης (52,55-62).

Σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει στο ΚΝΣ, στους περιφερειακούς ιστούς η πυκνότητα των υποδοχέων είναι πολύ χαμηλή. Παρόλα αυτά υπάρχουν πολλές αποδείξεις για τη λειτουργική σημασία τέτοιων υποδοχέων. Εκεί όπου είναι ευχερής η απόδειξη της παρουσίας υποδοχέων 5-HT είναι η μεμβράνη των αιμοπεταλίων (63).

Οι περιφερειακοί υποδοχείς 5-HT<sub>2</sub> εντοπίζονται στη μεμβράνη των λείων μυϊκών ινών των αγγείων και στα αιμοπετάλια. Η διέγερση των υποδοχέων αυτών προκαλεί στα αγγεία σύσπαση η οποία ασκείται παράλληλα και επαυξάνει



**Εικόνα 6.15. Σύνθεση και μεταβολισμός της 5-υδροξυτρυπταμίνης.** Η 5-υδροξυτρυπταμίνη (5-HT) ή σεροτονίνη είναι μια ενδογενής αμίνη η οποία συντίθεται από την τρυπτοφάνη με τη δράση της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης. Τελικό προϊόν μεταβολισμού της 5-HT είναι η μελατονίνη.  
 Brunton L.: Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics, 2006



Εικόνα 6.16. Δομή του 5-HT<sub>3</sub>- υποδοχέα της 5-HT.

*Trends Pharmacol. Sci., 1999*

την αγγειοσυσπαστική δράση των κατεχολαμινών και της αγγειοτασίνης II. Η αγγειοσυσπαστική δράση είναι ιδιαίτερα εμφανής στα αγγεία των σπλάγχνων και του εγκεφάλου. Η διέγερση των ίδιων υποδοχέων στα αιμοπετάλια προκαλεί τη συσώρευσή τους με αυτοκρινή και παρακρινή δράση. Τα αιμοπετάλια δεν είναι σε θέση να συνθέτουν τη σεροτονίνη, αλλά προσλαμβάνουν την κυκλοφορούσα στο αίμα και την εναποθηκεύουν (64-66).

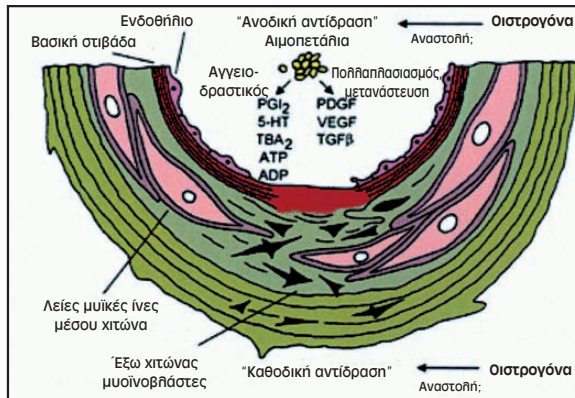
Οι υποδοχείς 5-HT<sub>1</sub> είναι ανασταλτικοί της αγγειοσυσπασσης ή αγγειοδιασταλτικοί. Εντοπίζονται σε διάφορες θέσεις όπου η διέγερσή τους, ποικιλοτρόπως, οδηγεί στο ίδιο αποτέλεσμα. Τέτοιοι υποδοχείς ευρίσκονται στη μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων και η διέγερσή τους οδηγεί στην απελευθέρωση του οξειδίου του αζώτου (NO) το οποίο διαχέεται προς τον μυϊκό χιτώνα και προκαλεί χάλαση. Όμοιοι υποδοχείς στα αδρενεργικά νεύρα αναστέλλουν την έκκριση της νοραδρεναλίνης (67).

Η 5-HT διεγείρει ακόμη τους α<sub>1</sub>-αδρενεργικούς μετασυναπτικούς υποδοχείς των λείων μυϊκών ινών των αγγείων προκαλώντας σύσπαση και τους β-αδρενεργικούς μετασυναπτικούς υποδοχείς των ίδιων με αντίθετο αποτέλεσμα. Η τελευταία ενέργεια είναι ιδιαίτερος έκδηλη στις εγκεφαλικές αρτηρίες (68).

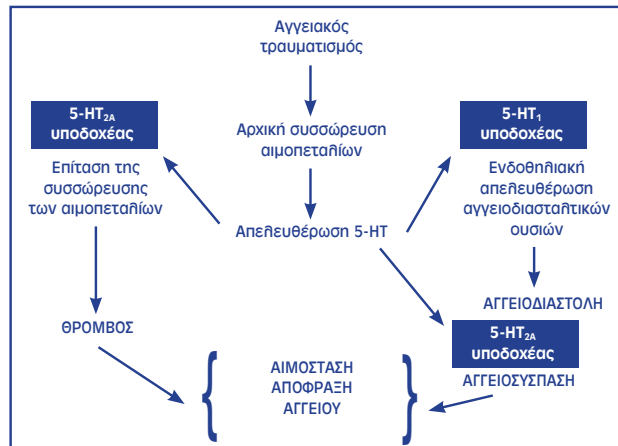
Ως εκ τούτου, η επίδραση της 5-HT στα αγγεία έχει επαμφοτερίζον ή κατά τις τοπικές συνθήκες εκλεκτικό αποτέλεσμα, διότι με τη δράση της σε αλληλοσυγκρουόμενους μηχανισμούς προκαλεί τόσο αγγειοσυσπασση όσο και αγγειοδιαστολή.

**Οι μηχανισμοί με τους οποίους προκαλείται αγγειοσυσπασση είναι οι ακόλουθοι:**

1) Διέγερση των 5-HT<sub>2</sub> υποδοχέων των λείων μυϊκών ινών (69,70).



**Εικόνα 6.17: Αγγειακή αντίδραση στον τραυματισμό.** Η 5-υδροξυτριπταμίνη (5-HT) ή σεροτονίνη είναι μεταξύ των ουσιών που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια κατά τον τραυματισμό του ενδοθηλίου. Όπου PGI<sub>2</sub> (Prostacyclin:Προστακυκλίνη), TBA<sub>2</sub> (Thomboxane: Θρομβοξάνη), ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη), ADP (Adenosine Diphosphate: Διφωσφορική αδενοσίνη), PDGF (Platelet Derived Growth Factor: Αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας), VEGF (Vascular Endothelium Growth Factor: Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας), TGFβ (Transforming Growth Factor β: Μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β).  
 Mayo Clinic College of Medicine. Google-Internet,2006



**Εικόνα 6.18: Σχηματική παράσταση της τοπικής δράσης της 5-HT των αιμοπεταλίων.** Η απελευθέρωση της εναποθηκευμένης στα αιμοπετάλια 5-HT αρχίζει με τη διέγερση αυτών. Η 5-HT ασκεί αυτοκρινή και παρακρινή δράση μέσω των υποδοχέων 5-HT<sub>2A</sub> στα αιμοπετάλια, προάγει τη σύσπασή τους και επιτείνει τη συσσώρευσή τους. Επίσης, μέσω των υποδοχέων 5-HT<sub>1</sub> στα ενδοθηλιακά κύτταρα προάγεται η απελευθέρωση αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, όπως είναι το NO και η προστακυκλίνη. Η διέγερση των υποδοχέων 5-HT<sub>2A</sub> στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος προάγει τη σύσπασή τους.  
 Hardman J, Librird L. (eds) " Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics" 2001

- 2) Ενίσχυση της δράσης άλλων κυκλοφορούντων αγγειοσυσπαστικών παραγόντων όπως είναι η νοραδρεναλίνη και η αγγειοτασίνη II (71).
- 3) Διέγερση των α-αδρενεργικών υποδοχέων των αγγειακών λείων μυϊκών ινών (70).
- 4) Απελευθέρωση με εκτόπιση άλλων ενδογενών αγγειοσυσπαστικών παραγόντων, και κυρίως της νοραδρεναλίνης, από τις απολήξεις του συμπαθητικού (72).
- 5) Απελευθέρωση αγγειοσυσπαστικού παράγοντα ενδοθηλιακής προέλευσης (73).

***Η αγγειοδιασταλτική δράση της 5-HT οφείλεται στους παρακάτω μηχανισμούς:***

- 1) Απελευθέρωση του αγγειοδιασταλτικού παράγοντα NO ενδοθηλιακής προέλευσης, όταν η 5-HT έχει ενδοαυλική προέλευση. Είναι αποτέλεσμα της διέγερσης των 5-HT<sub>1</sub>-υποδοχέων των ενδοθηλιακών κυττάρων (74).
- 2) Αναστολή της έκκρισης νοραδρεναλίνης από τις απολήξεις του συμπαθητικού μέσω της διέγερσης των 5-HT<sub>1</sub>-προσυναπτικών υποδοχέων (75-87). Με τον τρόπο αυτό ερμηνεύεται η εκδήλωση της αγγειοδιασταλτικής δράσης της 5-HT, όταν ο τόνος του συμπαθητικού είναι ήδη υψηλός (77).
- 3) Απελευθέρωση ανασταλτικών νευρομεταβιβαστών από πεπτιδεργικά νεύρα (78).
- 4) Άμεση αναστολή της σύσπασης των λείων μυϊκών ινών, όπως συμβαίνει με τη διέγερση των β-αδρενεργικών υποδοχέων (79).
- 5) Διέγερση παραγωγής της προστακυκλίνης (PGI<sub>2</sub>) στα ενδοθηλιακά κύτταρα (78).
- 6) Διέγερση των 5-HT<sub>3</sub> σεροτονινεργικών υποδοχέων (79).

Όταν η 5-HT ενίεται ενδοφλεβίως ή ενδοαρτηριακώς σε άθικτα πειραματόζωα προκαλεί είτε αγγειοσύσπαση είτε αγγειοδιαστολή. Κατά κανόνα η σύσπαση αφορά στις φλέβες, ενώ η διαστολή στις αρτηρίες και στα αρτηρίδια (80).

Στον άνθρωπο η ανταπόκριση της αρτηριακής πίεσης στην ενδοφλέβια χορήγηση 5-HT ακολουθεί τρεις διαδοχικές φάσεις. Η πρώτη φάση εκδηλώνεται με βραχείας διάρκειας πτώση της αρτηριακής πίεσης. Η πρώιμη αυτή κατασταλτική φάση είναι αποτέλεσμα διέγερσης του αντανακλαστικού Jurisch-Bezold που ξεκινά από χημειούποδοχείς της αριστεράς κοιλίας της καρδιάς. Ο ερεθισμός των χημειούποδοχέων από την 5-HT οδηγεί σε αναστολή του τόνου του συμπαθητικού και αύξηση του τόνου του παρασυμπαθητικού με αποτέλεσμα βραδυκαρδία, μείωση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου και πτώση των περιφερικών αντιστάσεων. Η δεύτερη φάση παρουσιάζεται με άνοδο της αρτηριακής πίεσης και είναι αποτέλεσμα άμεσης επίδρασης της 5-HT στα

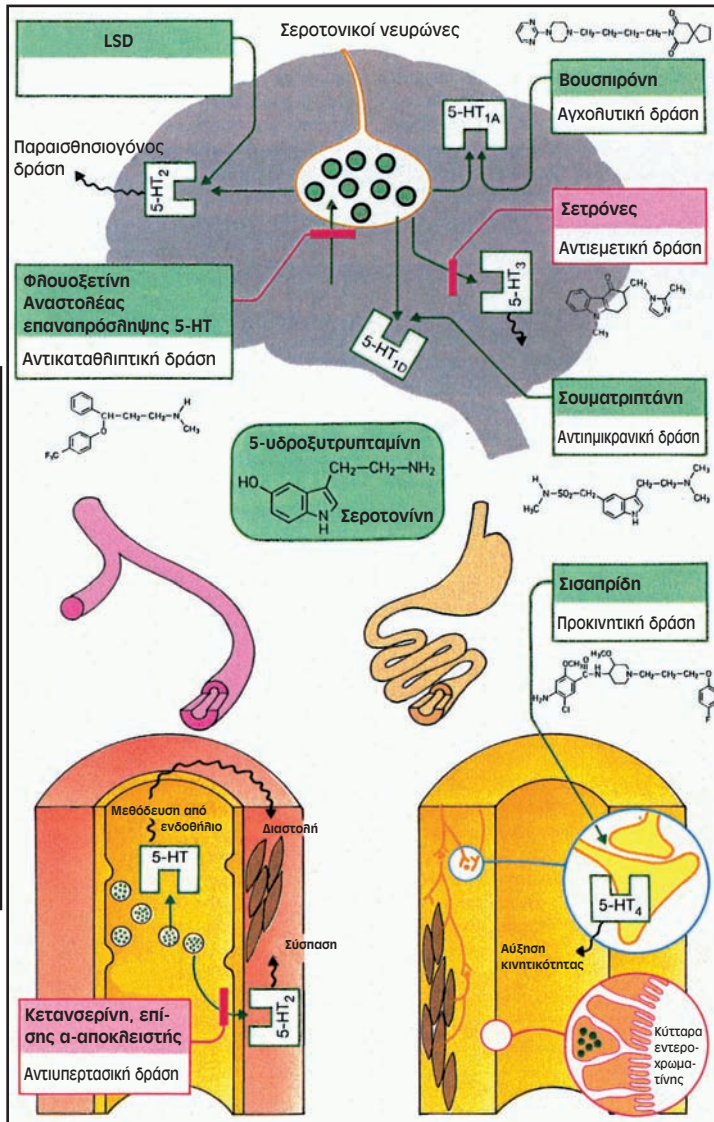
αγγεία και το μυοκάρδιο. Στα αγγεία υπερισχύουν οι αγγειοσυσπαστικοί μηχανισμοί, ενώ στην καρδιά, τόσο αμέσως όσο και εμμέσως δια της απελευθέρωσης νοραδρεναλίνης, εξασκείται θετική ινότροπη και χρονότροπη ενέργεια με συνέπεια την αύξηση της καρδιακής παροχής. Η τρίτη φάση που επέρχεται σε 1'-2' χαρακτηρίζεται από παρατεταμένη πτώση της αρτηριακής πίεσης λόγω υπερίσχυσης των αγγειοδιασταλτικών μηχανισμών, ιδιαίτερα στους σκελετικούς μυς (56).

Φυσιολογικά η 5-HT προκαλεί, ως συνισταμένη των ποικίλων δράσεων της, διαστολή των αρτηριδίων και ελαφρά σύσπαση των μεγάλων αρτηριών, αιμοδυναμικά ασήμαντη (80-82). Διαπιστώθηκε, όμως, σε πιθήκους ότι η φυσιολογική αγγειοδιασταλτική δράση της αναστρέφεται σε αρτηριοσυσπαστική, όταν οι αρτηρίες προσβληθούν από αθηροσκλήρωση. Η αγγειοσύσπαση είναι εντονότερη στις ελαστικού τύπου αρτηρίες που αποτελούν την κατ' εξοχή θέση όπου εγκαθίσταται η αθηροσκλήρωση και καθίσταται εξαιρετικά σημαντική αιμοδυναμικώς. Μόνη η υπερχοληστερολαιμία, αν δεν συνοδεύεται από αθηροσκλήρωση, δεν επηρεάζει τη δράση της 5-HT (83).

Σε αντίθεση με την 5-HT, η νοραδρεναλίνη συσπά εντονότερα τα αρτηρίδια, των οποίων η ευαισθησία πολλαπλασιάζεται επί υπερχοληστερολαιμίας (84,85). Το τελευταίο αποδίδεται στο γεγονός ότι η αύξηση της περιεκτικότητας της κυτταρικής μεμβράνης σε χοληστερόλη, αυξάνει τη διαπερατότητα της μεμβράνης σε κατιόντα, συμπεριλαμβανομένου του  $Ca^{++}$ , καθώς και τον αριθμό των κυτταρικών υποδοχέων για τους (αδρενεργικούς και σεροτονινεργικούς) χημικούς μεταβιβαστές (86-88). Η αθηροσκληρωτική διεργασία δεν αυξάνει την ανταπόκριση των αρτηριών στη νοραδρεναλίνη (89).

Πιστεύεται ότι η αυξημένη αγγειοσυσπαστική δράση της σεροτονίνης επί αθηροσκλήρωσης οφείλεται στο γεγονός ότι η δραστικότητα του αγγειοδιασταλτικού παράγοντα που εκκρίνεται από τα ενδοθήλια είναι μειωμένη, επειδή ο παράγοντας αυτός δεν έχει καλή πρόσβαση στις λείες μυϊκές ίνες του μέσου χιτώνα. Πράγματι, σε αθηροσκληρωτικές αρτηρίες που πάρθηκαν από πειραματόζωα διαπιστώθηκε ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα διατηρούν την ικανότητα παραγωγής και απελευθέρωσης του αγγειοδιασταλτικού παράγοντα, ο τελευταίος όμως δεν μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία του μυϊκού χιτώνα επειδή η αθηροσκληρωτική επεξεργασία εμποδίζει τη διάχυσή του (90-92).

Σε καταστάσεις υποξίας υπάρχει ένας συσχετισμός πολύπλοκων μηχανισμών που κινητοποιούνται από διάφορα αγγειοδραστικά πεπτίδια και την 5-HT που δρουν συνεργικά στην αύξηση του αγγειακού τόνου και κατ' επέκταση και της αρτηριακής πίεσης. Η απελευθερούμενη αδενοσίνη δρα ανασταλτικά στα φαινόμενα αυτά. (93-100).



**6.19: Ενέργειες της 5-υδροξυτρυπαμίνης.** Καταγράφονται οι ενέργειες της 5-υδροξυτρυπαμίνης (5-HT) ή σεροτονίνης σε διάφορες λειτουργίες, καθώς και τα φάρμακα που αποτελούν κλασικούς επί μέρους ανταγωνιστές. Ιδιαίτερα όσον αφορά το αγγειακό τοίχωμα, καταγράφονται η διέγερση της απελευθέρωσης αγγειοδιασταλτικών ουσιών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και η σύσπασση των λείων μυϊκών ινών του μέσου αγγειακού χιτώνα μέσω των 5-HT<sub>2</sub>-υποδοχέων. Επίσης καταγράφεται η σχέση των 5-HT<sub>1D</sub>-υποδοχέων με την ημικρανία. Το LSD (Lysergic acid Diethylamide: Διαιθυλαμίδιο του λυσεργικού οξέος) έχει δράση αγωνιστική. *Lullman H. et al. Color Atlas of Pharmacology, 1993*

## Αγγειοδραστικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις

Η καταστολή της περιφερικής δραστηριότητας του συμπαθητικού γίνεται κυρίως με τη χρήση φαρμάκων εκλεκτικών αποκλειστών των υποδοχέων των κατεχολαμινών. Η κεντρική καταστολή του ίδιου συστήματος δεν είναι ασύμβατη με την παράλληλη χορήγηση αποκλειστών των αδρενεργικών υποδοχέων, όταν η τελευταία κρίνεται αναγκαία για την εντονότερη, και ιδίως ισότιμη, καταστολή α και β αδρενεργικών εκδηλώσεων. Απεναντίας, η μείωση της ποσότητας των εκλυόμενων κατεχολαμινών επιτρέπει τη μείωση της δοσολογίας των αποκλειστών και επιπλέον προστατεύει από άλλες δραστηριότητες που δεν υφίστανται ανταγωνισμό από τον εκλεκτικό αποκλεισμό υποδοχέων. Η υπέρταση επί παχυσαρκίας και ο σακχαρώδης διαβήτης είναι ανάμεσα στις ενδείξεις (27).

Η α-μεθυλ-ντόπα η οποία μεταβολίζεται προς α-μεθυλ-3,4-διυδροξυφαινυλαλανίνη, διεγείρει τους ανασταλτικούς α<sub>2</sub>-αδρενεργικούς υποδοχείς στο ΚΝΣ και ασκεί αντιυπερτασική δράση. Η κλονιδίνη, αγωνιστής των α<sub>2</sub>-αδρενεργικών υποδοχέων στο ΚΝΣ, δρα ως αντιυπερτασικό φάρμακο. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες από την ουσία αυτή οφείλονται στο γεγονός ότι οι συγκεκριμένοι υποδοχείς εξυπηρετούν και άλλες λειτουργίες στο ΚΝΣ. Φάρμακα που δρουν κεντρικά, όπως οι αγωνιστές των ιμιδαζολιδικών ανασταλτικών υποδοχέων του συμπαθητικού, είναι καλύτερα ανεκτά.

Η κεντρική καταστολή του συμπαθητικού είναι επίσης συμβατή και συνεργεί με την αναστολή του συστήματος αγγειοτασίνης, η δε συνδυασμένη προσβολή των στόχων μερικές φορές αναμένεται ιδιαίτερα επωφελής. Ο συνδυασμός με αποκλειστές εισόδου του Ca<sup>2+</sup> είναι λίαν δόκιμος, όπως και εκείνος με διουρητικά φάρμακα. Εξίσου δόκιμοι είναι οι περισσότερο σύνθετοι συνδυασμοί σε περιπτώσεις που κρίνονται αναγκαίοι, ιδιαίτερα όταν οι ασθενείς είναι συνεργάσιμοι, δεδομένου ότι με τη χαμηλή δοσολογία ενός εκάστου των φαρμάκων εξασφαλίζεται δυναμική συνέργεια η οποία αυξάνει την αποτελεσματικότητα διότι αποκλείονται ταυτόχρονα πολλοί μηχανισμοί που τείνουν να εξασθενίσουν το θεραπευτικό αποτέλεσμα, ενώ παράλληλα ελαττώνονται οι ανεπιθύμητες ενέργειες.

Εντούτοις, με εξαίρεση τους β-αδρενεργικούς αποκλειστές που χρησιμοποιούνται ευρέως στην αντιυπερτασική αγωγή, τα φάρμακα που μιμούνται ή αποκλείουν τις αγγειοδραστικές ενέργειες των μονοαμινών έχουν μάλλον περιορισμένη χρήση.

Η αδρεναλίνη χρησιμοποιείται σε μεγάλη αραίωση σε σκευάσματα τοπικών αναισθητικών, ώστε να παρατείνει τη δράση τους λόγω του αγγειόσπασμου που προκαλεί μειώνοντας την απορρόφηση. Επίσης χρησιμοποιείται σε χειρουργικές επεμβάσεις στη μύτη, στο φάρυγγα και το λάρυγγα ώστε να περιορίσει την αιμορραγία και να εξασφαλίσει καλύτερο οπτικό και χειρουργικό πεδίο.



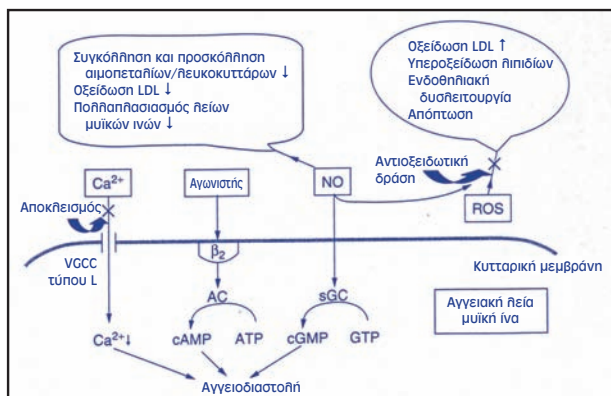
Η αγγειοσυσπαστική της δράση οφείλεται σε διέγερση των α-αδρενεργικών υποδοχέων. Για την αποσυμφόρηση του ρινικού βλεννογόνου χρησιμοποιείται η εφεδρίνη, ουσία η οποία προάγει την απελευθέρωση των κατεχολαμινών, και ο επιτυγχανόμενος αγγειόσπασμος οφείλεται πάλι σε διέγερση των α-αδρενεργικών υποδοχέων (1).

Η φαιτολαμίνη, αποκλειστής των α-αδρενεργικών υποδοχέων χρησιμοποιείται για τη βραχυπρόθεσμη αντιμετώπιση της υπέρτασης σε ασθενείς με φαιοχρωμοκύττωμα. Φάρμακα, όπως η πραζοσίνη, που είναι αποκλειστές των  $\alpha_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων έχουν ενδείξεις στην αντιμετώπιση του αγγειόσπασμου, όπως επί νόσου του Raynaud, και στην αντιυπερτασική θεραπεία.

Η μεθυσεργίδη η οποία είναι αποκλειστής των 5-HT<sub>2A</sub> και 5-HT<sub>2C</sub> υποδοχέων της 5-υδροξυτρυπταμίνης αναστέλλει τον αγγειόσπασμο και χρησιμοποιείται προφυλακτικά επί ημικρανίας (52).

Οι β-αδρενεργικοί αποκλειστές χρησιμοποιούνται ευρύτατα ως αντιυπερτασικά φάρμακα. Θεωρητικά, θα ανεμένετο ακριβώς το αντίθετο. Δηλαδή, αγγειόσπασμος και αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Είναι γνωστό, και έχει ήδη αναφερθεί, ότι το σύστημα της AC στις λείες μυϊκές ίνες και σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει στις καρδιακές μυϊκές ίνες, προάγει την απομάκρυνση του Ca<sup>2+</sup> από το κυτταρόπλασμα και οδηγεί στη μυϊκή χάλαση. Ως εκ τούτου, ο αποκλεισμός των β-αδρενεργικών υποδοχέων που κινητοποιούν το σύστημα της AC δίνει τη δυνατότητα να υπερισχύσει η διέγερση των α-αδρενεργικών υποδοχέων που διεγείρουν το σύστημα της PLC το οποίο προάγει τον αγγειόσπασμο. Εντούτοις, σε κλινικό επίπεδο υπάρχει αντιυπερτασική δράση από τα φάρμακα αυτά. Αυτό οφείλεται στην υπερίσχυση ενός συνόλου μοριακών μηχανισμών που οδηγούν σε ελάττωση της αρτηριακής πίεσης. Οι κυριότεροι από αυτούς είναι η ελάττωση του καρδιακού ρυθμού και της αντίστοιχης παροχής αίματος, η αρνητική παρέμβαση στο σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης αλδοστερόνης και μάλιστα αρχικά στο επίπεδο της ρενίνης, η αύξηση του κοιλιακού νατριουρητικού πεπτιδίου (ANP) και η καταστολή του ΚΝΣ και κατ' επέκταση η κεντρική καταστολή του συμπαθητικού (1,101,102).

Σήμερα κυκλοφορούν φάρμακα διαφόρων γενεών β-αδρενεργικών αποκλειστών που παρέχουν τη δυνατότητα επιλογών. Οι κυριότερες κατηγορίες είναι αυτά που αποκλείουν συλλήβδην όλους τους β-υποδοχείς όπως η προπρανολόλη, αυτά που αποκλείουν τους β<sub>1</sub>-αδρενεργικούς υποδοχείς όπως η μετοπρολόλη και η βισοπρολόλη, αυτά που αποκλείουν τους β-αδρενεργικούς υποδοχείς και έχουν ενδογενή συμπαθητικομιμητική δράση όπως η πινδολόλη, αυτά που δρουν ως β<sub>1</sub>-αποκλειστές και β<sub>2</sub>-αγωνιστές όπως η σελιπρολόλη, αυτά που δρουν ως α<sub>1</sub> και β-αδρενεργικοί αποκλειστές όπως η καρβεδιλόλη και αυτά που δρουν ως β<sub>1</sub>-αδρενεργικοί αποκλειστές και απελευθερώνουν NO όπως η νεπιβολόλη (1,101).



**Εικόνα 6.20:** Επί μέρους μηχανισμοί των αγγειοδιασταλτικών β-αδρενεργικών αποκλειστών. Όπου ROS (Reactive Oxygen Species: Ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες), VGCC (Voltage Gated Calcium Channel: Δυναμικοευαίσθητος διάυλος  $\text{Ca}^{2+}$ ), AC (Adenylate cyclase: Αδενυλοκυκλάση), cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη), ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη), sGC (soluble Guanylate cyclase: διαλυτή γουανυλοκυκλάση), GTP (Guanine Triphosphate: Τριφωσφορική γουανοσίνη), cGMP (cyclic Guanine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη), NO (Nitric Oxide: Οξείδιο του αζώτου).  
*Brunton L.: Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of Therapeutics, 2006*

Δεν πρέπει να λησμονείται ότι οι β-αδρενεργικοί αποκλειστές χρησιμοποιούνται και ως αντισπασμωδικά φάρμακα επί στηθάγχης διότι ελαττώνουν το καρδιακό έργο, καθώς και ως αντιαρρυθμικά φάρμακα. Αποτελούν την κατηγορία II των αντιαρρυθμικών φαρμάκων και ελαττώνουν την εκπόλωση της φάσης 4 καταστέλλοντας έτσι τον αυτοματισμό. Μειώνουν τη φόρτιση των μυοκαρδιακών κυττάρων με  $\text{Ca}^{2+}$  και κατά συνέπεια τον πυροδοτούμενο αυτοματισμό, παρατείνουν την κολποκοιλιακή αγωγή και μειώνουν τη φλεβοκομβική καρδιακή συχνότητα και τη συσταλτικότητα (103,104).

Η επιτευχθείσα χαρτογράφηση του γονιδιώματος και οι έρευνες που γίνονται στο επίπεδο των πολυμορφισμών πιστεύεται ότι θα δώσουν λύσεις και στα όσα προβλήματα παρουσιάζονται από τον πολυμορφισμό των β-αδρενεργικών υποδοχέων.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Westfall T., Westfall D.: Neurotransmission. The autonomic and somatic nervous systems. In: Brunton L. et al (eds) " Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics" McGraw-Hill, New York pp 136-200,2006
2. Despotopoulos A., Silbernagl S.: Color Atlas of Physiology. Georg Thieme Verlag, New York, 1991
3. Παραδέλλης Α.: Κλινική Φαρμακολογία. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 1992
4. Buscher R., Hermann V., Insel p.: Human adrenoceptor polymorphisms. Evolving recognition of clinical importance. Trends Pharmacol. Sci. 20:94-99,1999
5. Krause D., Purdy R., Pearce J., Duckles S.: Vascular neuroeffector mechanisms. The next 30 years. Trends Pharmacol. Sci 23:541-542,2002
6. Miller G., Gainetdinov R., Levey A., Caron M.: Dopamine transporters and neuronal injury. Trends Pharmacol. Sci. 20:424-429,1999
7. Gainetdinov R., Sotnikova T., Caron M.: Monoamine transporter pharmacology and mutant mice. Trends Pharmacol. Sci. 23:367-373, 2002
8. Misu Y., Goshima Y., Miyamae T.: Is DPA a neurotransmitter? Trends Pharmacol. Sci. 23:262-268,2002
9. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 2003
10. Κόκκας Β., Μισσοπούλου-Κόκκα Α., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Άλφα αδρενεργικοί υποδοχείς και αντιυπερτασικά φάρμακα. Αρτηριακή Υπέρταση 1:193-200,1992
11. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Μηχανισμοί διέγερσης και απευαισθητοποίησης των κυτταρικών υποδοχέων που είναι συνδεδεμένοι με πρωτεΐνη G. Αρτηριακή Υπέρταση 5:69-75,1996
12. Gauthier C., Langin D., Balligand J.L.: adrenoceptors in the cardiovascular system. Trends Pharmacol. Sci. 21:426-431-167,2000
13. Molenaar P., Parsonage W.: Fundamental consideration of  $\beta$ -adrenoceptor subtypes in human heart failure. Trends Pharmacol. Sci. 26:368-375, 2005
14. Brown M., Doilery C.: A specific radioenzymatic assay for hydroxyphenylalanine (DOPA). Plasma dopa may be the precursor of urine free dopamine. Br. J. Clin. Pharmacol. 11:79-83,1981
15. Ball S., Lee M.: The effect of carbidopa administration on urinary sodium excretion in man. Is dopamine an intrarenal natriuretic hormone? Br. J. Clin. Pharmacol. 4:115-119,1977
16. Ball S., Gunn I., Douglas I.: Renal handling of dopa, dopamine, norepinephrine, and epinephrine in the dog. Am. J. Physiol. 242:F56-F62, 1982
17. Williams M., Young J., Rosa R., Gunn S.: Effect of protein ingestion on urinary

- dopamine excretion. Evidence for the functional importance of renal decarboxylation of circulating 3,4-dihydroxyphenylalanine in man. *J. Clin. Invest.* 78:1687-1693,1986
18. agere J., Wahbe F., Wienmeyer A., Richet G.: Dopamine in rat kidney slices-its production and its histofluorescent localization. *Contrib. Nephrol.* 49:140-144, 1985
  19. Baines A., Drangova R.: Dopamine production by the isolated perfused rat kidney. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62:272-276,1984
  20. Baines A., Chan W.: Production of urine free dopamine from DOPA; a microscopic study. *Life Sci.* 26:253-259,1980
  21. Jeffrey R., Macdonald T., Rutter M., Freestone S.: The effect of intravenous furosemide on urine dopamine in normal volunteers. Studies with indomethacin and carbidopa. *Clin. Sci.* 73:151- 157,1987
  22. Wyss M., Oparil S., Chen Y-F.: Role of central nervous system. In: Laragh J. and Brenner B. (eds) "Hypertension Pathophysiology Diagnosis and Management". 1<sup>nd</sup> Ed, Raven Press, New York 1990, 679-701
  23. M. Esler: The sympathetic nervous system and catecholamine release and plasma clearance in normal blood pressure control in aging and in hypertension. In: Laragh J. and Brenner B. (eds) "Hypertension Pathophysiology Diagnosis and Management". 2<sup>nd</sup> Ed, Raven Press, New York 1995, 795-773
  24. Alexander R., Gill J., Yamabe H., Lovenberg W.: Effects of dietary sodium and of acute saline infusion on the inter-relationship between dopamine excretion and adrenergic activity in man. *J. Clin. Invest.* 54:194-200,1974
  25. Yoshimura M., Kambara S., Takahashi H.: Involvement of dopamine in development of hypertension in spontaneously hypertensive rat. Effect of carbidopa, inhibitor of peripheral DOPA decarboxylase. *Clin. Exp. Hypertens.* A9:1585-1599, 1987
  26. Sowers J., Crane P., Beck F., McClanahan M.: Relationship between urinary dopamine production and natriuresis after acute intravascular volume expansion with sodium chloride in dog. *Endocrinology* 115:2085-2090,1984
  27. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Κόκκας Β: Αρτηριακή υπέρταση και συμπαθητικό. *Αρτηριακή Υπέρταση* 5: 9-18,1996
  28. Palatini P., Julius S.: Heart rate and the cardiovascular risk. *J. Hypertens.* 15:3-18, 1997
  29. Julius S., Pascual A., Reilly K., London R.: Abnormalities of plasma volume in borderline hypertension. *Arch. Intern. Med.* 127:116-119,1971
  30. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ.: Ο ρόλος των κατεχολαμινών στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου και την συμπεριφορά των αιμοπεταλίων. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 5: 229-236,1987
  31. Klabunde R.: Beta adrenoceptor antagonists. *Cardiovascular Pharmacology Concepts.* Google-Internet,2006

32. Milligan G., White J.: Protein-protein interactions at G-protein coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 513-518,2001
33. Hain M., Heistad D., Brody M.: Effect of chronic hypertension and sympathetic denervation on wall/lumen ration of cerebral vessels. *Hypertension* 2:419-428,1980
34. Simpson P.: Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultural rat myocardial cells is an alpha-1 adrenergic response. *J. Clin. Invest.* 72:732-738,1983
35. Stern M., Morales P., Haffner S., Valdez R.: Hyperdynamic circulation and the resistance syndrome (syndrome X). *Hypertension* 20:802-808,1992
36. Jamerson K., Julius S., Gudbandsson T., Andersson O.: Reflex sympathetic activation induces acute insulin resistance in the human forearm. *Hypertension* 21:618-623,1992
37. Jamersson K., Smith S., Amerena J.: Vasoconstriction with norepinephrine causes less forearm insulin resistance than reflex sympathetic vasoconstriction. *Hypertension* 23:1006-1011,1994
38. Victor R., Mark A.: The sympathetic system in human hypertension. In: Laragh J., Brenner B. (eds) "Hypertension". Raven Press, New York pp 863-878,1995
39. Albert N.: Heart failure. The physiologic basis of current therapeutic concepts. *Crit. Care Nurse.* 19: No3,1999
40. Deinbert D., De Fronzo R.: Epinephrine-induced insulin resistance in man. *J. Clin. Invest.* 65:717-721,1980
41. Zerman R., Ludemann R., Easton T., Ethnger J.: Slow to fast alteration in skeletal muscle fibers caused by clenbuterol, a beta-2- receptor agonist. *Am. J. Physiol.* 254:F726-F732,1988
42. Schwartz T., Ijzerman A.: Principles of agonism. Undressing efficacy. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:433-436, 1998
43. Lafontan M., Berlan M.: Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:276-282,2003
44. Emorine L. et al.: The human  $\beta_3$  - adrenoceptor. The search for a physiological function. *Trends Pharmacol. Sci.* 15:3-7, 1994
45. Κόκκας Β.: Γενετικός πολυμορφισμός και φάρμακα. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 15:157-166,1997
46. O' Connor D.: Chromaffin cell mechanisms. Understanding catecholamine storage and release. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:431-432,1999
47. Dhall N., Yates J., Naimark B.: Cardiotoxicity of cathcholamines and related agents. In: Acosta D. (ed) " Cardiovascular Toxicology". Raven Press, New York pp 239-282,1992
48. Brown N., Roberts L.J.: Histamine, bradykinin, and their antagonists. In Hardman J. et al: (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". P. 1649, McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York, pp 645-667, 2001
49. Morrow J., Roberts J.K.: Lipid-derived autocooids. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilmans. The Pharmacological Basis of Therapeutics".

- McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp 669-685, 2001
50. Lindsay B. Hough: Genomics meets histamine receptors: New subtypes, new receptors. *Mol Pharm* Vol. 59, Issue 3, 415-419, March 2001.
  51. De Esch I., Thurmond R., Jongejan A., Leurs R.: The histamine H<sub>4</sub> receptor as a new therapeutic target for inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:462-469,2005
  52. Sanders-Bush E., Mayer S.: 5-hydroxytryptamine (serotonin): Receptor agonists and antagonists. In: Hardman J., Librird L. (eds) " Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics" McGraw-Hill, New York pp269-290,2001
  53. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ.: Περιφερικοί υποδοχείς και αγγειοκινητικές δράσεις της σεροτονίνης. *Αρτηριακή Υπέρταση*. Φ17:3-5,1986
  54. Murphy D., Wichems C., Li O., Heils A.: Molecular manipulations as tools for enhancing our undersanding of 5-HT neurotransmission. *Trends Pharmacol. Sci.*20:246-252,1999
  55. Breckenridge A.: Ketanserin.: A new Antihypertensive Agent. *J. Hypert.4* (Suppl 1): S 13-S16,1986
  56. Gordin A, Saraste K, Turanlahti M, Sundberg S.: Comparison of ketanserin and pindolol in hypertension. *J. hypert.* 4 (Suppl.1): S61-S62,1986
  57. Van Nueten J, Leysen J., Schuurkes J., Vanhoutte P. Ketanserin.*Lancet* 1:297-298,1983
  58. Wenting G., Woittiez A., Schalekamp MADH: 5-HT, alpha adrenoceptors and blood pressure. *Hypertension* 6:100-109,1984
  59. Reimann I., Frolich J.: Mechanism of antihypertensive action of ketanserin in man. *Br. Med. J.*287:381-383,1983.
  60. Fagard R., Fiocchi R.: Haemodynamic and humoral responses to chronic ketanserin treatment in essential hypertension. *Br. HeartJ.* 51:149-156,1984
  61. Tranzer JP, Daprada M, Pletcher A.: Ultra-structural localization of 5-HT blood platelets. *Nature* 212: 1574-1575,1966
  62. VanHoof J., Yakel J.:5-HT<sub>3</sub> receptors in the CNS. 3B or not 3B? *Trends Pharmacol. Sci.* 24:157-160,2003
  63. Crawlord N.: Plasma free serotonin. *Clin, Chim. Acta* 8:39-45,1963
  64. Rane A, Wilkminson G, Shand D.: Prediction of hepatic extractions ratio from in vitro measurement of intrinsic clearance. *J. Pharm. Exp. Ther.*200:420-424,1977
  65. Borne R.: Serotonin. The neurotransmitter of the " 90s. Google-Internet,1994
  66. Faraee M., Panjehashalin M., Owji M.: Serotonin levels in plasma and platelets of cyclosporine treated rats. *Int. J. Med.* 23:89-93,1998
  67. Humbert P.: Physiology of pulmonary arterial hypertension. Cellular and molecular aspects. *Presse Med.* 34:232-242,2005
  68. Kamal I, Quan-Bui K., Meyer P.: Decreased uptake of H3 serotonin and endogenous content of serotonin in blood platelets in hypertensive patients.

- Hypertension 6:568-573,1984
69. Dzurik A., Fetkovska N., Brimichova G., Tison P.: Blood pressure, 5'OH indole acetic acid and vanilmandelic acid excretion and blood platelet aggregation in hypertensive patients treated with ketanserin. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 7 (Suppl.7): 29-31,1985
  70. Roth A., Wallace K.: Disposition of biogenic amines and angiotensin I by lungs of spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 239: H 736-H 761,1980
  71. Collis M., De Mey C., Vanhoutte P.: Renal vascular reactivity in the young spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 2:45-52,1979
  72. De Mey C., Vanhoutte P.: Effect of age and spontaneous hypertension on the tachyphylaxis to 5-hydroxytryptamine and angiotensin II in the isolated rat kidney. *Hypertension* 3:718-724,1981
  73. Van Nueten J., Janseen P., De Rider W., Vanhoutte P.: Interaction between 5-HT and other vasoconstrictor substances in the isolated femoral artery of the rabbit. *Eur. J. Pharmacol.* 77:281-287,1982
  74. Holmsen H.: Platelet secretion. In: Vargaftiv B. (ed) "Advances in Pharmacology and Therapeutics". Pergamon Press, Oxford pp 97-109,1979
  75. McGrath M., Shepherd J.: Histamine and 5-Hydroxytryptamine. Inhibition of transmitter release mediated by H<sub>2</sub> and 5-HT receptors. *Fed. Proc.* 37:195-198,1977
  76. Engel G., Gothert M., Muller-Schweinitzer E.: Evidence for common pharmacological properties of ( <sup>3</sup>H) 5-Hydroxytryptamine binding sites, presynaptic 5-Hydroxytryptamine autoreceptors in CNS and inhibitory presynaptic 5-Hydroxytryptamine receptors of sympathetic nerves. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 324:116-124,1983
  77. Haddy F., Godron M., Emanuel O.: The influence of tone upon responses of small and large vessels to serotonin. *Circ Res.* 7:123-130,1959
  78. Van Nueten J., Vanhoutte P.: Serotonin and vascular function. *Clin. Anaesthesiol.* 1:363-381,1984
  79. Edvinsson I., Hogestatt E., Mackenzie E.: 5-Hydroxytryptamine and the cerebral circulation. In: Bevan J. et al. (ed) "Vascular Neuroeffector Mechanisms". Raven Press, New York pp 251-258,1983
  80. Vanhoutte P.M.: Peripheral serotonergic receptors and hypertension. In: Vanhoutte P.M. (ed) "Serotonin and the Cardiovascular System". Raven Press, New York pp 123-133,1955
  81. Haddy F., Gordon M., Emanuel O.: The influence of tone upon responses of small and large vessels to serotonin. *Circ. Res.* 1959,7, 113.120
  82. McCubbin J., Kaneko Y., Page I.: Inhibition of neurogenic vasoconstriction by serotonin. Vasodilator action of serotonin. *Circ. Res.* 11:74-83,1962
  83. Heistad D., Armstrong M., Marcus M.: Augmentation of vasoconstrictor responses to serotonin in arteriosclerotic monkeys. *Proc. Eur. Soc. Hypertens. (Milan)* 1: 183 (Abs),1983

84. Haddy F., Fleishman M., Emanuel D.: Effects of epinephrine, norepinephrine and serotonin upon systemic small and large vessel resistance. *Circ. Res.* 5:247-251,1957
85. Abboud F.: Vascular responses to norepinephrine, angiotensin, vasopressin and serotonin. *Fed. Proc.* 27:1391-1395,1968
86. Willey J., Cooper A.: Inhibition of cation contransport by cholesterol attachment of human red cell membranes. *Biochem. Biophys. Acta* 413:425-431,1975
87. Yokoyama M., Hery P.: Sensitization of isolated canine coronary arteries to calcium ions after exposure to cholesterol. *Circ. Res.* 45:479-486,1979
88. Heistal D., Armstrong M., Markus M.: Potentiation of vasoconstrictor responses to serotonin in the limb of atherosclerotic monkeys. *J. Hypert.* 4: (Suppl.1): 517-521,1986
89. Coene M., Herman A., Jordaens F., Verbeuren T., Zonnekeyn I.: Endothelium-dependent relaxations in isolated arteries of control and hypercholesterolaemic rabbits. *Br. J. Pharmacol.* 85:267,1985
90. Freiman P., Orgren K., Armstrong M.: Atherosclerosis alters endothelial dependent vasodilation to acetylcholine and thrombin. *Fed. Proc.* 44:523 (Abs),1985
91. Vanhoutte PM.: 5-Hydroxytryptamine and vascular disease. *Fed. Proc.* 42:233-237,1983
92. Nanda V., Henry P.: Increased serotonergic and alpha adrenergic receptors in aortas from rabbits led a high cholesterol diet. *Clin. Res.* 30: 209 A (Abs),1982
93. MacLean M.: Pulmonary hypertension, anorexigens and 5-HT. *Pharmacological synergism in action. Trends Pharmacol. Sci.* 20:490-495,1999
94. Gillis C, Pitt B.: The fate of circulating amines within the pulmonary circulation. *Annu. Rev. Physiol.* 44:269-281,1982
95. Pitt B., Hammond G, Gillis C.: Comparison of pulmonary and extra pulmonary extraction of biogenic amines. *J. Appl. Physiol.* 52:1545-1551,1982
96. Saxena P., Villalon C.: Cardiovascular effects of serotonin agonists and antagonists. *J. Cardiovascular Pharmacol.* 7 (Suppl. 15): S17-S34, 1990
97. Ware J., Heistad D.: Platelet-endothelium interactions. *N. Engl. J. Med.* 328:628-635,1993
98. McGregor D., Smirk F.: Vascular responses to 5-hydroxytryptamine in genetic and renal hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 219:687-690,1970
99. Nyce J.: Insight into adenosine receptor function using antisense and gene-knockout approaches. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:79-83,1999
100. Κόκκας Β.: Ο ρόλος της σεροτονίνης στη ρύθμιση του τόνου των αγγείων και στη παραγωγή προστακυκλίνης. *Επιστ. Επετηρ. Ιατρ.Σχολ. Α.Π.Θ.* 17:227-235,1988
101. Hoffman B.: Therapy of hypertension. In: Brunton L. (ed ). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw - Hill Med. Publ. Comp., New York pp 845-868, 2006



102. Hoffman B., Taylor P.: Neurotransmission. In: Hardman J. et al (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw - Hill Med Publ. Comp., New York pp 115-153, 2001
103. Roden D.: Antiarrhythmic drugs. In: Brunton L. (ed). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw - Hill Med. Publ. Comp., New York pp 899-932, 2006
104. Michel T.: Treatment of myocardial ischemia. In: Brunton L. (ed). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw - Hill Med. Publ. Comp., New York pp 823-844, 2006



## ΕΒΔΟΜΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΠΟΥΡΙΝΙΚΑ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΑΚΟΣ ΤΟΝΟΣ

Β. Α. Κόκκας και Κ. Λ. Παπαδόπουλος  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Β' Καρδιολογική Κλινική Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Τα πουρινικά νουκλεοτίδια συμμετέχουν σε πολλαπλές βιολογικές δράσεις, δεδομένου ότι αποτελούν πηγές υψηλής ενέργειας. Παράλληλα, συμμετέχουν στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου δρώντας μέσω υποδοχέων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τις λείες μυϊκές ίνες, τόσο τα ίδια όσο και τα προϊόντα διάσπασής τους. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η προστατευτική δράση της αδενοσίνης, προϊόντος διάσπασης της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), σε ισχαιμικές καταστάσεις και ο αγγειοδραστικός ρόλος της ATP στη ρύθμιση διαύλων του καλίου που εξαρτώνται από αυτήν.*

#### Εισαγωγή

Οι ετεροκυκλικές βάσεις των πουρινών και των πυριμιδινών αποτελούν τα μητρικά μόρια των νουκλεοτιδίων και των νουκλεοσιδίων. Τα νουκλεοτίδια συμμετέχουν σε πολυάριθμες βιολογικές και γενετικές δράσεις με προεξάρχοντα το ρόλο των πουρινών και των πυριμιδινών στη σύνθεση του DNA και του RNA. Τα πουρινικά νουκλεοτίδια, όμως, έχουν και πολλαπλές βιολογικές δράσεις, δεδομένου ότι αποτελούν πηγές υψηλής ενέργειας. Η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP: Adenosine Triphosphate) και η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP: Adenosine Diphosphate), καθώς και η κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP: cyclic Adenosine Monophosphate) και η κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP: cyclic Guanosine Monophosphate) λειτουργούν ως πυροδοτούντα μόρια, ενώ η ATP συμμετέχει ως τμήμα των συνενζύμων  $FAD^+$ ,  $NAD^+$  και  $NADP^+$ .

Τα πυριμιδικά, επίσης, παράγωγα, εκτός της συμμετοχής τους στη δόμηση των νουκλεϊνικών οξέων, παράλληλα χρησιμεύουν ως ενδιάμεσοι φορείς ενέργειας. Χαρακτηριστικά είναι τα παραδείγματα της UDP-γλυκόζης (Uridino Diphosphate-glucose) και της UDP-γαλακτόζης (Uridino Diphosphate Galactose) στο μεταβολισμό των υδατανθράκων και της CDP-ακυλγλυκερόλης (Cytosine Diphosphate acylglycerol) στη βιοσύνθεση των λιπιδίων (1-4).

Στο κείμενο που ακολουθεί γίνεται η προσπάθεια να παρουσιαστούν οι επιδράσεις των πουρινικών νουκλεοτιδίων στη λειτουργία του αγγειακού τοιχώματος.

### **Εξωκυτταρικά νουκλεοτίδια και αδενοσίνη**

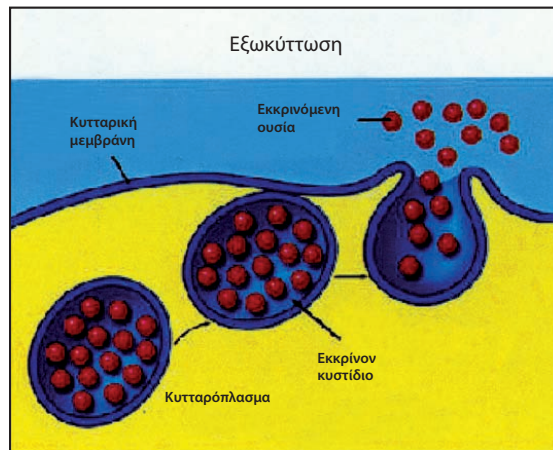
Η ATP είναι ένα πουρινικό νουκλεοτίδιο το οποίο υπάρχει τόσο στον εξωκυττάριο όσο και στον ενδοκυττάριο χώρο. Στον πρώτο απαντά σε συγκεντρώσεις της τάξης των mM ενώ στον δεύτερο η συγκέντρωσή του κυμαίνεται από nM έως mM. Υπό φυσιολογικές συνθήκες και με ακεραιότητα του ενδοθηλίου, η ATP ενεργεί ως αγγειοδιασταλτικός και υποτασικός παράγοντας.

Η ATP μπορεί να επιδράσει στον τόνο του αγγείου τόσο ως νευρομεταβιβαστική ουσία όσο και ως ενδαγγειακή ουσία. Ενδοκυττάριας πουρίνης απελευθερώνονται τόσο από τα αγγεία όσο και από τα αιμοπετάλια. Το αγγειακό τοίχωμα έχει επίσης τη δυνατότητα να απελευθερώνει πουρίνες σε τέτοιες ποσότητες που να είναι ικανές να διεγείρουν απ' ευθείας τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα επίπεδα των πουρινών του αίματος είναι χαμηλά, ενώ αυξάνονται σε περιπτώσεις υποοξυγοναιμίας. Πολλοί ιστοί έχουν τη δυνατότητα να επαναπροσλαμβάνουν τις κυκλοφορούσες πουρίνες, ενώ, παράλληλα, οι κυκλοφορούσες πουρίνες διασπώνται από ειδικά ένζυμα (5-7).

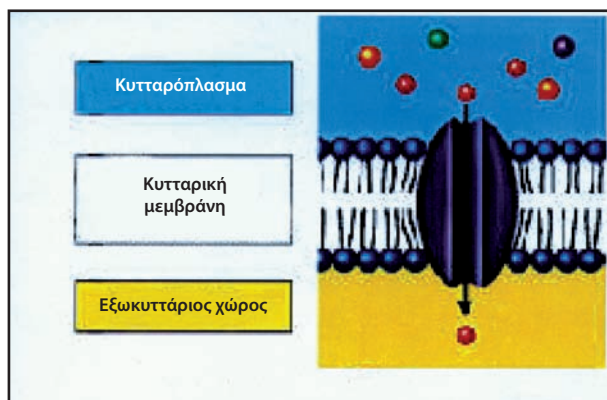
Η ATP και η αδενοσίνη, που είναι το τελικό προϊόν μεταβολισμού της πρώτης, απελευθερώνονται, όπως ήδη αναφέρθηκε, σε αυξημένες ποσότητες από τους ισχαιμικούς ιστούς και συμβάλλουν στην προσπάθεια αγγειοδιαστολής. Η υποξία αυξάνει ιδιαίτερα την απελευθέρωση της αδενοσίνης μέσω ειδικών μεταφορέων πρωτεϊνών. Η αδενοσίνη, όμως, μπορεί να απελευθερώνεται από τις νευρικές απολήξεις και χωρίς τη μεσολάβηση μεταφορέων και σε μη υποξαιμικές συνθήκες (1,5-9).

Η ATP απελευθερώνεται από τα κύτταρα με τρεις μηχανισμούς: με μηχανισμούς εξωκύτωσης, με τη βοήθεια πρωτεϊνών μεταφορέων και με λύση των κυττάρων. Στη συνέχεια, η ATP διασπάται από νουκλεοτιδάσες και εκτο ή εξω-ATPάσες (8-11).

Η ATP απελευθερώνεται με εξωκύτωση από τοπικές νευρικές ίνες, όπως εκείνες του συμπαθητικού που νευρώνουν τις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων,



**Εικόνα 7.1: Απελευθέρωση ενδοκυττάρων ουσιών με μηχανισμό εξωκύττωσης.** Με το μηχανισμό αυτό, η ATP απελευθερώνεται από τα κυστίδια όπου είναι εναποθηκευμένη και περνά από τις τελικές νευρικές απολήξεις προς τον εξωκυττάριο χώρο.  
*Google-Internet, 2006*



**Εικόνα 7.2: Απελευθέρωση της ATP με τη μεσολάβηση πρωτεϊνών μεταφορέων.** Η μεταφορά της ATP (κόκκινα σφαιρίδια) από το κυτταρόπλασμα κυττάρων όπως τα ενδοθηλιακά και οι λείες μυϊκές ίνες των αγγείων γίνεται με τη βοήθεια πρωτεϊνών μεταφορέων (μωβ). Η απελευθέρωση της ATP προς τον εξωκυττάριο χώρο με το μηχανισμό αυτό γίνεται σε απάντηση της διέγερσης υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη.  
*Google-Internet, 2006*

και από τα αιμοπετάλια. Με το μηχανισμό αυτό, η ATP απελευθερώνεται από τα κυστίδια όπου είναι εναποθηκευμένη και περνά στον εξωκυττάριο χώρο.

Η απελευθερούμενη ATP στις συνάψεις διασπάται ταχύτατα προς αδενοσίνη με ενδιάμεσα προϊόντα την ADP και την AMP. Η αδενοσίνη, με τη σειρά της, διεγείρει τόσο τους προσυναπτικούς υποδοχείς  $A_1$  στις νευρικές απολήξεις και καταστέλλει την περαιτέρω απελευθέρωση της ATP όσο και τους μετασυναπτικούς υποδοχείς της στα κύτταρα στόχους.

Η μεταφορά της ATP από το κυτταρόπλασμα με τη βοήθεια πρωτεϊνών μεταφορέων και η απελευθέρωσή της προς τον εξωκυττάριο χώρο γίνεται σε απάντηση της διέγερσης υποδοχέων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων.

Η λύση των κυττάρων απελευθερώνει μεγάλες ποσότητες της ATP και άλλων νουκλεοτιδίων που ευρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. Τα απελευθερούμενα μόρια ασκούν τοπικά δράσεις στα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και στα νεύρα.

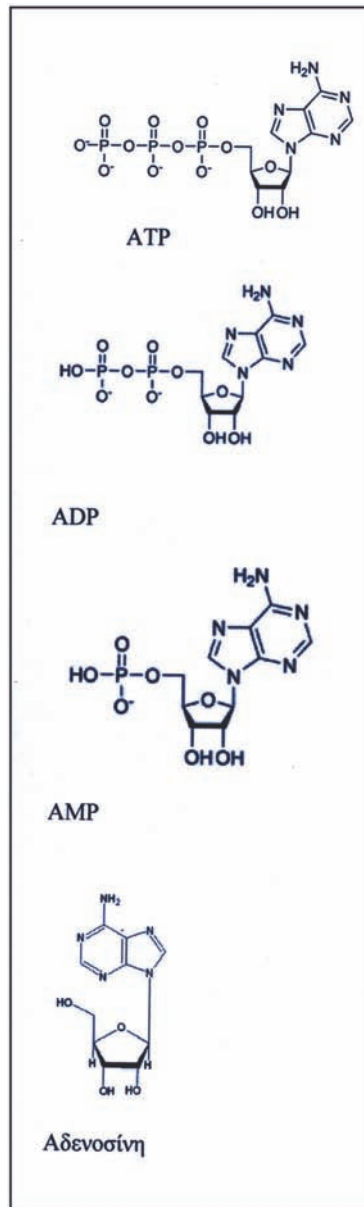
## Υποδοχείς

Η εξωκυττάρια αδενοσίνη και η αντίστοιχη ATP ενεργοποιούν ειδικούς εξωτερικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη στα περισσότερα είδη κυττάρων. Οι υποδοχείς αυτοί ονομάζονται πουρινεργικοί (P: Purinergic) και διακρίνονται στους P1 και τους P2. Η ATP δρα τόσο απ' ευθείας στους P2-υποδοχείς όσο και μέσω του τελικού προϊόντος διάσπασής της, της αδενοσίνης, τους P1-υποδοχείς (4,8,10,12,13).

Οι υποδοχείς P1 συνδέονται με G-πρωτεΐνη (GPCR:G-Protein Coupled Receptors) και διεγείρονται από την αδενοσίνη. Διακρίνονται στους  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$  και  $A_4$  υποτύπους υποδοχέων. Δράσεις στα αγγεία έχουν οι  $A_1$  και  $A_2$ -υποδοχείς. Οι  $A_1$  που συνδέονται με  $G_s$ -πρωτεΐνες προκαλούν τη διέγερση του συστήματος της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C) και προάγουν, μεταξύ άλλων, τη σύσπαση του αγγειακού τοιχώματος. Οι  $A_2$ -υποδοχείς που διακρίνονται σε  $A_{2A}$  και  $A_{2B}$  συνδέονται με  $G_s$ -πρωτεΐνη που ασκεί διεγερτική δράση στην αδενυλοκυκλάση (AC:Adenylcyclase), με αποτέλεσμα την αγγειακή χάλαση (14).

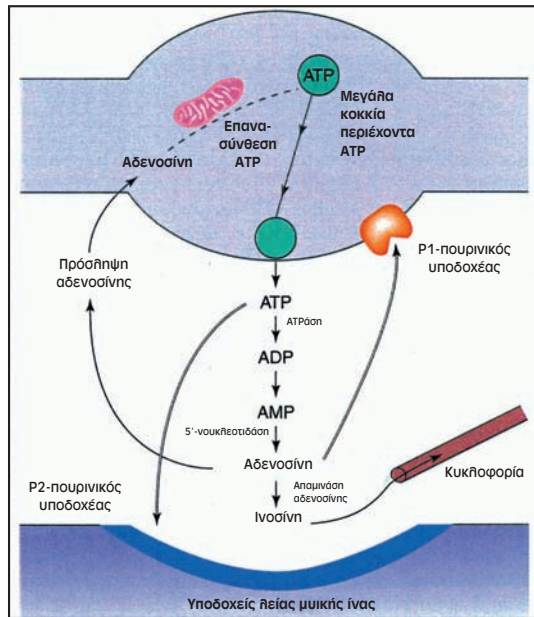
Οι P2-υποδοχείς της ATP διακρίνονται στους P2X και τους P2Y οι οποίοι με τη σειρά τους διακρίνονται επίσης σε πολλούς επιμέρους υποτύπους. Η ATP έχει ισχυρότερη δράση στους υποδοχείς P2X, ενώ τα άλλα νουκλεοτίδια, όπως η ADP, η AMP, η UTP και η UDP, έχουν μικρότερη συγγένεια με τους υποδοχείς αυτούς.

Οι υποδοχείς P2X είναι στην πραγματικότητα δίαυλοι κατιόντων που ελέγχονται από την ATP. Αποτελούνται από δύο διαμεμβρανικές περιοχές, μια μεγάλη εξωκυττάρια αγκύλη και δύο ενδοκυττάρια απολήξεις, μια με αμινομάδα και η



**Εικόνα 7.3: Μεταβολισμός της ATP μετά την απελευθέρωσή της.** Η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP: Adenosine Triphosphate) διασπάται αρχικά προς διφωσφορική αδενοσίνη (ADP: Adenosine Diphosphate), η οποία, με τη σειρά της, διασπάται προς μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP: Adenosine Monophosphate). Τελικό προϊόν διάσπασης η αδενοσίνη. Καταγράφονται οι χημικοί τύποι της ATP και των προϊόντων μεταβολισμού της.

*Wikipedia-Internet, 2006*



**Εικόνα 7.4:** Σύνθεση , αποθήκευση, απελευθέρωση και αδρανοποίηση της ATP στο επίπεδο μεταξύ νευρικής απόληξης και λείας μυϊκής ίνας. Η ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη), η οποία είναι εναποθηκευμένη σε κυστίδια στις απολήξεις της νευρικής ίνας, απελευθερώνεται με μηχανισμό εξωκύττωσης και δρα στους πουρινεργικούς υποδοχείς P2 στην κυτταρική μεμβράνη της λείας μυϊκής ίνας. Στη συνέχεια, η ATP διασπάται από εξωκυττάριας ATPάσες και από την 5'-νουκλεοτιδάση προς αδενοσίνη η οποία επαναπροσλαμβάνεται, επανασυντίθεται και εναποθηκεύεται στη νευρική απόληξη. Η αδενοσίνη διεγείρει τους προσυναπτικούς υποδοχείς P1 στη νευρική απόληξη και ρυθμίζει ανασταλτικά την πουρινεργική νευρομεταβίβαση. Η απαμινάση της αδενοσίνης μετατρέπει την αδενοσίνη της συναπτικής σχισμής προς ινοσίνη, η οποία απομακρύνεται προς την κυκλοφορία.

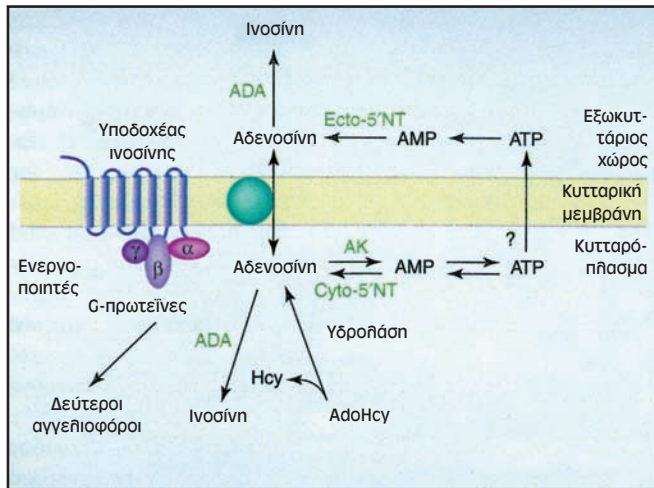
*Trends Pharmacol. Sci.* 27,2006

άλλη με καρβοξυλική ομάδα. Ειδικά υπόλοιπα αμινοξέων στη δεύτερη διαμεμβρανική περιοχή συμβάλλουν στο σχηματισμό της περιοχής του πόρου. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί επτά υποτύποι των υποδοχέων αυτών (8,13).

Ορισμένοι από τους υποδοχείς P2X εντοπίζονται και στο καρδιαγγειακό σύστημα. Ο υποδοχέας P2X<sub>1</sub> εντοπίζεται στις λείες μυϊκές ίνες, την καρδιά και τα αιμοπετάλια. Η διέγερσή του προάγει την είσοδο του Ca<sup>2+</sup> και του Na<sup>+</sup>. Οι υποδοχείς P2X<sub>2</sub> και P2X<sub>4</sub> εντοπίζονται στις λείες μυϊκές ίνες και η διέγερσή τους προάγει την είσοδο του Ca<sup>2+</sup>. Τέλος, ο υποδοχέας P2X<sub>5</sub> εντοπίζεται στην καρδιά και η διέγερσή του προάγει την είσοδο κατιόντων, χωρίς να υπάρχει σαφής αναφορά για το είδος αυτών (13).

Οι υποδοχείς P2Y είναι υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη (GPCR:G-Protein Coupled Receptors) και με τη διέγερσή τους πυροδοτούν ενδοκυττάριας βιοχημικές οδούς. Διακρίνονται και αυτοί σε επιμέρους υποτύπους. Μέχρι





**Εικόνα 7.5: Μεταβολισμός και σηματοδότηση της αδενοσίνης.** Σε απάντηση του κυτταρικού στρες ή της κυτταρικής βλάβης, απελευθερώνεται στον εξωκυττάριο χώρο η ATP με μηχανισμό που δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος. Η ATP είναι ένα ισχυρό μοριο-σήμα που δρα μέσω των P-υποδοχέων. Η ATP αποφωσφορυλιώνεται τάχιστα από τις εξωκυττάριας εκτονουκλεοσιδάσες ή εξωνουκλεοσιδάσες (Ecto-5'NT: Ecto-5- Nucleotidase), με τελικό προϊόν την αδενοσίνη. Τα ένζυμα αυτά έχουν σπουδαίο ρόλο στην τοπική παρουσία της αδενοσίνης. Η εξωκυττάρια αδενοσίνη διεγείρει υποδοχείς τύπου GPCR [G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς συνδεόμενοι με G-πρωτεΐνη (α<sub>1</sub>-υπομονάδα και βγ σύμπλεγμα)] και μέσω αυτών κινητοποιεί ενδοκυττάρια σήματα. Παράλληλα, η αδενοσίνη απαμινούται από την ADA (Adenosine Deaminase: Διαμινάση της αδενοσίνης) προς ινοσίνη ή περνά μέσα στο κύτταρο με τη βοήθεια πρωτεϊνών μεταφορέων των νουκλεοτιδίων. Η αδενοσίνη συντίθεται, επίσης, ενδοκυτταρίως από την ATP με τη δράση κυτταροπλάσματικών νουκλεοσιδασών (Cyto-5-NT: cyto-5 Nucleotidase) ή με την υδρόλυση της S-αδενοσυλοκυστεΐνης (AdoHcy: Adenosylcysteine). Η ενδοκυττάρια αδενοσίνη μπορεί να περάσει στον εξωκυττάριο χώρο ή να μετατραπεί σε ATP. Το πρώτο βήμα προς την κατεύθυνση αυτή γίνεται με τη δράση της κινάσης της αδενοσίνης (AK: Adenosine Kinase). Εναλλακτικά, η αδενοσίνη απαμινούται από την ADA προς ινοσίνη. Hcy (Homocystein:Ομοκυστεΐνη).

*Trends Pharmacol. Sci.* 24, 2003

σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί έξι υποτύποι των υποδοχέων αυτών και ο βαθμός συγγένειας των διαφόρων νουκλεοτιδίων ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο του υποδοχέα (8,13).

Ορισμένοι από τους υποδοχείς P2Y εντοπίζονται και στο καρδιαγγειακό σύστημα.. Οι υποδοχείς P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub> και P2Y<sub>4</sub> εντοπίζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Συνδέονται με το σύστημα της PLC, το οποίο διεγείρουν, και προάγουν την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup>. Οι υποδοχείς P2Y<sub>1</sub> και P2Y<sub>12</sub> εντοπίζονται στα αιμοπετάλια και η ADP παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγγένεια προς αυτούς. Ο μεν υποδοχέας P2Y<sub>1</sub> δρα διεγερτικά στο σύστημα της PLC ο δε υποδοχέας P2Y<sub>12</sub> δρα ανασταλτικά στο σύστημα της AC. Και οι δύο μηχανισμοί διεγείρουν τα αιμοπετάλια μέσω της αύξησης του ελεύθερου ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup> (13).

## Ενέργειες στο αγγειακό τοίχωμα

Ο έλεγχος της λειτουργίας του καρδιαγγειακού συστήματος από τα νουκλεοτίδια είναι πολύπλοκος· περιλαμβάνει πολλούς υποδοχείς με πολλαπλά αποτελέσματα σε διαφορετικά είδη κυττάρων. Οι απόψεις συνεχώς αναθεωρούνται, καθώς νέες πληροφορίες έρχονται να συμπληρώσουν τις μέχρι σήμερα γνώσεις.

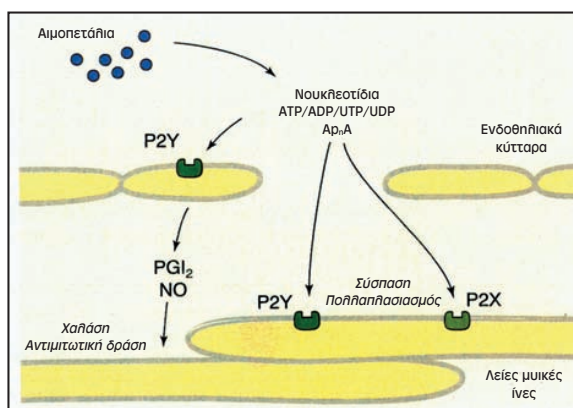
Στο υγιές αγγειακό τοίχωμα, τα νουκλεοτίδια που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια διεγείρουν υποτύπους των υποδοχέων P2Y και προάγουν τη σύνθεση των αγγειοδιασταλτικών, αντιαιμοπεταλιακών και αντιμιτωτικών παραγόντων οξειδίου NO και PGI<sub>2</sub>.

Ειδικότερα, η διέγερση των P2Y<sub>1</sub> και P2Y<sub>2</sub> υποδοχέων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και η επακολουθούσα αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup> προάγουν τη διέγερση της φωσφολιπάσης A<sub>2</sub> η οποία οδηγεί στη σύνθεση της προστακυκλίνης (PGI<sub>2</sub>: Prostacyclin). Παράλληλα, η διέγερση της ενδοθηλιακής συνθάσης του NO (eNOS) οδηγεί στη σύνθεση του οξειδίου του αζώτου (NO), ενώ η διέγερση της βιοχημικής οδού που μεθοδεύεται από την MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase: Πρωτεϊνική κινάση που ενεργοποιείται από το μιτογόνο) τόσο στα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και στις λείες μυϊκές ίνες οδηγεί σε μιτωτικές δράσεις (10,13).

Το υγιές ενδοθήλιο λειτουργεί ως φραγμός στα νουκλεοτίδια αυτά, διότι οι εκεί υπάρχουσες εκτονουκλεοτιδάσες ή εξωνουκλεοτιδάσες (ectonucleotidases) τα διασπούν προς αδενοσίνη η οποία περνά στις λείες μυϊκές ίνες και προκαλεί χάλαση. Αντίθετα, όταν το ενδοθήλιο είναι κατεστραμμένο, τα νουκλεοτίδια περνούν στον μέσο χιτώνα και μέσω των P2X<sub>1</sub>-υποδοχέων, καθώς και των P2Y<sub>2</sub>/P2Y<sub>4</sub>, συσπούν τις λείες μυϊκές ίνες και προάγουν τον πολλαπλασιασμό τους μέσω της διέγερσης του αυξητικού παράγοντα (GF:Growth Factor). Αντίθετα, η διέγερση των P2Y<sub>1</sub>-υποδοχέων στα ίδια κύτταρα προκαλεί χάλαση (10).

Διασταλτική είναι η ενέργεια της ATP και στις στεφανιαίες αρτηρίες μέσω των μηχανισμών που ήδη αναφέρθηκαν. Η ενέργεια αυτή είναι ισχυρή και σύντομη. Η ευεργετική αυτή δράση της ATP ενισχύεται από την κατασταλτική ενέργεια που η ουσία αυτή ασκεί στην καρδιακή λειτουργία. Η αδενοσίνη προς την οποία διασπάται τελικά η ATP ασκεί ασθενέστερη αλλά πλέον παρατεταμένη αγγειοδιασταλτική ενέργεια. Τόσο η ATP όσο και η αδενοσίνη που απελευθερώνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τους ισχαιμούντες ιστούς θεωρούνται ρυθμιστικοί παράγοντες των στεφανιαίων στις ισχαιμικές αυτές καταστάσεις (5,15).

Σημαντικός είναι ο ρόλος της ATP και κατά την κυκλοφορική κατέρρευση (shock). Οι ιστοί που ισχαιμούν απελευθερώνουν ATP που στη συνέχεια περνά στην κυκλοφορία. Όταν η συγκέντρωση της ATP στο αίμα φθάσει τα 50μΜ, τότε αυξάνεται η διαπερατότητα της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, με αποτέλεσμα την έξοδο νέας ποσότητας ATP. Η αύξηση της κυκλοφορού-

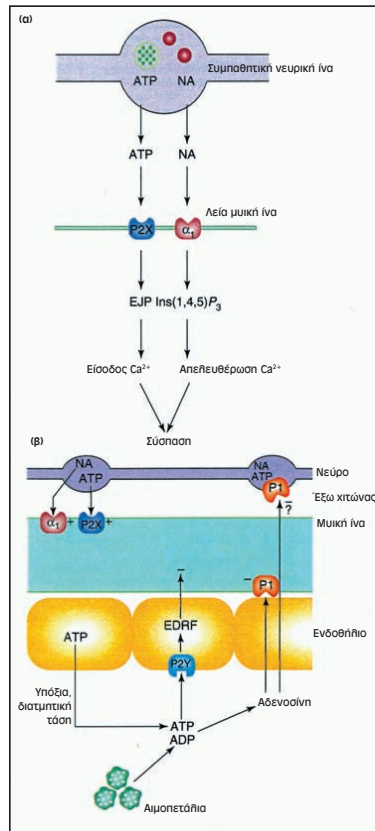


**Εικόνα 7.6: Ενέργειες αιμοπεταλιακών νουκλεοτιδίων στο υγιές ενδοθήλιο.** Στο υγιές αγγειακό τοίχωμα, τα νουκλεοτίδια που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια διεγείρουν τους P2Y-υποδοχείς και προάγουν τη σύνθεση των αγγειοδιασταλτικών, αντιαιμοπεταλιακών και αντιμυρωτικών παραγόντων οξείδιο του αζώτου (NO) και προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>). Το υγιές ενδοθήλιο λειτουργεί ως φραγμός στα νουκλεοτίδια αυτά διότι οι εκεί υπάρχουσες εκτονουκλεοτιδάσες τα διασπούν προς αδενοσίνη οποία περνά στις λείες μυϊκές ίνες και προκαλεί χάλαση. Αντίθετα, όταν το ενδοθήλιο είναι κατεστραμένο, τα νουκλεοτίδια περνούν στο μέσο χιτώνα και μέσω των P2X και P2Y<sub>1</sub>-υποδοχέων των λείων μυϊκών ινών του μέσου χιτώνα ασκούν συσπαστικές και μυρωτικές δράσεις.

*Trends Pharmacol. Sci. 19, 1998*

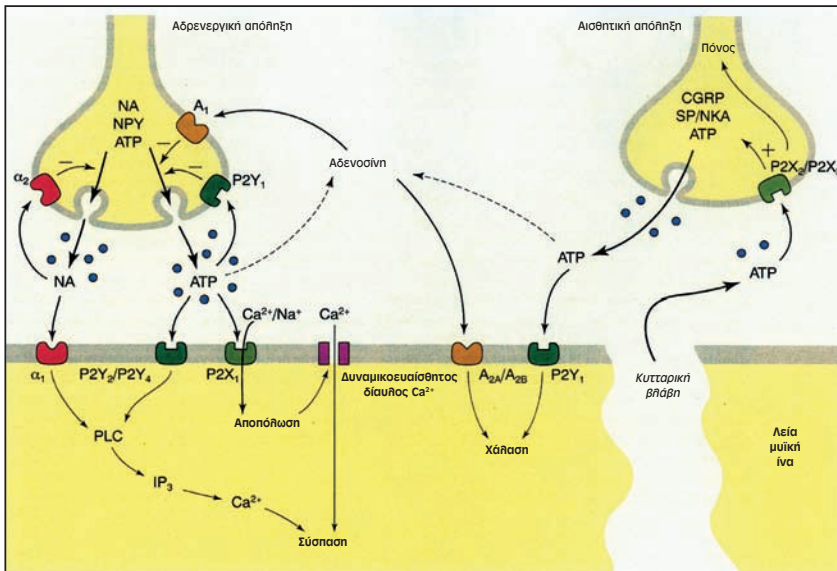
σης ATP έχει ως συνέπεια την καρδιακή καταστολή, την περαιτέρω πτώση της αρτηριακής πίεσης και την επίταση της ισχαιμίας. Δηλαδή δημιουργείται ένας φαύλος κύκλος. Παράλληλα, η πτώση της ενδοκυττάρου ATP έχει ως αποτέλεσμα την υπολειτουργία των κυττάρων. Η χορήγηση εξωγενούς ATP μαζί με χλωριούχο μαγνήσιο βελτιώνει την κλινική εικόνα, γιατί αποκαθιστά τα ενδοκυττάρια επίπεδα του νουκλεοτιδίου αυτού (5,15).

Η ύπαρξη του PY υποδοχέα στα αιμοπετάλια, και ειδικότερα των υποτύπων P2Y<sub>1</sub> και P2Y<sub>12</sub>, συνδέεται με τη διεγερτική δράση της ADP. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο υποδοχέας P2Y<sub>1</sub> συνδέεται με τη διέγερση της PLC, ενώ ο υποδοχέας P2Y<sub>12</sub> συνδέεται με την αναστολή της AC. Η διέγερση και των δύο υποτύπων του υποδοχέα PY προάγει μαζί τους άλλους γνωστούς παραγοντες τη διέγερση των αιμοπεταλίων. Η διέγερση αυτή κινητοποιεί, μεταξύ άλλων, το μετασχηματισμό του συμπλέγματος της γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Ο μετασχηματισμός αυτός καθιστά το σύμπλεγμα ικανό να ενώνεται με το ινωδογόνο το οποίο με τον τρόπο αυτό γεφυρώνει τα αιμοπετάλια, με αποτέλεσμα το σχηματισμό του θρόμβου. Η αδενοσίνη προς την οποία διασπώνται τα νουκλεοτίδια αυτά καθώς και εκείνη που απελευθερώνεται σε ισχαιμικές καταστάσεις αποδιεγείρουν τα αιμοπετάλια μέσω των A<sub>2A</sub>-υποδοχέων (10,16).

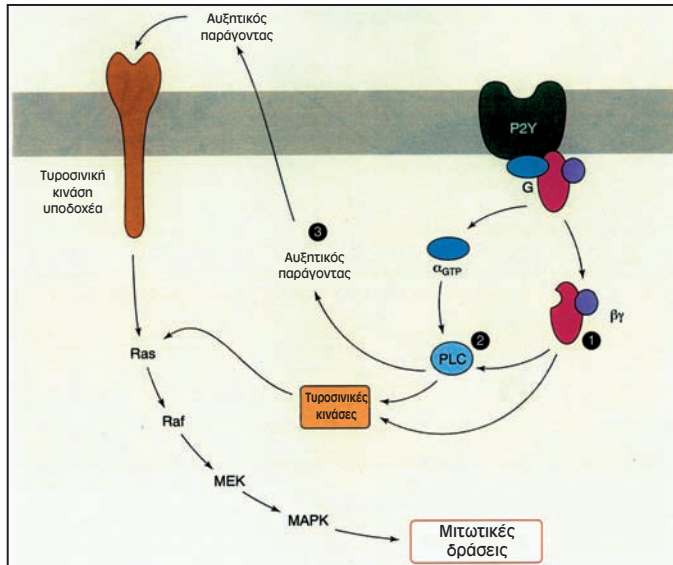


**Εικόνα 7.7:** Συναπελευθέρωση της ATP και της νοραδρεναλίνης από την τελική συμπαθητική νευρική ίνα. **(α)** Η απελευθερούμενη νοραδρεναλίνη η οποία διεγείρει τους α<sub>1</sub>-αδρενεργικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη της λείας μυϊκής ίνας αυξάνοντας την ενδοκυττάρια απελευθέρωση του Ca<sup>2+</sup> και η ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη) που διεγείρει τους υποδοχείς-διάυλους P2X1 προάγοντας την είσοδο του ίδιου ιόντος, συνεργούν στη σύσπαση της μυϊκής αυτής ίνας. **(β)** Αλληλεπιδράσεις της ATP που απελευθερώνεται αφενός από τις νευρικές απολήξεις, αφετέρου από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ATP που απελευθερώνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε καταστάσεις υποξίας ή υπό την επίδραση της διαμητικής τάσης (shear stress) δρα στους ενδοθηλιακούς υποδοχείς P2Y προάγοντας τη σύνθεση του NO (Nitric Oxide: Οξειδίου του αζώτου), γνωστού παλαιότερα ως EDRF (Endothelial Derived Relaxing Factor: Ενδοθηλιακός αγγειοδιασταλτικός παράγοντας) με αποτέλεσμα την αγγειοδιαστολή. Την αυτή δράση ασκεί και η απελευθερούμενη από τα διεγερμένα αιμοπετάλια ADP (Adenosine Diphosphate: Διφωσφορική αδενοσίνη) διεγείροντας τους ίδιους υποδοχείς. Αντίθετα, η ATP που συναπελευθερώνεται με τη νοραδρεναλίνη από τις συμπαθητικές νευρικές απολήξεις δρώντας στους υποδοχείς P2X προκαλεί τη σύσπαση της μυϊκής ίνας. Η αδενοσίνη, η οποία αποτελεί προϊόν διάσπασης της ATP από τα εκτοένζυμα, προκαλεί αγγειοδιαστολή με απ' ευθείας διεγερτική δράση στους υποδοχείς P1 της λείας μυϊκής ίνας. Παράλληλα, η αδενοσίνη πιστεύεται ότι διεγείρει τους προσυναπτικούς υποδοχείς P1 στη νευρική απόληξη και δρα ανασταλτικά στην απελευθέρωση της ATP.

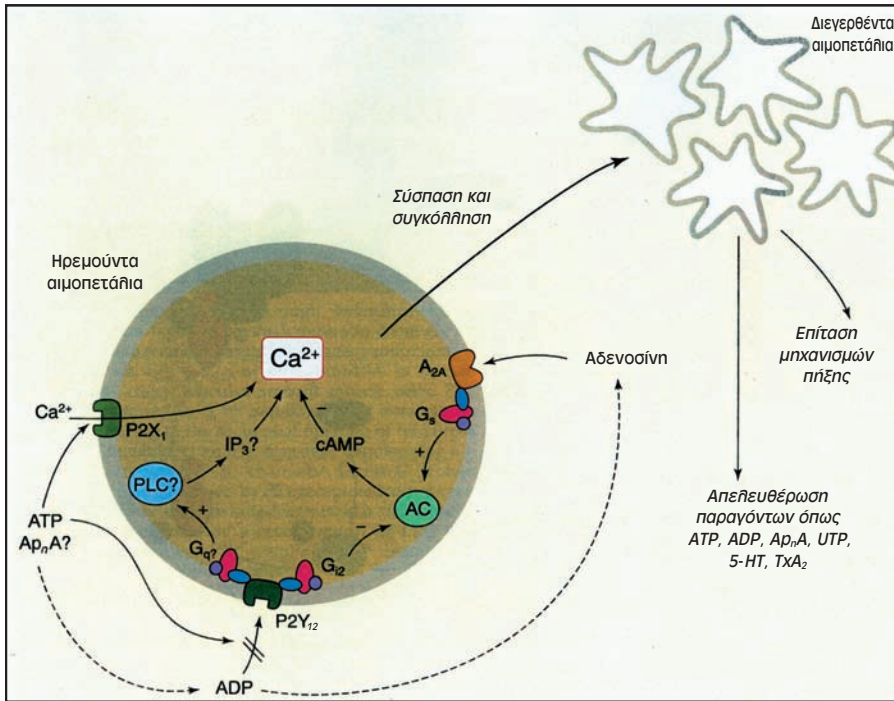
*Trends Pharmacol. Sci.* 27,2006



**Εικόνα 7.8:** Ο ρόλος των νευρικής προέλευσης νουκλεοτιδίων στη ρύθμιση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος, όταν έχει καταστραφεί το ενδοθήλιο. Η ATP απελευθερώνεται με τη νοραδρεναλίνη από τις αδρενεργικές απολήξεις και διεγείρει τους P2-υποδοχείς στις λείες μυϊκές ίνες. Με τη δράση της ATP, οι υποδοχείς  $P2Y_2/P2Y_4$  μέσω της G-πρωτεΐνης διεγείρουν το σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC). Η επακολουθούσα αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  διεγείρει το μηχανισμό σύσπασης. Τη μυϊκή σύσπαση προάγουν και οι  $P2X_1$ -υποδοχείς προκαλώντας την είσοδο εξωκυττάριου  $Ca^{2+}$ . Αντίθετα, η διέγερση των  $P2Y_1$ -υποδοχέων από την ATP και των  $A_{2A}/A_{2B}$  από την αδενοσίνη προς την οποία η ATP διασπάται, προάγουν τη μυϊκή χάλαση. Τόσο η ATP μέσω των  $P2Y_1$  προσυναπτικών υποδοχέων όσο και η αδενοσίνη μέσω των  $A_1$ -προσυναπτικών υποδοχέων δρουν ανασταλτικά στην απελευθέρωση της ATP, ενώ η νοραδρεναλίνη μέσω των  $\alpha_2$ -προσυναπτικών υποδοχέων δρα αρνητικά στην περαιτέρω απελευθέρωσή της. Αντίθετα, η ATP μέσω των  $P2X_2/P2X_3$  προσυναπτικών υποδοχέων στις αισθητικές νευρικές απολήξεις προάγει την περαιτέρω απελευθέρωσή της.  
*Trends Pharmacol. Sci.* 19,1998



**Εικόνα 7.9:** Σχεδιάγραμμα των τριών μηχανισμών με τους οποίους οι P2Y-υποδοχείς πυροδοτούν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών του μέσου αγγειακού χιτώνα. **1:** Διέγερση της τυροσινικής κινάσης που δεν συνδέεται με υποδοχείς μέσω του συμπλέγματος βγ της G-πρωτεΐνης και με μηχανισμό ανεξάρτητο της φωσφολιπάσης C (PLC). **2:** Μηχανισμός μέσω της PLC που κινητοποιεί ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup> και προάγει τη διέγερση της τυροσινικής κινάσης. Και στις δύο περιπτώσεις, η τυροσινική κινάση διεγείρει τη μικρή G-πρωτεΐνη Ras για να ακολουθήσει η ενεργοποίηση της βιοχημικής οδού της ενεργοποιημένης από το μιτογόνο πρωτεϊνικής κινάσης (MAPK: Mitogen Activated Protein Kinase). **3:** Ο μηχανισμός αυτός λειτουργεί μέσω αυξητικού παράγοντα GF: Growth Factor) που ρυθμίζεται από τον P2Y-υποδοχέα και ο οποίος αυξητικός παράγοντας διεγείρει το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα του οποίου το ενδοκυττάριο άκρο είναι το ενζυμικό σύστημα της τυροσινικής κινάσης. Ακολουθεί η διέγερση της μιτωτικής οδού της MAPK. *Trends Pharmacol. Sci. 19, 1998*



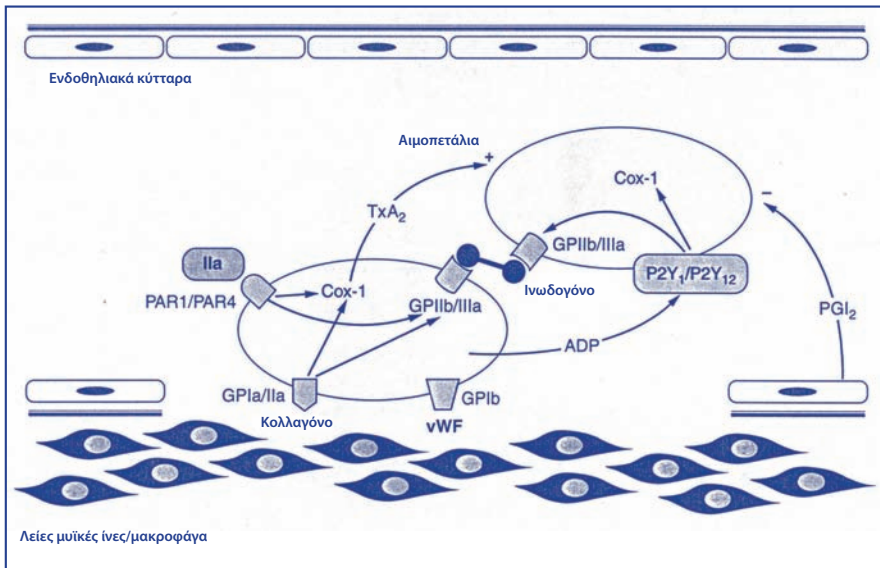
Εικόνα 7.10: Ρύθμιση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων από τα νουκλεοτίδια. Απεικονίζονται οι βιομηχανικές οδοί που κινητοποιούνται από τη διέγερση του τύπου P2X (ιονοτροπικός) και P2Y (μεταβοτροπικός) υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης των αιμοπεταλίων. Βλέπε κείμενο. *Trends Pharmacol. Sci.* 19,1998

### Νουκλεοτίδια εντός του κυττάρου

Τα ενδοκυττάρια πουρινικά νουκλεοτίδια αποτελούν επίσης πηγές ενέργειας, στις οποίες έχει γίνει ήδη αναφορά, αλλά συγχρόνως αποτελούν και σηματοδοτούντα μόρια (3,17-22).

Η ATP αποτελεί την κύρια πηγή εναποθήκευσης και απόδοσης ενέργειας. Είναι η μοριακή ένωση που τροφοδοτεί με φωσφορικές ρίζες τις ενεργοποιημένες κινάσες οι οποίες, με τη σειρά τους, θα φωσφορυλιώσουν τις πρωτεΐνες εκείνες που μεθοδεύουν τη βιολογική απάντηση του κυττάρου. Ανάλογα με τη θέση που οι πρωτεΐνες αυτές θα φωσφορυλιωθούν θα υπάρξει ενεργοποίηση ή όχι. Ιδιαίτερα όσον αφορά τον αγγειακό τόνο, η κίνηση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης είναι εκείνη που μεταφέρει τη φωσφορική ρίζα και φωσφορυλιώνοντας την ελαφρά αλύσο της μυοσίνης την ενεργοποιεί, με αποτέλεσμα την ένωση της μυοσίνης με την ακτίνη και τη σύσπαση της λείας μυϊκής ίνας.

Η ATP επίσης αποτελεί το μόριο από το οποίο εξαρτάται η λειτουργία μιας ομάδας διαύλων K<sup>+</sup> της κυτταρικής μεμβράνης, των K<sub>ATP</sub> διαύλων. Η διάνοιξη



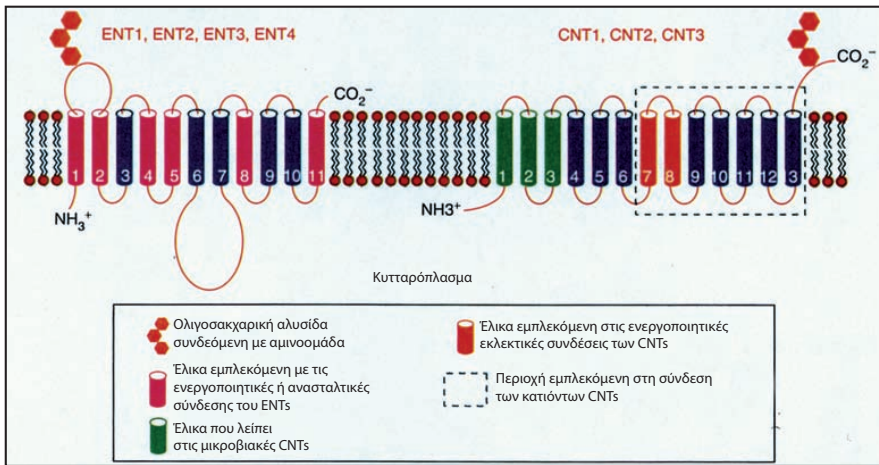
**Εικόνα 7.11: Ο ρόλος των υποδοχέων P2Y1 και P2Y12 στη διέγερση των αιμοπεταλίων.** Η διέγερση και των δύο υποτύπων του υποδοχέα PY από την ADP (Adenosine Diphosphate: Διφωσφορική αδενοσίνη) προάγει ομού μετά των άλλων γνωστών παραγόντων τη διέγερση των αιμοπεταλίων. Η διέγερση αυτή κινητοποιεί αφενός την ενεργοποίηση του συμπλέγματος της γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa το οποίο ενώνεται με το ινωδογόνο, αφετέρου την ενεργοποίηση της COX (Cyclooxygenase: Κυκλοοξυγενάση). Με τους διεγερτικούς αυτούς μηχανισμούς προάγεται η απελευθέρωση ουσιών από τα αιμοπετάλια και η συγκόλλησή τους.  
*Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics, 2006*

των διαύλων αυτών από τα φάρμακα που δρουν ως ευοδωτές προάγει τη μυϊκή χάλαση και την αγγειοδιαστολή λόγω υπερπόλωσης της κυτταρικής μεμβράνης.

Πρωτεΐνες μεταφορείς οι οποίες φέρουν διάφορα μόρια επί τα εκτός ή επί τα εντός του κυττάρου ενεργοποιούνται με την ενέργεια την οποία αποδίδει η ATP με τη μορφή της φωσφορικής ρίζας. Όσον αφορά το καρδιαγγειακό σύστημα, αναφορά γίνεται στις πρωτεΐνες μεταφορείς ENT (Equilibrative Nucleoside Transporters: Εξισορροπιστικοί μεταφορείς νουκλεοσιδίων) και ειδικότερα στην ENT1 η οποία προάγει την επαναπρόσληψη της αδενοσίνης από τα στεφανιαία αγγεία προς τα μυοκαρδιακά κύτταρα και αποτελεί φαρμακολογικό στόχο (11).

Η ATP, πάλι, αποτελεί το υπόστρωμα δράσης της AC η οποία δρα ως αντικείμενο ενεργοποίησης των υποδοχέων GPCRs. Είναι γνωστό ότι μια μεγάλη κατηγορία υποδοχέων GPCRs συνδέονται μέσω της  $G_s$ -πρωτεΐνης με το ενζυμικό σύστημα της AC. Από την ενζυματική δράση της AC επί της ATP παράγεται η cAMP η οποία δρα ως δεύτερος αγγελιαφόρος στο κυτταρόπλασμα και μέσω





**Εικόνα 7.12:** Σχηματική παράσταση των πρωτεϊνών μεταφορέων ENT και CNT στην κυτταρική μεμβράνη. Όπου ENT (Equilibrative Nucleoside Transporters: Εξισορροπιστικοί μεταφορείς νουκλεοσιδίων), CNT (Concentrative Nucleoside Transporters: Συγκεντροποιητικοί μεταφορείς νουκλεοσιδίων).

*Trends Pharmacol. Sci* 27,2006

της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA:Protein Kinase A) προάγει τη χάλαση των λείων μυϊκών ινών και την αγγειοδιαστολή. Αντίθετα, στον καρδιακό μυ, η cAMP διαδραματίζει πρωτεύοντα ρόλο στην αύξηση του ελεύθερου κυτταροπλασματικού Ca<sup>2+</sup> αλλά και στην ευαισθησία της αντίδρασης του συστήματος των συσταλτών πρωτεϊνών στο Ca<sup>2+</sup>. Με τους μηχανισμούς αυτούς που αναπτύχθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο αυξάνεται η ένταση συστολής του μυοκαρδίου.

Η GTP (Guanine Triphosphate: Τριφωσφορική γουανοσίνη) πάλι αποτελεί το μόριο ενεργοποίησης των G-πρωτεϊνών και συνδεδεμένη με την α-υπομονάδα των πρωτεϊνών αυτών της δίνει την απαραίτητη ενέργεια για να προχωρήσει κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης και να διεγείρει τον αντίστοιχο ενεργοποιητή.

Επίσης, η GTP αποτελεί και το υπόστρωμα δράσης της γουανυλοκυκλάσης (GC:Guanylcyclase) που καταλύει τη μετατροπή της GTP προς cGMP. Το κυκλικό αυτό νουκλεοτιδίον προάγει, μεταξύ άλλων, τη μυϊκή χάλαση και την αγγειοδιαστολή δρώντας μέσω της πρωτεϊνικής κινάσης G (PKG: Protein Kinase G) με πολλαπλούς και μη γνωστούς στο σύνολό τους μηχανισμούς.

Μεταξύ άλλων, το NO το οποίο προέρχεται από το ενδοθήλιο καθώς και τα νιτρώδη και νιτρικά φάρμακα που αποδίδουν το αέριο αυτό, διεγείρει τη διαλυτή GC (sGC: soluble GC) και προάγει τη μυϊκή χάλαση. Επίσης, ο υποδοχέας των νατριουρητικών πεπτιδίων ο οποίος έχει ένα εξωκυττάριο σημείο σύνδεσης με τα πεπτιδία αυτά, έχει και ένα ενδοκυττάριο τμήμα που αποτελείται από

τη GC. Η διέγερση της τελευταίας οδηγεί μέσω των ίδιων μηχανισμών στη μυϊκή χάλαση και τη διαστολή του αγγείου.

### Φαρμακολογικοί στόχοι

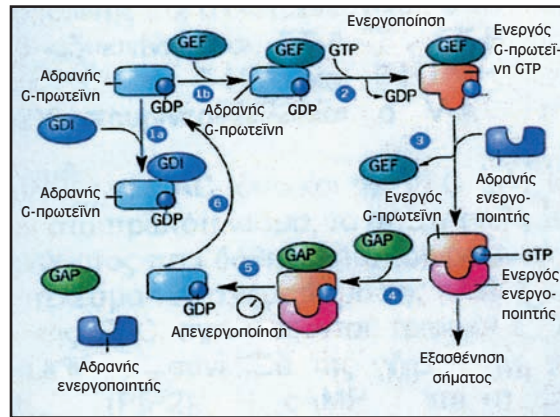
Η cAMP, καθώς επίσης και η cGMP, αποτελούν βασικούς φαρμακολογικούς στόχους για τη ρύθμιση του αγγειακού τόνου. Αυξημένη σύνθεση της cAMP και της cGMP προάγει την αγγειοδιαστολή και μειωμένη σύνθεση των παραπάνω κυκλικών νουκλεοτιδίων έχει το αντίθετο αποτέλεσμα. Οι φαρμακολογικές προσεγγίσεις για την επίτευξη του στόχου αυτού είναι δύο ειδών: Η πρώτη στοχεύει στη διέγερση της σύνθεσης των κυκλικών αυτών νουκλεοτιδίων και η δεύτερη στην αποτροπή της διάσπασής τους. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί αναπτύσσονται σε προηγούμενο κεφάλαιο.

Στα φάρμακα τα οποία ελαττώνουν τον αγγειακό τόνο προάγοντας τη σύνθεση της cAMP περιλαμβάνονται οι β-αδρενεργικοί αγωνιστές, όπως η δοβουταμίνη, και ιδιαίτερα οι εκλεκτικοί αγωνιστές των  $\beta_2$ -υποδοχέων όπως ο  $\beta_1$ -αποκλειστής/ $\beta_2$ -αγωνιστής σελιπρολόλη. Το αυτό πράττουν έμμεσα και φάρμακα που είναι αποκλειστές των α-αδρενεργικών υποδοχέων, όπως η φαιντολαμίνη, και οι αποκλειστές των  $\alpha_1$ -υποδοχέων, όπως η πραζοσίνη. Η ανασταλτική τους δράση επί της PLC επιτρέπει την ενίσχυση της δράσης της AC και κατ'επέκταση την αυξημένη σύνθεση της cAMP. Αγγειοδιαστολή προκαλεί και η ουχιμβίνη, καθώς αίρει την αναστολή της δράσης της AC.

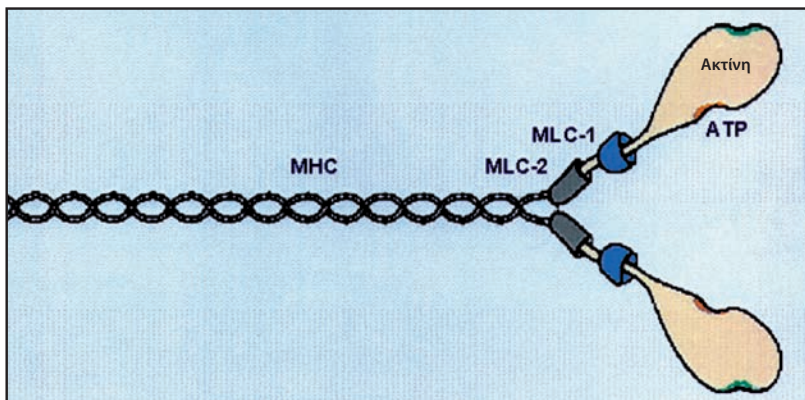
Ανασταλτικά στη διάσπαση της cAMP δρουν οι κλασικοί αναστολείς των φωσφοδιεστερασών, όπως η μιλρινόνη, η αμρινόνη και οι ξανθίνες. Στα φάρμακα τα οποία ελαττώνουν τον αγγειακό τόνο προάγοντας τη σύνθεση της cGMP ανήκουν τα νιτρώδη και νιτρικά φάρμακα, τα οποία αποδίδουν οξείδιο του αζώτου (NO), καθώς και φάρμακα που προάγουν την απελευθέρωση NO όπως ο β-αδρενεργικός αποκλειστής νεμπιβολόλη. Ανασταλτικά στη διάσπαση της cGMP δρουν εκλεκτικοί αναστολείς ορισμένων φωσφοδιεστερασών, όπως η σιλденаφίλη.

Στα φάρμακα τα οποία αυξάνουν, όπου είναι αναγκαίο, τον αγγειακό τόνο περιορίζοντας τη σύνθεση της cAMP περιλαμβάνονται οι αναστολείς της AC όπως φάρμακα που δρουν ως αγωνιστές των α-αδρενεργικών υποδοχέων.

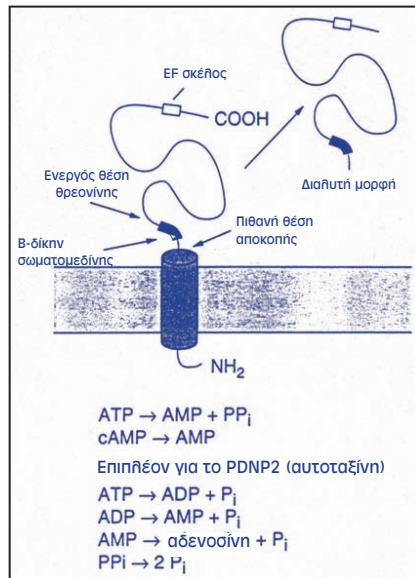
Φάρμακα όπως η διλαζέπη, η διπυριδαμόλη, η δαφλαζίνη και η λιδοφλαζίνη δρουν ως αναστολείς της δράσης των πρωτεϊνών μεταφορέων ANT1 και εμποδίζουν την επαναπρόσληψη της αδενοσίνης η οποία απελευθερώνεται κατά τα καρδιακά ισχαιμικά επεισόδια ή επί αυξημένου καρδιακού έργου. Με το μηχανισμό αυτό, η αδενοσίνη παραμένει στον εξωκυττάριο χώρο και προάγει μέσω της διέγερσης των  $A_1$ -υποδοχέων της τη διαστολή των στεφανιαίων. Παράλληλα, ελαττώνει τον καρδιακό ρυθμό, δρα αντιαρρυθμικά και ανασταλτικά στη δι-



**Εικόνα 7.13:** Κύκλος ενεργοποίησης και απενεργοποίησης της G-πρωτεΐνης. Με τη διέγερση του υποδοχέα, η G-πρωτεΐνη, αφού ενωθεί πρόσκαιρα με αυτόν και πάρει το σήμα, στη συνέχεια απορρίπτει την GDP (Guanine Diphosphate:Διφωσφορική γουανοσίνη) με την οποία είναι ενωμένη και συνδεδεμένη με την GTP (Guanine Triphosphate:Τριφωσφορική γουανοσίνη) ενεργοποιείται και μεταφέρει το σήμα στον ενεργοποιητή. Στη συνέχεια, η GTP διασπάται προς GDP, η G-πρωτεΐνη απενεργοποιείται, αποδεσμεύεται από τον ενεργοποιητή και επιστρέφει στη θέση ηρεμίας. *Δ. Παννακίδης / Internet 2004*



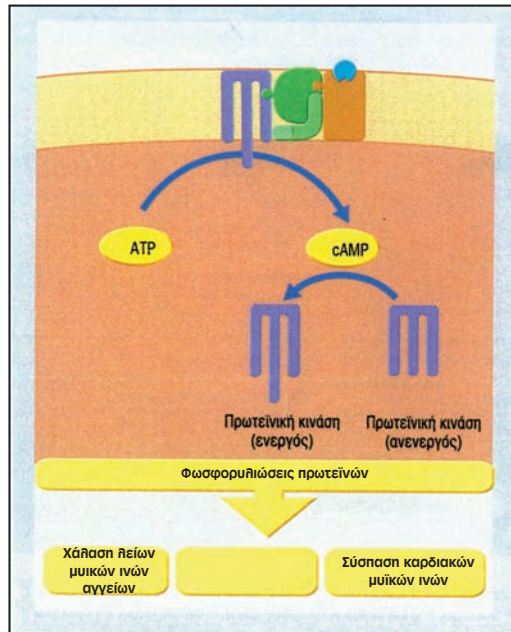
**Εικόνα 7.14:** Φωσφορυλίωση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης της μυϊκής ίνας. Η κίνηση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης μεταφέρει τη φωσφορική ρίζα που προέρχεται από την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP: Adenosine Triphosphate) και φωσφορυλιώνοντας την ελαφρά αλυσού της μυοσίνης (MLC: Myosin Light Chain) την ενεργοποιεί, με αποτέλεσμα την ένωση της μυοσίνης με την ακτίνη και τη σύσπαση της μυϊκής ίνας. Όπου MHC (Myosin Heavy Chain: Βαριά αλυσού της μυοσίνης). *Google-Internet, 2006*



**Εικόνα 7.15:** Μεμβρανική θέση των εκτο-ενζύμων ή εξω-ενζύμων της οικογένειας των PDNP (Phosphodiesterase / Nucleotide Pyrophosphatase: Φωσφοδιεστεράσες / Νουκλεοτιδικές πυροφωσφατάσες). Οι διαλυτές μορφές μπορεί να σχηματισθούν με αποκοπή από πρωτεολυτικά ένζυμα. Η καταλυτική τους δράση δεν περιορίζεται στα αδενινονουκλεοτίδια.  
*Trends Pharmacol. Sci* 20,1999

έγερση των αιμοπεταλίων και προάγει τη γλυκόλυση. Πιστεύεται ότι η χορήγηση προεγχειρητικά, σε επεμβάσεις ανοικτής καρδιάς, αναστολέων της δράσης της ANT θα περιορίσει τις ισχαιμικές βλάβες και θα δράσει προστατευτικά στο μυοκάρδιο σε περιπτώσεις καρδιακών μεταμοσχεύσεων (11).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και ο φαρμακολογικός αποκλεισμός των υποδοχέων P<sub>2</sub>Y της ADP στα αιμοπετάλια, δεδομένου ότι η διέγερση των τελευταίων συνεπάγεται την απελευθέρωση ουσιών που, μεταξύ άλλων, προάγουν τοπικά και την αγγειοσυσπασση. Φάρμακα όπως η κλοπιδογρέλη και η τικλοπιδίνη δρουν ως αποκλειστές των υποδοχέων αυτών.



**Εικόνα 7.16: Υδρόλυση της ATP προς cAMP.** Υπό την επίδραση της αδενυλοκυκλάσης η ATP (Adenosine Triphosphate:Τριφωσφορική αδενοσίνη) υδρολύεται προς cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική Μονοφωσφορική αδενοσίνη), με αποτέλεσμα να ενεργοποιείται η πρωτεϊνική κινάση Α.

Page. *Integrated Pharmacology*. Ελληνική έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, 2000

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rodwell V.: Nucleoytides. In: Murray R. et al (eds) "Harpers Biochemistry" Prentice –Hall Intern. Inc., Con. USA pp 333-341,1990
- 2: Τρακατέλλης Α. Βιοχημεία. Θεσσαλονίκη, 1993
3. Glatz J., Laiken H., van Nieuwenhoven, van der Vusse G.: Molecular mechanism of cellular uptake and intracellular translocation of fatty acids. Prostaglandine Leukot. Essent. Fatty Acids 57:3-9, 1997
4. Connolly G., Duley J.: Uridine and its nucleotides. Biological actions, therapeutic potentials. Trends Pharmacol. Sci. 20:218-225,1999
5. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ.: Αγγειοκινητικές ενέργειες της ΑΤΡ. Επιθ.Κλιν.Φαρμακολ.Φαρμακοκιν. 5:167-172,1987
6. Burnstock G., Kennedy C.: A dual action of adenosine 5-triphosphate in the regulation of vascular tone. Circ. Res. 58:309-330, 1986
7. Κόκκας Β.: Ο ρόλος των υποδοχέων των πουρινών στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου και στη παραγωγή της προστακυκλίνης. Γαληνός 29:743-751,1987
8. Khakh B., Kennedy C.: Adenosine and ATP. Progress in their receptors' structures and functions. Trends Pharmacol. Sci. 19:39-41,1998
9. Silinski E.: Mechanisms of synaptic transmission, neurotransmitter release and its modulation by adenosine. Ligand-gated channels and their interactions. Goolge-Internet, 2006
10. Boarder M., Hourani S.: The regulation of vascular function by P2 receptors. Multiple sites and multiple receptors. Trends Pharmacol. Sci. 19:99-107,1998
11. King A., Ackley M., Cass C., Young J., Baldwin S.: Nucleoside transporters. From scavengers to novel therapeutic targets. Trends Pharmacol. Sci. 27:416-424,2006
12. Zimmerman H.: Two novel families of ectonucleotidases. Molecular structures, catalytic properties and a search for function. Trends Pharmacol. Sci. 20:231-234,1999
13. <http://www.neuro.wustl.edu/neuromuscular/mother/atp.htm>, 2006
14. Nyce J.: Insight into adenosine receptor function using antisense and gene-knockout approaches. Trends Pharmacol. Sci. 20:79-83,1999
15. Gordon J.: Extracellular ATP. Effects, sources and fate. Bioch. J. 233:309-315, 1986
16. Majerus P., Tollefsen D.: Blood coagulation and anticoagulant, thrombolytic, and antiplatelet drugs. In: Brunton L. et al (eds) " Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics" McGraw-Hill, New York pp 1467-1488,2006
17. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ., Κόκκας Β.: Η cAMP ως ενδοκυττάριος αγγειοδιασταλτικός μεσολαβητής. Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν. 5:54-59, 1987
- 18: Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ., Κόκκας Β.:Ο ρόλος της cGMP στη ρύθμιση

- του αγγειακού τόνου. *Επιθ.Κλιν.Φαρμακολ.Φαρμακοκιν.* 5:123-127,1987
19. Kukkonen J., Nasman J., Akerman K.: Modelling of promiscuous receptor-G<sub>i</sub>/G<sub>s</sub>-protein coupling and effector response. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:616-622,2001
  20. Tucek s., Michal P., Vlachova V.: Modeling the consequences of receptor-G-protein promiscuity. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:171-176,2002
  21. Koenig J. and Edwardson J.: Endocytosis and recycling of G- protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 1997, 18: 276-281,1997.
  22. Wikipedia.: Sliding filament mechanism. Google-Internet,2006





## ΟΓΔΟΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΚΑΙ ΠΕΠΤΙΔΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ ΣΤΗΝ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Κ. Α. Παπαδόπουλος και Β. Α. Κόκκας

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Όλοι οι παράγοντες που μεταβάλλουν βραχυπρόθεσμα ή μακροπρόθεσμα την αρτηριακή πίεση, δηλαδή οι υπερτασιογόνοι και οι αντιϋπερτασικοί παράγοντες, επηρεάζουν δύο κύριους μηχανισμούς που σχετίζονται με τη διαμόρφωση της αρτηριακής πίεσης.*

*Ο πρώτος είναι ο αγγειοκινητικός μηχανισμός. Ο δεύτερος μηχανισμός που επηρεάζουν οι μεταβάλλοντες την αρτηριακή πίεση παράγοντες είναι οι αντλητικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στη σωληναριακή επαναρρόφηση του σπειραματικού διηθήματος. Σε αυτό το μηχανισμό προστίθεται το αποτέλεσμα των ενδοεφρικών αγγειοκινητικών δράσεων των ίδιων παραγόντων. Με αυτές ρυθμίζεται η επαναρροφητική ικανότητα των περισωληναριακών τριχοειδών και ιδιαίτερα εκείνων που περιβάλλουν τα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια. Η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης στις εκάστοτε ανάγκες πραγματοποιείται με τη συνέργεια ποικίλων ενδογενών παραγόντων, προερχόμενων από πολλά όργανα, ενώ, εξάλλου, το σύνολο των οργάνων έχει δυνατότητα επέμβασης στη ρύθμιση των τοπικών κυκλοφορικών συνθηκών. Η μετάδοση πληροφοριών ή εντολών από όργανο σε όργανο γίνεται με τους τρόπους τηλε-επικοινωνίας των οργάνων. Η ολοκλήρωση των πληροφοριών και η τοπική επεξεργασία και προσαρμογή των εντολών προβλέπει συστήματα ενδοεπικοινωνίας οργάνων με τα οποία τα διάφορα κύτταρα αλληλορρυθμίζουν τις αντιδράσεις τους. Η επικοινωνία πραγματοποιείται στον νευρικό ιστό με νευρικές οδούς που απελευθερώνουν ποικιλία νευρομεταβιβαστών, στους δε άλλους ιστούς και όργανα με χυμικούς μεταβιβαστές. Οι χυμικοί μεταβιβαστές ανήκουν σε διάφορες ομάδες χημικών ενώσεων. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα πεπτιδία.*

Οι πεπτιδικοί μεταβιβαστές παράγονται σε ευρεία έκταση στο σώμα και ενεργούν με όλους τους τρόπους, δηλαδή ως ορμόνες, παρακρινικοί ή αυτοκρινικοί μεταβιβαστές και νευρομεταβιβαστές. Οι πεπτιδικοί μεταβιβαστές εξασκούν περισσότερο παρατεταμένη δράση σε σχέση με τους μικρού μοριακού βάρους μεταβιβαστές. Οι πεπτιδικοί νευρομεταβιβαστές καλούνται νευροπεπτίδια. Οι τρόποι δράσης των πεπτιδικών μεταβιβαστών σε σχέση με τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης είναι οι ακόλουθοι:

Τροποποίηση της λειτουργίας νευρικών οδών του κεντρικού αυτόνομου νευρικού συστήματος: ρύθμιση της έκκρισης κατεχολαμινών και ακετυλοχολίνης από τους περιφερικούς (γαγγλιακούς) νευρώνες του αυτόνομου νευρικού συστήματος: αγγειοκινητικές δράσεις που εξασκούνται στο τοίχωμα των αγγείων είτε κατ' ευθείαν επί των λείων μυϊκών ινών είτε δια μέσου των ενδοθηλιακών κυττάρων που προκαλούνται να παραγάγουν και να απελευθερώσουν αγγειοκινητικούς παράγοντες: τροποποίηση στη σωληναριακή επαναρρόφηση με αγγειοκινητικούς μηχανισμούς ή με άμεση επίδραση στην αντλητική λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων των ουροφόρων σωληναρίων.

Τα νευροπεπτίδια ανευρίσκονται σε διάφορα επίπεδα μέσα στο κεντρικό νευρικό σύστημα, καθώς και στις απολήξεις των γαγγλιακών νευρώνων του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Οι κυριότερες εντοπίσεις νευροπεπτιδίων επηρεαζόντων τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης είναι οι ακόλουθες:

Στο υποφλοιώδες μεταιχμιακό σύστημα: στους κεντρικούς πυρήνες του αυτόνομου νευρικού συστήματος: στα γάγγλια του αυτόνομου κεντρικού συστήματος: στις απολήξεις των γαγγλιακών (περιφερειακών) νευρώνων. Τα νευροπεπτίδια συνηθέστερα συνεκκρίνονται μαζί με τον κύριο νευρομεταβιβαστή. Τα περισσότερο μελετημένα πεπτίδια στις θέσεις αυτές είναι τα ακόλουθα: Οπιοειδή, Αγγειοτασίνη II, Ταχυκινίνες ή Νευροκινίνες, Σωματοστατίνη, Νευροπεπτίδιο Υ, Αγγειοδραστικό Εντερικό Πεπτίδιο, Πεπτίδιο σχετιζόμενο προς το γονίδιο της καλσιτονίνης και Κολπικό και Εγκεφαλικό Νατριουρητικό Πεπτίδιο.

Πεπτιδικοί μεταβιβαστές παράγονται στις απολήξεις των γαγγλιακών νευρώνων στον μυϊκό ιστό των αγγείων και στο ενδοθήλιο. Στον μυϊκό χιτώνα των αγγείων συντίθενται και εκκρίνονται για παρακρινική δράση οι κινίνες (βραδυκινίνη) και η Αγγειοτασίνη II. Στο ενδοθήλιο των αγγείων απαντούν: 1) η Αγγειοτασίνη II, 2) Κινίνες και 3) Ενδοθηλίνες.

Στο μυοκάρδιο από τις νευρικές απολήξεις απελευθερώνονται διάφορα νευροπεπτίδια. Από τα καρδιοκύτταρα κατ' εξοχήν των κόλπων απελευθερώνεται το κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο (ANP) και από τις κοιλίες το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο (BNP: Brain Natriuretic Peptide). Στον νεφρό ανευρίσκεται πληθώρα νευροπεπτιδίων στο τοίχωμα των αγγείων του, με κυριότερα την αγγειοτασίνη II και το νεφρικό σύστημα των κινινών.

Πολλές πεπτιδικές ορμόνες συμμετέχουν στην ομοιοστασία της αρτηριακής πί-

εσης, του ύδατος και των ηλεκτρολυτών. Κατά συνέπεια, εκτροπές που αφορούν στην έκκριση ή την δραστικότητα τους εμπλέκονται στην παθογένεια της αρτηριακής υπέρτασης. Οι κυριότερες είναι: Αγγειοτασίνη II, Κολπικό Νατριουρητικό Πεπτίδιο, Αντιδιουρητική ορμόνη, Αργινίνη Βαζοπρεσσίνη,  $\gamma$ -MSH, Ινσουλίνη, Παραθορμόνη, Γλυκαγόνη, Ορμόνη Εκλύουσα Θυρεοτρόπο ορμόνη, Προλακτίνη, Φλοιοτρόπος Ορμόνη.

## Εισαγωγή

### **Ρύθμιση αρτηριακής πίεσης και αγγειοκίνηση. Τρόποι ρύθμισης**

Όλοι οι παράγοντες που μεταβάλλουν βραχυπρόθεσμα ή μακροπρόθεσμα την αρτηριακή πίεση, δηλαδή οι υπερτασιογόνοι και οι αντιυπερτασικοί παράγοντες, επηρεάζουν δύο κύριους μηχανισμούς που σχετίζονται με τη διαμόρφωση της αρτηριακής πίεσης (1-10).

Ο πρώτος είναι οι αγγειοκινητικοί μηχανισμοί. Οι αγγειοκινητικές δράσεις των παραγόντων εξασκούνται με ποσοτική ανομοιογένεια στις διάφορες αγγειακές κοίτες. Ιδιαίτερη σημασία έχει να ξεχωρισθούν η μέση επίδραση στην εν γένει συστηματική κυκλοφορία που εκφράζει τις περιφερικές αντιστάσεις και η επίδραση στα ενδονεφρικά αγγεία που επηρεάζει τις λειτουργίες των νεφρών. Οι εν γένει συστηματικές αγγειοκινητικές δράσεις καθορίζουν τις βραχυπρόθεσμες μεταβολές της αρτηριακής πίεσης, δηλαδή εκείνες που δεν προλαβαίνει να τροποποιήσει η εμφάνιση μεταβολών της διούρησης. Επίσης καθορίζουν την κλινική μορφή την οποία εμφανίζει μία δεδομένης βαρύτητας χρόνια αρτηριακή υπέρταση· αν, δηλαδή, η βαρύτητα της υπέρτασης εκτιμηθεί από τη μέση αρτηριακή πίεση η τιμή της οποίας καθορίζεται από τη νεφρική λειτουργία. Το κατά πόσον η συγκεκριμένης βαρύτητας υπέρταση θα χαρακτηρίζεται από ιστική ισχαιμία ή από καλή άρδευση θα εξαρτηθεί από τις συστηματικές αγγειοκινητικές δράσεις των παραγόντων που ρυθμίζουν την αρτηριακή πίεση.

Ο δεύτερος μηχανισμός που επηρεάζουν οι μεταβάλλοντες την αρτηριακή πίεση παράγοντες είναι οι αντλητικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στη σωληναριακή επαναρρόφηση του πειραματικού διηθήματος. Οι μηχανισμοί αυτοί, σε κυτταρικό επίπεδο, είναι σύνολο αντλιών και διαύλων που ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων των ουροφόρων σωληναρίων. Με αυτούς πραγματοποιείται η μεταφορά ιόντων, εκ των οποίων το ουσιώδες για την ομοιοστασία της αρτηριακής πίεσης είναι το  $\text{Na}^+$ , το οποίο συμπαρασύρει το ύδωρ από τον αυλό των ουροφόρων σωληναρίων προς τον περισωληναριακό χώρο, από όπου από κοινού απάγονται δια των αιμοφόρων τριχοειδών. Σε αυτό το μηχανισμό προτίθεται το αποτέλεσμα των ενδονεφρικών αγγειοκινητικών δράσεων των ίδιων παραγόντων. Με τις ενδονεφρικές αγγειοκινητι-

κές δράσεις ρυθμίζεται η επαναρροφητική ικανότητα των περισωληναριακών τριχοειδών και ιδιαίτερα εκείνων που περιβάλλουν τα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια. Το σύνολο των παραπάνω δράσεων τροποποιεί τη σχέση διούρησης (νατριούρησης)/μέσης αρτηριακής πίεσης (pressure-natriuresis relationship κατά Guyton), ή άλλως την αναλογική (ως προς την πίεση) διούρηση. Από τη σχέση αυτή ρυθμίζεται μακροπρόθεσμα η μέση αρτηριακή πίεση.

Η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης στις εκάστοτε ανάγκες πραγματοποιείται με τη συνέργεια ποικίλων ενδογενών παραγόντων, προερχομένων από πολλά όργανα, ενώ, εξάλλου, το σύνολο των οργάνων έχει δυνατότητα επέμβασης στη ρύθμιση των τοπικών κυκλοφορικών συνθηκών.

### **Τρόποι αλληλεπίδρασης**

Τα όργανα που μετέχουν στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, τόσο ως εκτελεστικά όσο και ως γεννήτορες των παραγόντων που τη μεταβάλλουν, συνδέονται μεταξύ τους με πολύπλοκες αμφίδρομες αντιδράσεις, ώστε να εξασφαλίζονται οι ταχύτερες και αρμόζουσες προσαρμογές προς τις εκάστοτε ανάγκες. Διαταραχή σε αυτά τα συστήματα ανάδρασης απολήγει σε ανάρμοστη (inappropriate) εκτροπή της αρτηριακής πίεσης. (10)

Ο κεντρικός ρυθμιστής της αρτηριακής πίεσης, που είναι ένα σύνολο πυρήνων του κεντρικού νευρικού συστήματος, επεξεργάζεται και ολοκληρώνει πληθώρα πληροφοριών που συλλέγει από όλους τους περιφερειακούς υποδοχείς. Κατόπιν διαμορφώνει την κατάλληλη εντολή που αποστέλλει προς τους πολυάριθμους αποδέκτες. Οι αποδέκτες, με τη μεσολάβηση παραγόντων που σχηματίζονται υπό την επίδραση τοπικών συνθηκών, επεξεργάζονται τη λαμβανόμενη εντολή και την προσαρμόζουν στις επιτόπιες συνθήκες, ώστε να προκύψει το αρμόζον αποτέλεσμα.

Είναι ευνόητο ότι πλήθος πληροφοριών ή εντολών σχετιζόμενων με τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και τις γενικές ή τοπικές κυκλοφορικές συνθήκες μεταβιβάζονται από όργανο σε όργανο και από κύτταρο σε κύτταρο μέσα στο ίδιο όργανο. Η μετάδοση πληροφοριών ή εντολών από όργανο σε όργανο γίνεται με τους τρόπους τηλε-επικοινωνίας των οργάνων. Η ολοκλήρωση των πληροφοριών και η τοπική επεξεργασία και προσαρμογή των εντολών προβλέπει συστήματα ενδοεπικοινωνίας οργάνων με τα οποία τα διάφορα κύτταρα αλληλορρυθμίζουν τις αντιδράσεις τους.

Η τηλε-επικοινωνία μεταξύ του νευρικού συστήματος και των άλλων οργάνων γίνεται με μακρές νευρικές οδούς, στο πέρας των οποίων απελευθερώνονται διάφοροι χημικοί μεταβιβαστές καλούμενοι νευρομεταβιβαστές· η τηλε-επικοινωνία μεταξύ διαφόρων περιφερειακών οργάνων πραγματοποιείται μέσω της αιματικής κυκλοφορίας στην οποία απελευθερώνονται άλλοι χημικοί μεταβιβαστές καλούμενοι ορμόνες. Σημειωτέον ότι η ενδοκρινική λειτουργία αφορά πλεί-

στα όργανα εκτός των παραδοσιακώς ανεγνωρισμένων ενδοκρινών αδένων.

Η ενδοεπικοινωνία πραγματοποιείται στον μεν νευρικό ιστό με βραχείες νευρικές οδούς που απελευθερώνουν επίσης ποικιλία νευρομεταβιβαστών, στους δε άλλους ιστούς και όργανα με χυμικούς μεταβιβαστές που εκκρινόμενοι επιδρούν σε επιφανειακούς υποδοχείς του ίδιου (αυτοκρινικοί) ή παρακρινικών κυττάρων (παρακρινικοί).

Οι χυμικοί μεταβιβαστές ανήκουν σε διάφορες ομάδες χημικών ενώσεων. Από αυτές το υπόλοιπο μέρος του κεφαλαίου αυτού θα απασχολήσουν τα πεπτίδια.

## Πεπτιδικό μεταβιβαστές

### Γενικότητες

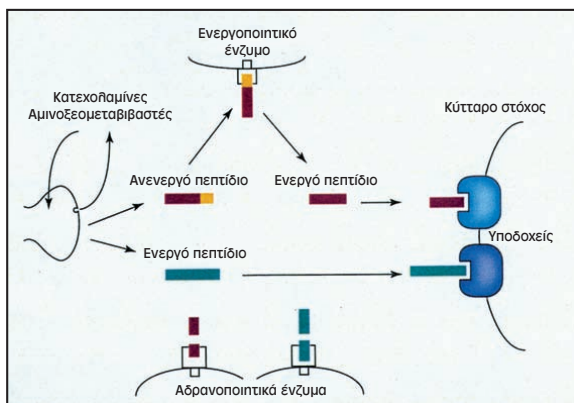
Οι πεπτιδικό μεταβιβαστές παράγονται σε ευρεία έκταση στο σώμα και ενεργούν με όλους τους τρόπους, δηλαδή ως ορμόνες, παρακρινικοί ή αυτοκρινικοί μεταβιβαστές και νευρομεταβιβαστές. Στην τελευταία περίπτωση είτε αποτελούν το κύριο έκκριμα της νευρικής απόληξης είτε συνεκκρίνονται μαζί με τον παράγοντα. Πρέπει να σημειωθεί ότι κάθε νευρώνας εκκρίνει μόνο έναν μικρού μοριακού βάρους κύριο νευρομεταβιβαστή, αλλά συνεκκρίνει πολλούς μεγάλου μοριακού βάρους (10-13).

Οι πεπτιδικό μεταβιβαστές εξασκούν περισσότερο παρατεταμένη δράση σε σχέση με τους μικρού μοριακού βάρους μεταβιβαστές, επειδή αποικοδομούνται με βραδύτερο ρυθμό και προορίζονται για μεσο- και μακροπρόθεσμες ρυθμίσεις. Οι μεταβιβαστές αυτοί ενεργούν αφενός ως ορμονικοί, παρακρινικοί ή αυτοκρινικοί παράγοντες, αφετέρου ως νευρομεταβιβαστές· ο τελευταίος ρόλος είναι τόσο εκτεταμένος, ώστε να γίνεται λόγος για πεπτιδεργικό νευρικό σύστημα ως μέρος του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Οι πεπτιδικό νευρομεταβιβαστές καλούνται νευροπεπτίδια (13-15).

Οι τρόποι δράσης των πεπτιδικών μεταβιβαστών σε σχέση με τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης είναι οι ακόλουθοι:

α) Τροποποίηση της λειτουργίας νευρικών οδών του κεντρικού αυτόνομου νευρικού συστήματος. Τούτο επιτυγχάνεται με τη διέγερση οδωτικών ή ανασταλτικών υποδοχέων ευρισκόμενων στους δενδρίτες, το σώμα ή τις απολήξεις του νευράξονα. Με τον τρόπο αυτό μεταβάλλεται ο ουδός διέγερσης του νευρικού κυττάρου ή η ανταπόκριση των απολήξεων από άποψη ποσότητας εκλυόμενων νευρομεταβιβαστών, στο αφικνούμενο δια τους νευράξονος ηλεκτρικό ερέθισμα. Πολύπλοκα νευρωνικά δίκτυα εξηγηρετούν ρυθμιστικούς ρόλους είτε μέσω κυκλωμάτων ανάδρασης είτε με μεταφορά πληροφοριών από άλλες θέσεις (16,17).

β) Ρύθμιση της έκκρισης κατεχολαμινών και ακετυλοχολίνης από τους περι-



**Εικόνα 8.1:** Σχηματική παράσταση της διαδρομής των πεπτιδίων. Κάθε πεπτίδιο απελευθερώνεται από ειδικά κύτταρα είτε με την ενεργό μορφή είτε με τη μη ενεργό, η οποία όμως μετατρέπεται σε ενεργό μορφή από ειδικά ενεργοποιητικά ένζυμα. Τα πεπτίδια ασκούν τη δράση τους στα κύτταρα στόχους διεγείροντας ειδικούς υποδοχείς που ευρίσκονται σε αυτά. Στη συνέχεια και σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με τις κατεχολαμίνες και τους αμινοξεομεταβιβαστές που η αδρανοποίησή τους γίνεται με επαναπρόσληψη, τα πεπτίδια αδρανοποιούνται από μεταβολικά ένζυμα. *Trends Pharmacol. Sci.* 21,2000

φερειακούς (γαγγλιακούς) νευρώνες του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Οι μηχανισμοί είναι ανάλογοι με τους παραπάνω (15,17-19).

γ) Αγγειοκινητικές δράσεις που εξασκούνται στο τοίχωμα των αγγείων είτε κατ' ευθείαν επί των λείων μυϊκών ινών είτε δια μέσου των ενδοθηλιακών κυττάρων τα οποία προκαλούνται να παραγάγουν και να απελευθερώσουν αγγειοκινητικούς παράγοντες (20,21).

δ) Τροποποίηση στη σωληναριακή επαναρρόφηση με αγγειοκινητικούς μηχανισμούς ή με άμεση επίδραση στην αντλητική λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων των ουροφόρων σωληναρίων (22).

## Πεπτίδια στο νευρικό σύστημα

### Νευροπεπτίδια

Τα νευροπεπτίδια ανευρίσκονται σε διάφορα επίπεδα μέσα στο κεντρικό νευρικό σύστημα καθώς και στις απολήξεις των γαγγλιακών νευρώνων του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Οι κυριότερες εντοπίσεις νευροπεπτιδίων που επηρεάζουν τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης είναι οι ακόλουθες (16,23-26):

1) Στο υποφλοιώδες μεταιχμιακό σύστημα που περιλαμβάνει την αμυγδαλή, τον ιππόκαμπο και τον πυρήνα της τελικής ταινίας μετά των διασυνδέσεών τους.

- 2) Στους κεντρικούς πυρήνες του αυτόνομου νευρικού συστήματος, όπου λαμβάνουν χώρα φυγόκεντρες και κεντρομόλες συνδέσεις, που περιλαμβάνουν τους υποθαλαμικούς πυρήνες, τον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας, τους αισθητικούς προμηκικούς πυρήνες, τους κοιλιοπλάγιους προμηκικούς πυρήνες και ειδικότερα τον (πρόσθιο) ραμφιαίο και τον (οπίσθιο) ουραίο που λειτουργούν αντίστοιχα ως διεγερτικά και ανασταλτικά κέντρα του αγγειακού τόνου, την προμηκονωτιαία οδό και τους νωτιαίους πυρήνες.
- 3) Στα γάγγλια του αυτόνομου κεντρικού συστήματος.
- 4) Στις απολήξεις των γαγγλιακών (περιφερειακών) νευρώνων.

Τα νευροπεπτίδια συνηθέστατα συνεκκρίνονται μαζί με τον κύριο νευρομεταβιβαστή. Ο ρόλος τον οποίο διαδραματίζουν στην αρτηριακή πίεση τα νευροπεπτίδια που δρουν στο αυτόνομο κεντρικό νευρικό σύστημα από τους κεντρικούς μέχρι τους προγαγγλιακούς νευρώνες, είναι ακόμη πολύ αδρά γνωστός και αποτελεί αντικείμενο εκτεταμένων μελετών. Τα περισσότερα μελετημένα πεπτίδια στις θέσεις αυτές είναι τα ακόλουθα (11-13,27):

1) **Οπιοειδή.** Είναι πεπτίδια που οι φαρμακολογικές τους δράσεις υπενθυμίζουν εκείνες των αλκαλοειδών του οπίου. Υπάρχουν τρεις βιοσυνθετικές οικογένειες:

- α) Της προ-οπιομελανοκορτίνης, από την οποία συντίθενται ως τελικά προϊόντα η ACTH, η μελανοκορτίνη και το οπιοειδές β-ενδορφίνη.
- β) Της προεγκεφαλίνης που παράγει τα οπιοειδή εγκεφαλίνες.
- γ) Της πρόδρομης ουσίας της προδυνορφίνης, από την οποία προέρχονται οι νεοενδορφίνες και η δυνορφίνη.

Εκτός από τους αυτόνομους πυρήνες, η παρουσία των οπιοειδών έχει πιστοποιηθεί σε αδενικούς ιστούς συναρτώμενους με το αυτόνομο νευρικό σύστημα και ειδικότερα τη νευροϋπόφυση (όπου συνεκκρίνεται η δυνορφίνη με τη βαζοπρεσσίνη), την αδενοϋπόφυση (όπου οι β ενδορφίνες συνεκκρίνονται με την ACTH από κοινού ή/και από κοινού και με την τελευταία ρυθμίζουν την έκκριση των κορτικοστεροειδών και της νοραδρεναλίνης) και τη μυελώδη μούρα των επινεφριδίων που αντιστοιχώντας σε συμπαθητικό γάγγλιο εκκρίνει μαζί με τις κατεχολαμίνες και εγκεφαλίνες.

Οι κλασικοί υποδοχείς των οπιοειδών είναι τριών κατηγοριών και καθένας έχει μεγαλύτερη συγγένεια με μία εκ των οικογενειών. Ειδικότερα, οι μ-υποδοχείς φιλούν την β-ενδορφίνη και τη μορφίνη, οι κ-υποδοχείς φιλούν τη δυνορφίνη και οι δ-υποδοχείς φιλούν την εγκεφαλίνη. Αν και η χορήγηση εξωγενών οπιοειδών συνεπάγεται αποτελέσματα εξαρτώμενα από πολλούς παράγοντες, ωστόσο σε γενικές γραμμές μπορεί να λεχθεί ότι οι β-ενδορφίνες και η δυνορφίνη μειώνουν την αρτηριακή πίεση, ενώ οι εγκεφαλίνες την αυξάνουν (28-32).

- 2) **Αγγειοτασίνη II.** Η ουσία αυτή μεταφέρεται δια των αιμοφόρων αγγεί-

ων και διέρχεται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό σε ορισμένες θέσεις. Παράγεται επίσης αυτοχθόνως στο τοίχωμα των αγγείων και ακόμη ελευθερούται ως νευρομεταβιβαστής. Μεγάλος αριθμός εργασιών έχει αποδείξει ότι εντός των νευρώνων του κεντρικού νευρικού συστήματος υπάρχει πλήρες σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης. Υποστηρίζεται, ακόμη, ότι η κύρια μορφή νευρομεταβιβαστή είναι η αγγειοτασίνη III που προέρχεται από μετασχηματισμό της II. Δι-εγείρει τους κεντρικούς υποθαλαμικούς πυρήνες του συμπαθητικού, την έκκριση αντιδιουρητικής ορμόνης και δημιουργεί το αίσθημα της δίψας. Η κεντρική παραγωγή Αγγειοτασίνης II και III διαδραματίζει σοβαρό ρόλο στη ρύθμιση καρδιαγγειακών λειτουργιών. Η αυξημένη δραστηριότητα του συστήματος προκαλεί αρτηριακή υπέρταση, σύμφωνα δε με υπάρχοντα στοιχεία συνδέεται με γενετικά μεταδιδόμενη υπέρταση. Θα συζητηθεί εκ νέου με τις πεπτιδικές ορμόνες (33,34).

3) **Ταχυκινίνες ή νευροκινίνες** Η οικογένεια περιλαμβάνει την ουσία P και τις νευροκινίνες A και B. Εντοπίζονται κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα (όπου συνεκκρίνονται με τη σεροτονίνη και την ακετυλοχολίνη), καθώς και στους περιφερειακούς αισθητικούς νευρώνες (35-39).

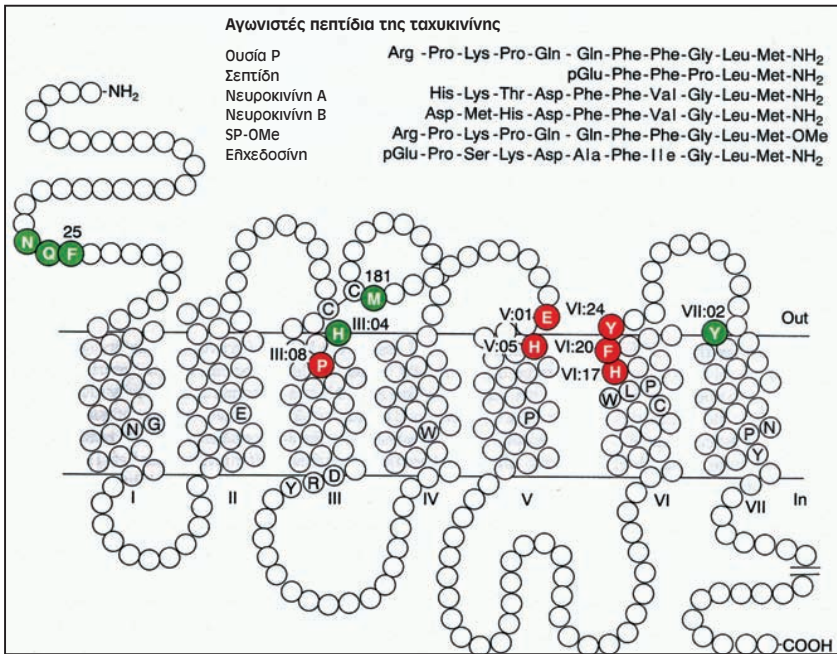
4) **Σωματοστατίνη.** Απαντά κυρίως στον υποθάλαμο, επιπλέον δε σε άλλες θέσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος καθώς και σε περιφερειακά νεύρα (40).

5) **Νευροπεπτίδιο Υ.** Έχει ευρεία κατανομή στο κεντρικό και περιφερειακό νευρικό σύστημα με τις μεγαλύτερες πυκνότητες ανευρισκόμενες στον υποθάλαμο. Ενεργώντας σε προσυναπτικό επίπεδο, αναστέλλει την έκκριση νοραδρεναλίνης· ενιέμενο στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό προκαλεί καταστολή και πτώση της αρτηριακής πίεσης. Οι περιφερικές του ενέργειες θα αναφερθούν σε άλλη θέση (41,42).

6) **Αγγειοδραστικό Εντερικό Πεπτίδιο (VIP: Vasoactive Intestinal Peptide).** Ανευρίσκεται στον εγκεφαλικό φλοιό, τον υποθάλαμο, το μεταιχμιακό σύστημα, τον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας, τον νωτιαίο μυελό, τα συμπαθητικά γάγγλια και τα επινεφρίδια, καθώς και στις απολήξεις των περιφερειακών νευρώνων. Οι κεντρικές δράσεις του σχετίζονται με τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης (43-46). Οι περιφερικές θα εξετασθούν στη συνέχεια.

7) **Πεπτίδιο Σχετιζόμενο με το Γονίδιο της Καλσιτονίνης (CGRP: Calcitonine Gene Related Peptide).** Ανευρίσκεται σε νευρώνες του ΚΝΣ που ανήκουν στο αυτόνομο νευρικό σύστημα. Σε ορισμένους κεντρικούς νευρώνες συνεκκρίνε-





**Εικόνα 8.2:** Μοντέλο δομής του υποδοχέα NK1 της οικογένειας των ταχυκινινών. Πρόκειται για υποδοχέα της κατηγορίας των GPCR (G Protein Coupled Receptor: Υποδοχέας συνδεδεμένος με G-πρωτεΐνη). Επισημαίνονται τα υπόλοιπα αμινοξέων (μαύρο) που έχουν σχέση με την αλληλουχία της ουσίας P και εκείνα που έχουν σχέση με τη σύνδεση επίσης της ουσίας P αλλά και των A και B νευροκινινών (πράσινα). Επίσης επισημαίνονται τα υπόλοιπα αμινοξέων που έχουν σχέση με τη σύνδεση πειραματικών αποκλειστών (κόκκινα).

*Trends Pharmacol. Sci.* 18, 1997

ται με την ουσία P ή την ακετυλχολίνη. Ο ρόλος του στο ΚΝΣ είναι αντιυπερτασικός (35,47-49). Το CGRP έχει επίσης βασικό ρόλο στην αισθητική νευρώση των εγκεφαλικών αγγείων και στην εμφάνιση της ημικρανίας και άλλων διαταραχών που σχετίζονται με την κεφαλαλγία. Αποκλειστές των υποδοχέων του πεπτιδίου αυτού έχουν δοκιμασθεί με επιτυχία στην κλινική πράξη (50).

**8) Νατριουρητικά πεπτίδια (NP: Natriuretic Peptides).** Εκτός από το καρδιακής προέλευσης κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο (ANP: Atrial Natriuretic Peptide), όμοιο έχει βρεθεί σε νευρώνες του υποθαλάμου και του εγκεφαλικού στελέχους, ιδιαίτερα δε σε πυρήνες που σχετίζονται με καρδιαγγειακές λειτουργίες και την οικονομία του ύδατος (51). Ειδικότερα, απαντά στον πρόσθιο υποθάλαμο, στους παρακοιλιακούς και τον τοξοειδή πυρήνα, σε περιοχές του μεταιχμιακού (limbic forebrain) συστήματος και σε ραχιαίους πυρήνες της γέφυρας. Η τοπική δράση του μειώνει την παραγωγή της αντιδιουρητικής

ορμόνης και τον τόνο του συμπαθητικού και είναι ανταγωνιστική προς εκείνη της αγγειοτασίνης II.

Συγγενές προς το προηγούμενο είναι το Εγκεφαλικό Νατριουρητικό Πεπτίδιο (BNP: Brain Natriuretic Peptide). Δεν ανευρίσκεται μόνο στις ίδιες περιοχές με το ANP αλλά σε αρκετά ευρύτερο χώρο. Εξασκεί τη δράση του στους ίδιους υποδοχείς με το ANP και τα αποτελέσματα είναι ανάλογα. Ο κατάλογος δεν εξαντλείται με τα παραπάνω νευροπεπτίδια, εκτενέστερη, όμως, ανάπτυξη του θέματος γίνεται σε κεφάλαιο που ακολουθεί.

### **Πεπτίδια στο τοίχωμα των αγγείων**

Πεπτιδικοί μεταβιβαστές παράγονται στις απολήξεις των γαγγλιακών νευρώνων στον μυϊκό ιστό των αγγείων και στο ενδοθήλιο.

#### ***Κυριότερα νευροπεπτίδια των νευρικών απολήξεων***

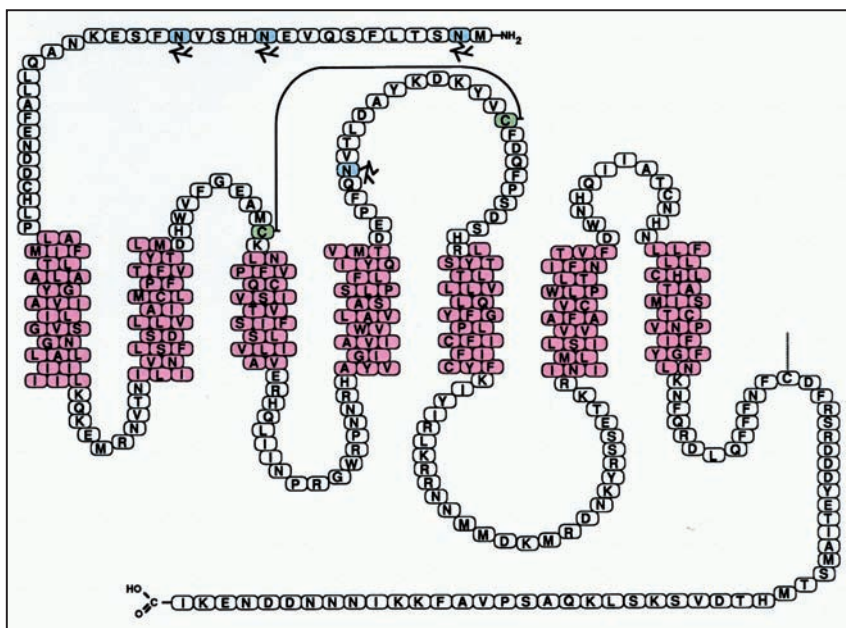
1) **Νευροπεπτίδιο Υ.** Το νευροπεπτίδιο Υ απελευθερώνεται μαζί με τη νοραδρεναλίνη. Ενεργεί σε μετασυναπτικούς υποδοχείς και, προκαλώντας δημιουργία τριφωσφορικής ινοσιτόλης ( $IP_3$ ), απελευθερώνει ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$  προς σύσπαση των λείων μυϊκών ινών, συναγωνιζόμενο σε ισχύ την αγγειοτασίνη II. Η διέγερση προσυναπτικών υποδοχέων δρά ανασταλτικά και χαλιναγωγεί την έκκριση νοραδρεναλίνης (52,53).

Το νευροπεπτίδιο Υ πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνο για τη μακράς διάρκειας αγγειοσύσπαση μετά τη διέγερση του συμπαθητικού που δεν διαμεσολαβείται, όμως, από τη νοραδρεναλίνη. Παράλληλα ενδυναμώνει την αγγειοσύσπαση που προκαλείται από τη νοραδρεναλίνη και έχει τη δυνατότητα να αποκαταστήσει την άμβλυνση της αγγειοσύσπασης που προάγεται από την κατεχολαμίνη αυτή (54).

2) **Αγγειοδραστικό Εντερικό Πεπτίδιο (VIP).** Είναι ισχυρός αγγειοδιασταλτικός παράγοντας. Η δράση του δεν σχετίζεται με αδρενεργικούς ή χολινεργικούς υποδοχείς, ούτε με τις προσταγλανδίνες· εν μέρει εξαρτάται από την παρουσία ενδοθηλιακών παραγόντων. Διεγείρει, επίσης, την παραγωγή ρενίνης. Έχει λειτουργικές ομοιότητες με την γλυκαγόνη, που συμπληρώνονται με θετική ινότροπη ενέργεια στο μυοκάρδιο (55-59).

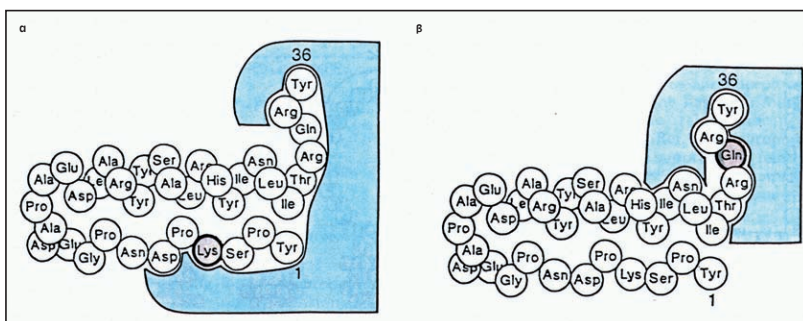
3) **Νευροκινίνες.** Είναι αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες για τις περιφερειακές αρτηρίες, ενώ συσπούν την πνευμονική αρτηρία, τις φλέβες, όπως την πυλαία, καθώς και τους βρόγχους (60).

4) **Οπιοειδή πεπτίδια.** Η δυνορφίνη αποτελεί τον κύριο εκπρόσωπο στις



Εικόνα 8.3: Υποδοχέας  $\gamma_1$  του νευροπεπτιδίου  $\gamma$ . Καταγράφονται οι αλληλουχίες των αμινοξέων στο μόριο του υποδοχέα ο οποίος ανήκει στους GPCR (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνη. Αναπαριστάνονται τα διαμεμβρανικά τμήματα (ροζ), οι πιθανές θέσεις γλυκοζυλίωσης στο N-πέρασ (μπλε) και η δισουλφιδική γεφύρωση μεταξύ δύο εξωκυττάρων αγκυλών (πράσινο).

*Trends Pharmacol. Sci 15, 1994*



Εικόνα 8.4: Σύνδεση του νευροπεπτιδίου  $\gamma$  με τους υποδοχείς του. Η σύνδεση των N και C-περάτων του μορίου του υποδοχέα μέσω της δικην φουρκέτας αγκύλης είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την αναγνώριση του υποδοχέα. (α) Ο υποδοχέας  $\gamma_1$  διεγείρεται μόνο όταν τα N και C-πέρατα του μορίου του νευροπεπτιδίου  $\gamma$  είναι ακέραια. (β) Αντίθετα, ο υποδοχέας  $\gamma_2$  αναγνωρίζει μια μεγάλη ποικιλία αποσπασθέντων τμημάτων του μορίου του νευροπεπτιδίου  $\gamma$  και του C-πέρατος. Η αντικατάσταση του αμινοξέος Lys (μαύρο) και του αμινοξέος Gln (μαύρο) στο μόριο του νευροπεπτιδίου  $\gamma$  περιορίζει τη συγγένεια του νευροπεπτιδίου για τους  $\gamma_1$  και  $\gamma_2$  υποτύπους του υποδοχέα, αντίστοιχα.

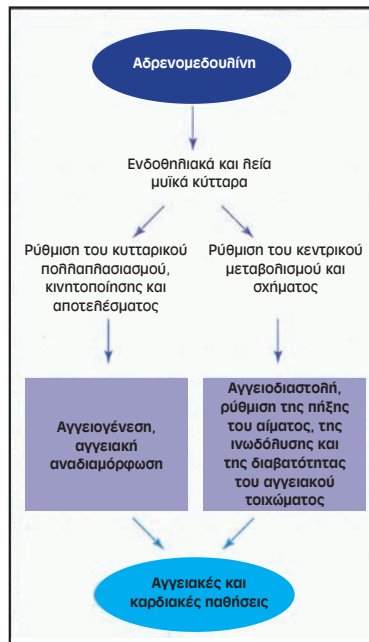
*Trends Pharmacol. Sci 15, 1994*

νευρικές απολήξεις των αγγείων όπου, διεγείροντας κ-υποδοχείς επί των λείων μυϊκών ινών, προκαλεί διαστολή (61-64).

**5) Πεπτίδια Σχετιζόμενα προς το Γονίδιο της Καλσιτονίνης (CGRP: Calcitonin Gene Related Peptides).** Τα CGRPs αυξάνουν τον αριθμό των επιφανειακών υποδοχέων της ακετυλχολίνης. Παρουσία ενδοθηλίου εξασκούν ισχυρή αγγειοδιασταλτική δράση που οφείλεται σε αύξηση της cAMP των λείων μυϊκών ινών (65,66).

Η αδρενομεδουλίνη είναι ένα από τα πεπτίδια αυτά. Τόσο τα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και οι λείες μυϊκές ίνες των αγγείων, καθώς, επίσης, και τα μακροφάγα, απελευθερώνουν την αδρενομεδουλίνη η οποία δρα αυτοκρινώς και παρακρινώς καθώς τα κυτταρικά αυτά στοιχεία παρουσιάζουν επίσης υποδοχείς του πεπτιδίου αυτού. Η αδρενομεδουλίνη μεθοδεύει μια αξιοσημείωτη σειρά αγγειοδραστικών ενεργειών όπως η αγγειοδιαστολή, η αναστολή του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος, η αναστολή της ενδοθηλιακής απόπτωσης και η προαγωγή της αγγειογένεσης. Πιστεύεται ότι η προκαλούμενη αγγειοδιαστολή είναι αφενός ενδοθηλιοεξαρτώμενη και πραγματοποιείται από το οξείδιο του αζώτου (NO), αφετέρου ενδοθηλιοανεξάρτητη μέσω της αύξησης της cAMP στις λείες μυϊκές ίνες. Οι υποδοχείς στο αγγειακό τοίχωμα παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση στις καρδιαγγειακές νόσους, στην υπέρταση, και αυτό θεωρείται ως ένας αντιρροπιστικός αμυντικός μηχανισμός, καθώς και στη σηπτική καταπληξία. Είναι πλέον φανερό ότι η ενεργοποίηση ή η διάσπαση της σηματοδότησης από το πεπτίδιο αυτό μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη πολλών παθολογικών καταστάσεων όπως είναι οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η πνευμονική υπέρταση, η αθηρωμάτωση, η νεφρική ανεπάρκεια και διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις (67-69).

Εκτός από την αδρενομεδουλίνη, στην ίδια κατηγορία πεπτιδίων ανήκουν η αμυλίνη και το 37-αμινοξυ-νευροπεπτίδιο CGRP. Τα πεπτίδια της ομάδας αυτής ασκούν τη δράση τους μέσω των υποδοχέων CGRP. Πρόκειται για υποδοχείς που ανήκουν στους υποδοχείς GPCR (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνη). Οι υποδοχείς αυτοί είναι συνδεδεμένοι με πρωτεΐνες RAMPs (Receptor Modifying Proteins: Πρωτεΐνες τροποποιητικές των υποδοχέων) που προκαλούν την κίνηση και τη σύνδεση του υποδοχέα με τον προσδέτη και με τις πρωτεΐνες RCP (Receptor Component Protein: Πρωτεΐνη συστατικό του υποδοχέα) που ρυθμίζουν τη σύνδεση του υποδοχέα με το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης. Η αμυλίνη δεν φαίνεται να έχει άμεση δράση στα αγγεία και δρα συμπληρωματικά με την ινσουλίνη. Το 37-αμινοξυ-νευροπεπτίδιο CGRP έχει αγγειοδιασταλτική δράση· υπό φυσιολογικές συνθήκες η δράση του είναι αντιρροπιστική στην αγγειακή αντίσταση, οι ενέργειες αυτές

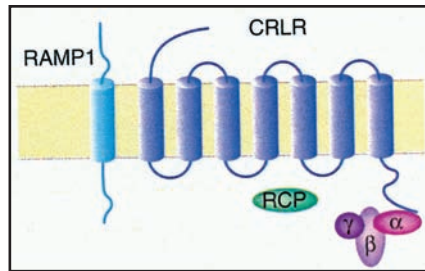


**Εικόνα 8.5:** Αγγειοδραστικές ενέργειες της αδρενομεδουλίνης. Καταγράφονται οι αγγειοδραστικές ενέργειες του πεπτιδίου αυτού που καθορίζουν και το σημαντικό ρόλο που αυτό ασκεί στη λειτουργία και εξέλιξη του αγγειακού τοιχώματος. *Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*

στα αγγεία επιτείνονται κατά την υπέρταση, ενώ το ίδιο πεπτίδιο φαίνεται να σχετίζεται με την ημικρανία. Η επιτευχθείσα σύνθεση αποκλειστών των υποδοχέων αυτών θα δώσει στο μέλλον περισσότερες πληροφορίες και θεραπευτικές δυνατότητες για τον ακριβή ρόλο των υποδοχέων αυτών (70).

**Πεπτίδια που συντίθενται στον μυϊκό χιτώνα των αγγείων και εκκρίνονται για παρακρινική δράση**

1) **Κινίνες και βραδυκινίνη.** Παράγονται από πρωτεΐνες του πλάσματος, τα χαμηλού και υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνα (LMWK:Low Molecular Weight Kininigen, HMWK: High Molecular Weight Kininigen), που υφίστανται κατεργασία από ορισμένα πρωτεολυτικά ένζυμα, ανάμεσα στα οποία τον πρωτεύοντα ρόλο έχει η καλλικρεΐνη του πλάσματος και των ιστών. Η καλλικρεΐνη του πλάσματος κυκλοφορεί ως προκαλλικρεΐνη, ενεργεί εκλεκτικά στο HMWK και η ενεργοποίησή της από τον παράγοντα XII συνδέει την πήξη με την ινωδύση, την ενεργοποίηση του συμπλέγματος και τη φλεγμονή. Η ιστική καλλικρεΐνη απαντά στους νεφρούς, τις αρτηρίες, τις φλέβες, τον σπλήνα, τον εγκέφαλο, την υπόφυση, τα επινεφρίδια, τους σιαλογόνους αδένες, το πάγκρεας, το έντε-

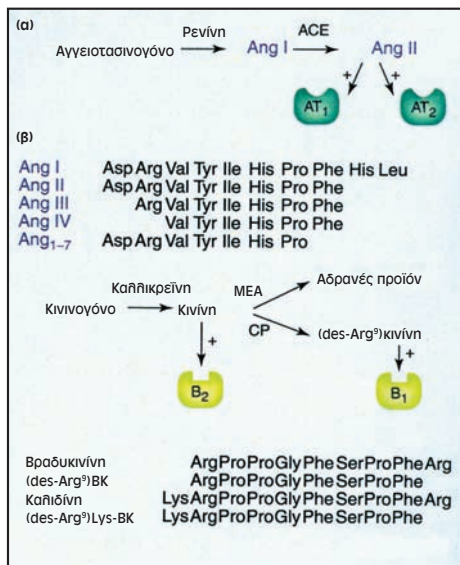


**Εικόνα 8.6: Υποδοχέας του 37-αμινοξυ-νευροπεπτιδίου CGRP.** Οι υποδοχείς αυτοί ανήκουν στους υποδοχείς GPCR (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς συνδεόμενοι με G-πρωτεΐνη) και συγκεκριμένα στην ομάδα των CRLR (Calcitonin Receptor-Like Receptor:Υποδοχέας δί-κην υποδοχέα καλσιτονίνης) και είναι συνδεδεμένοι με πρωτεΐνες RAMPs (Receptor Modifying Proteins: Πρωτεΐνες τροποποιητικές των υποδοχέων) που μεθοδεύουν την κίνηση και τη σύνδεση του υποδοχέα με τον προσδέτη και με τις πρωτεΐνες RCP (Receptor Component Protein: Πρωτεΐνη συστατικό του υποδοχέα) που ρυθμίζουν τη σύνδεση του υποδοχέα με το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης.

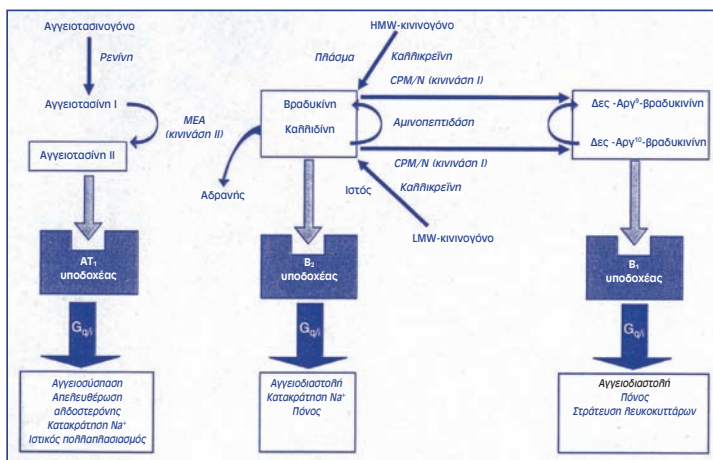
*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*

ρο και στους ιδρωτοποιούς αδένες, περιεχόμενη στο έκκριμά τους. Σε μικρές ποσότητες, εκκρίνεται και στο αίμα και στους διάφορους ιστούς. Οι κινίνες καταστρέφονται ταχέως εντός των αγγείων από το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης που εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα η δράση των παραγόμενων στην κυκλοφορία ενός οργάνου να μην εξέρχεται των ορίων του· συνήθως εξασκούν μόνο τοπικά άμεση ρυθμιστική δράση επί της κυκλοφορίας. Οι κινίνες εξασκούν στα αγγεία δύο ειδών δράσεις. Η άμεση δράση συνίσταται σε σύσπαση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων· σύσπαση επίσης προκαλούν στα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών, τα οποία αποχωριζόμενα αφήνουν διάκενα μεταξύ τους που επιτρέπουν αυξημένη διήθηση υγρού. Ο συσπαστικός μηχανισμός κινητοποιείται από την ενδοκυττάρια παραγωγή  $IP_3$  (Inositol Triphosphate:Τριφωσφορική ινοσιτόλη). Η έμμεση δράση είναι αγγειοδιασταλτική και εξαρτάται από την παρουσία ενδοθηλίου (71-73).

2) **Αγγειοτασίνη II.** Εκτός από την κυκλοφορούσα αγγειοτασίνη που προέρχεται από τη νεφρική έκκριση ρενίνης, υπάρχει ιστική αγγειοτασίνη δημιουργούμενη από τοπική παραγωγή ρενίνης σε διάφορα όργανα. Η τοπική, στο τοίχωμα των αγγείων, δραστηριότητα της ρενίνης συζητείται κατά πόσον προέρχεται από αποθησαύριση κυκλοφορούσης ρενίνης ή από ελευθέρωση προρενίνης. Η προρενίνη είναι αδρανής εντός της κυκλοφορίας εξαιτίας της παρουσίας αναστολέων των πρωτεασών εντός του πλάσματος· εντός των ιστών, όμως, έχει τη δυνατότητα να εναλλάσσει μορφές μεταπίπτοντας από την ανενεργό σε ενεργό και τανάπαλιν. Όμως, και ενόσω δεσμεύεται σε ορισμένους υποδοχείς, σταθεροποιείται η ενεργός μορφή (74-76).



**Εικόνα 8.7:** Συστατικοί παράγοντες του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης και βιοσύνθεση της βραδυκίνης. Καταγράφονται οι μηχανισμοί σύνθεσης της αγγειοτασίνης II και της βραδυκίνης. Απεικονίζονται επίσης οι υποδοχείς των ουσιών αυτών και παράλληλα οι συντιθέμενες ομοειδείς ουσίες. *Trends Pharmacol. Sci.* 23,2002



**Εικόνα 8.8:** Αλληλεπίδραση του άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης με τον άξονα καλλικρεΐνης-κινίνης. Κομβικό σημείο αλληλεπίδρασης είναι το MEA (Μετατραπτικό Ένζυμο της Αγγειοτασίνης). Καταγράφονται οι βιολογικές δράσεις από την ενεργοποίηση των δύο αυτών άξονων. *Brunton L.: Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 2006*

Το αγγειοτασινογόνο σύμφωνα με σοβαρές ενδείξεις είναι δυνατόν να παραχθεί σε διάφορους ιστούς για τοπική χρήση, πέρα από το παραγόμενο από το ήπαρ. Αξιόλογη πηγή αποτελεί το κοιλιακό λίπος. Το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης συντίθεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά φαίνεται ότι υπάρχει και σε πολλά άλλα. Σύμφωνα με τα παραπάνω, το ιστικό σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης λειτουργεί αυτοδύναμα, ανεξάρτητα από την παραγωγή νεφρογενούς ρενίνης· πιστεύεται ότι το όλο σύστημα δύναται ακόμη να ενεργοποιηθεί εντελώς ενδοκυττάρια. Από διάφορες πειραματικές μελέτες προκύπτει ότι το ιστικό (αρτηριακό) σύστημα (προ-ρενίνης-αγγειοτασίνης) διαδραματίζει σοβαρό ρόλο τόσο, τις τοπικές μεταβολές του αγγειακού τόνου, όπως ενδονεφρικά, όσο και στην ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης (75-77).

Οι αγγειοκινητικές δράσεις της αγγειοτασίνης II εξασκούνται με διάφορους τρόπους (77):

- α) Άμεση συσπαστική ενέργεια επί των λείων μυϊκών ινών μέσω παραγωγής  $IP_3$  αφενός και μείωση της cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη) αφετέρου.
- β) Αύξηση της έκκρισης νοραδρεναλίνης από τις απολήξεις των συμπαθητικών νευρών.
- γ) Μείωση της επαναπρόσληψης νοραδρεναλίνης από τις τελευταίες.
- δ) Ευαισθητοποίηση των α-αδρενεργικών υποδοχέων των λείων μυϊκών ινών έναντι της νοραδρεναλίνης.

Η αγγειοτασίνη II επιπρόσθετα διεγείρει τη λειτουργία ογκογονιδίων και την παραγωγή αυτοκρινών και παρακρινών αυξητικών παραγόντων που οδηγούν σε υπερτροφία και υπερπλασία τις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων. Η σημασία του φαινομένου, όταν αφορά στις αρτηρίες που αρδεύουν τους νεφρούς, είναι εύλογη για την επιδείνωση της αρτηριακής υπέρτασης (78,79). Ανάλογο ιστικό σύστημα είναι υπεύθυνο για την παραγωγή αγγειοτασίνης II στο μυοκάρδιο, όπου συμβάλλει σοβαρά στην ανάπτυξη υπερτροφίας και απόπτωσης.

Δεν είναι ικανοποιητικά γνωστός ο τρόπος με τον οποίο εξασκείται έλεγχος στη λειτουργία του ιστικού συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης. Οπωσδήποτε έχει διαπιστωθεί ότι διεγείρεται κατά τη νατριοπενία (σιτιογενή ή από τα διουρητικά) και τη  $\beta_1$ -αδρενεργική διέγερση, αποδεικνυόμενης θετικής ανατροφολόγησης με το συμπαθητικό νευρικό σύστημα.

### **Πεπτίδια στο ενδοθήλιο των αγγείων**

1) **Αγγειοτασίνη II.** Προφανώς παραγόμενη από την κυκλοφορούσα αγγειοτασίνη I μέσω του ενδοθηλιακού μετατρεπτικού ενζύμου. Η αγγειοτασίνη II διεγείρει στο ενδοθήλιο την παραγωγή προσταγλανδινών και NO (Nitric Oxide: Οξειδίο του αζώτου), που αποσκοπεί στη μείωση της καταχρηστικής αγγειοσύσπασης. Οι ενέργειες αυτές αποδίδονται σε διέγερση των  $AT_2$ -υποδοχέων (80,81).



2) **Κινίνες.** Μολονότι άμεσα είναι αγγειοσυσπαστικοί παράγοντες, η επίδρασή τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα προκαλεί την παραγωγή τόσο προσταγλανδινών όσο και αγγειοδιασταλτικών παραγόντων ενδοθηλιακής προέλευσης που υπερακοντίζουν την αγγειοσυσπαστική δράση και προξενούν αγγειοδιαστολή (80,82).

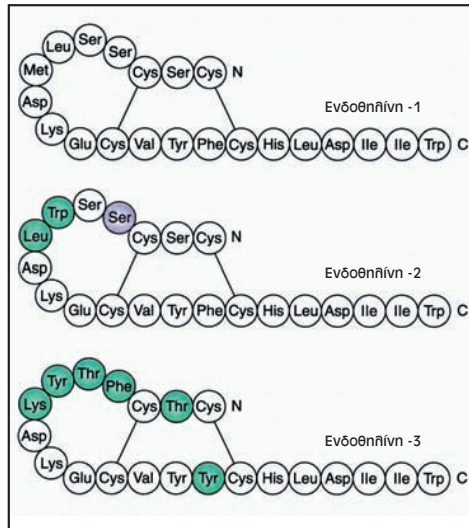
3) **Ενδοθηλίνας.** Πρόκειται για τον ισχυρότερο αγγειοσυσπαστικό παράγοντα. Αποτελούν μια οικογένεια αποτελούμενη από τρία μέλη, τις ενδοθηλίνας ET-1, ET-2 και ET-3. Από αυτές, την ισχυρότερη αγγειοσυσπαστική δράση ασκεί η ET-1. Υποδοχείς τους υπάρχουν στις λείες μυϊκές ίνες, το ίδιο το ενδοθήλιο και το μυοκάρδιο. Στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων προκαλούν σύσπαση. Αρχικά παράγεται  $IP_3$  η οποία απελευθερώνει ενδοκυττάρια αποθηκευμένο  $Ca^{2+}$  και επιπλέον ανοίγει μη ειδικούς διαύλους κατιόντων δια των οποίων εισέρχονται  $Na^+$  και  $Ca^{2+}$  που αποπολώνουν τη λεία μυϊκή ίνα· ακολουθεί διάνομιξη δυναμικοευαίσθητων διαύλων  $Ca^{2+}$  και είσοδος του τελευταίου από τον εξωκυττάριο χώρο. Με τον σύνθετο αυτό μηχανισμό ερμηνεύεται πώς ενεργούν ανταγωνιστικά οι διυδροπυριδίνες που αποκλείουν τους δυναμικοευαίσθητους διαύλους  $Ca^{2+}$ . Η παράλληλα προς την  $IP_3$  παραγόμενη διακυλογλυκερόλη (DAG: Diacylglycerol), πέραν του ότι ενισχύει τη σύσπαση, κινητοποιεί μηχανισμούς υπερτροφίας και υπερπλασίας. Οι τελευταίοι πιθανόν υποδηλώνουν τη συμμετοχή του ενδοθηλίου στη νεοαγγείωση και την ανάπτυξη παράπλευρης κυκλοφορίας (83).

Στο ενδοθήλιο οι ενδοθηλίνας, προκαλούν την απελευθέρωση προστακυκλίνης ( $PGI_2$ : Prostacyclin) και NO, για αναχαίτιση της υπερβολικής αγγειοσύσπασης. Στην αγγειοδιαστολή συμβάλλει η αναστολή της έκκρισης της νοραδρεναλίνης από τις περιφερικές απολήξεις και η διέγερση της έκκρισης του νατριουρητικού πεπτιδίου CNP (C-type Natriuretic Peptide), στο οποίο γίνεται στη συνέχεια αναφορά. Ακόμη, η ενδοθηλίνη προκαλεί στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων υπερπόλωση από εκροή  $K^+$ .

Η χορήγηση εξωγενούς ενδοθηλίνης προκαλεί αρχικά πτώση της πίεσης από κινητοποίηση των προαναφερθέντων αγγειοδιασταλτικών μηχανισμών, που στη συνέχεια ακολουθείται από παρατεταμένη άνοδό της.

Δυσλειτουργούντα ενδοθηλιακά κύτταρα, που χάνουν την ικανότητα παραγωγής αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, διατηρούν την ιδιότητα παραγωγής ενδοθηλίνης (84). Στις στεφανιαίες αρτηρίες τούτο μπορεί να οδηγήσει σε αγγειοσυσπαστική στηθάγχη. Το φαινόμενο της δυσλειτουργίας παρατηρείται ιδιαίτερα σε αναγεννώμενα, κατόπιν βλάβης, ενδοθηλιακά κύτταρα. Δυσλειτουργικά καθίστανται επίσης τα ενδοθηλιακά κύτταρα υπό την επίδραση υψηλής πίεσης ή όταν εμπλουτισθούν με χοληστερόλη.

Στους νεφρούς η ενδοθηλίνη προκαλεί σύσπαση των προσαγωγών και των απαγωγών αρτηριδίων, με αποτέλεσμα την έκπτωση τόσο της νεφρικής άρδευσης όσο και της πειραματικής διήθησης. Μειώνει μεν την έκκριση ρενίνης,



Εικόνα 8.9: Δομή των τριών ισομορφών της ενδοθηλίνης (ET). Τα υπόλοιπα αμινοξέων επισημαίνονται (πράσινο) στις ET-2 και ET-3 υποδηλώνουν τις διαφορές με το μόριο της ET-1. *Trends Pharmacol. Sci.* 25,2004

αλλά προάγει την παραγωγή αγγειοτασίνης II. Κατά πόσον οι δράσεις αυτές ενέχονται ή συμμετέχουν στην παθογένεια διαφόρων μορφών αρτηριακής υπέρτασης είναι αντικείμενο ερευνών.

Συσσωρευόμενα δεδομένα καθιστούν σαφές ότι η ET παίζει σπουδαίο ρόλο σε πολλές καρδιαγγειακές παθήσεις όπως η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, η υπέρταση, η αθηρωμάτωση, η πνευμονική υπέρταση, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και ο σπασμός των εγκεφαλικών αγγείων ύστερα από υπαραχνοειδή αιμορραγία.

Επί καρδιακής ανεπάρκειας και άσχετα με τα αίτια της νόσου, το σύστημα των ενδοθηλινών αναβαθμίζεται και οδηγεί σε υποβάθμιση της καρδιακής λειτουργίας προκαλώντας αρρυθμίες και ανάπτυξη υπερτροφίας. Η σημασία του συστήματος των ενδοθηλινών στην παθογένεια της ιδιοπαθούς υπέρτασης δεν είναι σαφής σε όλες τις λεπτομέρειες. Η ET-1 παράγεται σε διάφορα νεφρικά κύτταρα και έχει σπουδαίο ρόλο στην αιμοδυναμική του νεφρού και στην απέκκριση του νατρίου και του ύδατος (85).

Η σύσπαση του αγγειακού τοιχώματος και η διεγερτική δράση της στη σύνθεση της αγγειοσυσπαστικής και μιτογόνου αγγειοτασίνης II στο επίπεδο του MEA είναι επίσης καθοριστικοί παράγοντες.

### **Νευροπεπτίδια που απελευθερώνονται στο μυοκάρδιο από τις νευρικές απολήξεις**

1) **Αγγειοδραστικό Εντερικό Πεπτίδιο (VIP: Vasoactive Intestinal**

**Peptide), Πεπτίδιο Ιστιδίνης-Ισολευκίνης (PHI: Peptide Histidine-Isoleukin), Πεπτίδιο Ιστιδίνης-Μεθειονίνης (PHM: Peptide Histidine-Methionine).** Τα πεπτίδια αυτά συντίθενται μαζί και συνεκκρίνονται. Ενεργούν αγγειοδιασταλτικά στις στεφανιαίες αρτηρίες και εξασκούν θετική ινότροπη ενέργεια ιδίως στο κοιλιακό μυοκάρδιο (86).

2) **Ουσία Ρ.** Προκαλεί σύσπαση των στεφανιαίων αρτηριών.

3) **Νευροτασίνη.** Εξασκεί αγγειοδιασταλτική δράση και θετική χρονότροπη ενέργεια. Μέρος των ενεργειών της οφείλεται σε απελευθέρωση ισταμίνης από τα σιτευτικά κύτταρα (87).

4) **Νευροπεπτίδιο Υ.** Προκαλεί σύσπαση των στεφανιαίων αρτηριών.

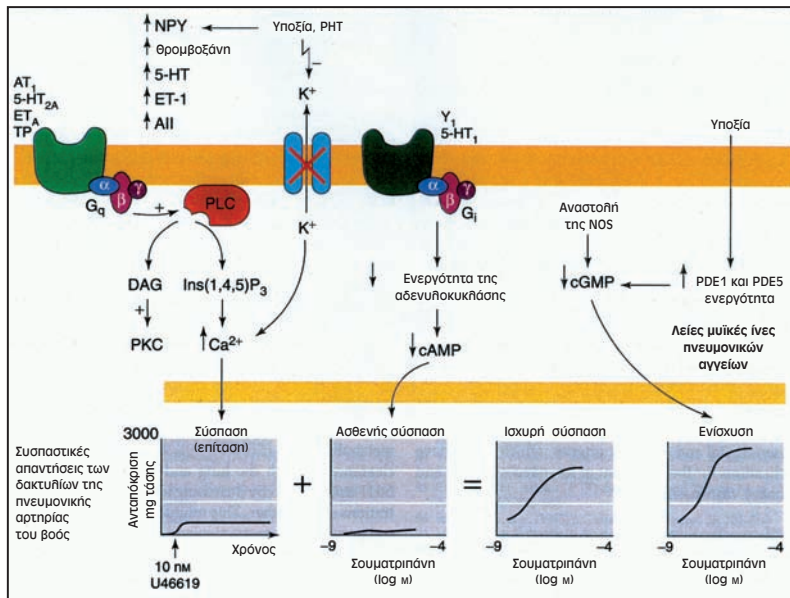
### **Πεπτίδια εκκρινόμενα από τις καρδιακές μυϊκές ίνες**

Από τα καρδιοκύτταρα κατ' εξοχήν των κόλπων, αλλά και δευτερευόντως των κοιλιών, απελευθερώνονται το κοιλιακό νατριουρητικό πεπτίδιο (ANP: Atrial Natriuretic Peptide) και το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο (BNP: Brain Natriuretic Peptide) των οποίων οι δράσεις θα περιγραφούν μετά των ορμονών.

### **Πεπτίδια που ανευρίσκονται στους νεφρούς**

Στους νεφρούς ανευρίσκεται πληθώρα νευροπεπτιδίων στο τοίχωμα των αγγείων του. Οι επιδράσεις που εξασκούν τα νευροπεπτίδια αυτά στον τόνο των αγγείων, ανάλογες εκείνων που έχουν ήδη περιγραφεί για τα λοιπά αγγεία, τροποποιούν τη νεφρική άρδευση και συνεπώς την αναλογική διούρηση. Περισσότερος χώρος θα καταναλωθεί για την παρουσίαση της δράσης της τοπικώς ενεργούσας αγγειοτασίνης II και των κινινών.

1) **Αγγειοτασίνη II.** Παράγεται στον νεφρό εκτός του αυλού των αγγείων και εξυπηρετεί τοπικές ρυθμίσεις. Ρενίνη παράγεται στις μεσολοβίδες αρτηρίες στα απαγωγά και στα προσαγωγά αρτηρίδια, καθώς και στο μεσάγγειο, επιπρόσθετα προς την παρασπειραματική συσκευή που αποτελεί την κύρια θέση παραγωγής της. Αγγειοτασινογόνο συντίθεται επίσης σε διάφορες θέσεις, κυρίως όμως στα επιθηλιακά κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου. Η διηθούμενη ρενίνη κατά τη σπειραματική διήθηση, επαναρροφάται στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάρια, όπου μετατρέπει το αυτόχθον αγγειοτασινογόνο σε αγγειοτασίνη I. Η τελευταία με αυτόχθον μετατρεπτικό ένζυμο μετατρέπεται σε αγγειοτασίνη II, η οποία προκαλεί ισχυρή επαναρρόφηση  $\text{Na}^+$ . Τούτο οφείλεται κυρίως στην ευόδωση της λειτουργίας του συστήματος ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  του οποίου οι αντλίες διεγείρονται από την παραγόμενη DAG, ως αποτέλεσμα της διέγερσης των υποδοχών της αγγειοτασίνης II. Η σύσπαση του απα-



**Εικόνα 8.10: Μοριακοί μηχανισμοί συνεργικής δράσης αγγειοδραστικών πεπτιδίων και της 5-HT σε παρασκευάσμα πνευμονικής αρτηρίας βοός. Η σημασία της υπέρτασης, της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου και της υποξίας στην αύξηση του αγγειακού τόνου. Ενδογενείς προσδέτες διεγείρουν υποδοχείς GPCR (G Protein Coupled Receptor: Υποδοχείς συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνη). Όταν οι υποδοχείς αυτοί είναι συνδεδεμένοι με την G<sub>q</sub>-πρωτεΐνη που ασκεί ανασταλτική δράση στην αδενυλοκυκλάση, τότε η ελάττωση της cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη) δεν είναι σε θέση να προκαλέσει αγγειόσπασμο, αν δεν μεσολαβήσει η διέγερση των υποδοχέων GPCR που συνδέονται με G<sub>s</sub>-πρωτεΐνες. Ακολουθεί η διέγερση του συστήματος της PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C) και ο σχηματισμός της DAG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη) η οποία ενεργοποιεί την PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C) που προάγει φωσφορυλιώσεις πρωτεϊνών και την Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> [Inositol (1,4,5) Triphosphate : Τριφωσφορική (1,4,5) Ινοσιτόλη] η οποία απελευθερώνει ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup> που με τη σειρά του διεγείρει τους μηχανισμούς σύσπασης. Στην κλινική πράξη και σε καταστάσεις πνευμονικής υπέρτασης και υποξίας, κλείνουν οι δίαυλοι του K<sup>+</sup>, θετικοποιείται το εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης και επιτείνεται ο σπασμός, ενώ, παράλληλα, η αυξημένη δράση των PDEs (Phosphodiesterases: Φωσφοδιεστεράσες) που διασπούν την cAMP επιτείνουν τα φαινόμενα αυτά. Παράλληλα, στις καταστάσεις αυτές ελαττώνονται τα ενδοκυττάρια επίπεδα της cGMP (cyclic Guanine Nucleotide: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη) από τη δράση των PDEs αλλά και από τη μειωμένη σύνθεση του NO από τη NOS (NO Synthase: Συνθετάση του NO) λόγω και δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου. Το αποτέλεσμα είναι ότι εξασθενούν οι αγγειοδιασταλτικοί μηχανισμοί που μεθοδεύονται από το κυκλικό αυτό νοκυλεοτίδιο. Η θρομβοξάνη επιτείνει την αγγειοσύσπαση, ενώ η απελευθερωμένη λόγω ισχαιμίας αδενοσίνη (δεν υπάρχει στο σχήμα) δρα ανασταλτικά. Όπου PHT (Pulmonary Hypertension: Πνευμονική υπέρταση), NPY (Neuropeptide Y: Νευροπεπτίδιο Y), ET-1 (Endothelin-1: Ενδοθηλίνη 1), AII (Angiotensin II: Αγγειοτασίνη II), 5-HT (5-Hydroxytryptamine: 5-υδροξυτρυπταμίνη), AT<sub>1</sub> (AT<sub>1</sub>-υποδοχέας της αγγειοτασίνης II), 5-HT<sub>2A</sub> (5-HT<sub>2A</sub>-υποδοχέας της 5-HT), ET<sub>A</sub> (ET<sub>A</sub>-υποδοχέας της ενδοθηλίνης 1), TP (Υποδοχέας της θρομβοξάνης). *Trends Pharmacol. Sci* 20,1999**

γωγού αρτηριδίου συντηρεί την υδροστατική πίεση στο σπείραμα, όταν τείνει να μειωθεί, και αυξάνει τη σωληναριακή επαναρρόφηση. Έτσι επιτυγχάνεται επί απωλείας υγρών διατήρηση της σπειραματικής διήθησης με παράλληλη εξοικονόμηση ύδατος (75-79).

2) **Νεφρικό σύστημα κινινών.** Το σύστημα αυτό αποσκοπεί στη χαλιναγωγή υπερβολικών δράσεων που εξασκούν αγγειοσυσπαστικά, αντινατριουρητικά και αντιδιουρητικά συστήματα. Με τον τρόπο αυτό εξασθενεί υπερτασιογόνους μηχανισμούς. (71,72)

Η λειτουργία του συστήματος αρχίζει με την έκκριση καλικρεΐνης. Η καλικρεΐνη συντίθεται στα επιθηλιακά κύτταρα των συνδετικών σωληναρίων, δηλαδή εκείνων που συνδέουν τα άπω εσπειραμένα σωληνάκια με τα αθροιστικά. Ενεργεί σε κινογόνο που περιέχεται στο διήθημα, προερχόμενο από το πλάσμα ή και από τα επιθηλιακά κύτταρα των σωληναρίων και σχηματίζει τη βραδυκινίνη. Οι ενέργειες της βραδυκινίνης εκδηλώνονται τόσο στο προς τον αυλό τμήμα της μεμβράνης των επιθηλιακών κυττάρων των αθροιστικών σωληναρίων όπου συντίθενται προσταγλανδίνες, κυρίως PGE<sub>2</sub> (Prostaglandin E<sub>2</sub>: Προσταγλανδίνη E<sub>2</sub>), όσο και στα πλαγιοβασικά τμήματα όπου αναστέλλεται η δράση της αντιδιουρητικής ορμόνης. Η γειτνίαση των συνδετικών σωληναρίων προς τα προσαγωγά αρτηρίδια επιτρέπει στην εκκρινόμενη στον διάμεσο χώρο καλικρεΐνη να κινητοποιήσει διασταλτικούς μηχανισμούς γι' αυτά.

Το σύστημα των κινινών δεν παίζει αξιόλογο ρόλο στη νεφρική λειτουργία υπό βασικές συνθήκες. Την έκκριση καλικρεΐνης προάγουν άμεσα η αγγειοτασίνη II, η α<sub>1</sub>-αδρενεργική διέγερση και η αντιδιουρητική ορμόνη, ενώ έμμεσα τα αλατοκορτικοειδή μέσω της κατακράτησης Na<sup>+</sup> και ύδατος.

Το νεφρικό σύστημα των κινινών διαδραματίζει αδιαμφισβήτητο ρόλο στην ομοιοστασία της αρτηριακής πίεσης. Η ανεπάρκειά του έχει διαπιστωθεί σε πολλές εργασίες που αφορούν ιδιοπαθείς ή πειραματικές υπερτάσεις. Ανεπαρκής έκκριση καλικρεΐνης δια των ούρων αποτελεί γενετικό δείκτη σε οικογενείς υπερτάσεις· είναι σοβαρότερη σε πληθυσμούς νέγων. Η αντιυπερτασική δράση των αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης αποδίδεται εν μέρει στη μείωση της αποδόμησης της βραδυκινίνης, ιδιαίτερα σε ασθενείς με χαμηλή ρενίνη όπου η συμμετοχή της αγγειοτασίνης είναι δεδομένα χαμηλή.

### Πεπτιδικές ορμόνες

Πολλές πεπτιδικές ορμόνες συμμετέχουν στην ομοιοστασία της αρτηριακής πίεσης, του ύδατος και των ηλεκτρολυτών. Κατά συνέπεια, εκτροπές που αφορούν στην έκκριση ή στην δραστηριότητά τους εμπλέκονται στην παθογένεια

της αρτηριακής υπέρτασης. Εκείνες για τις οποίες υπάρχουν σαφέστερες γνώσεις παρατίθενται παρακάτω:

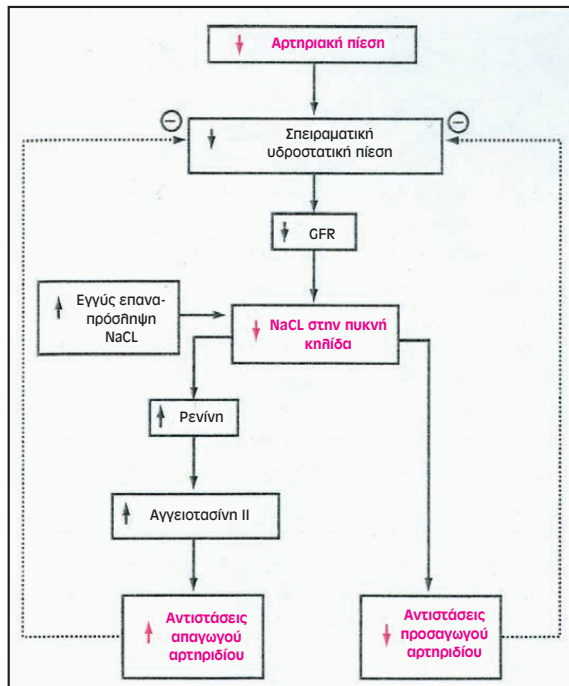
### **Αγγειοτασίνη II**

Οι παρακρινικές δράσεις της αγγειοτασίνης II έχουν ήδη αναφερθεί σε προηγούμενα κεφάλαια. Οι ορμονικές δράσεις της αγγειοτασίνης II αναγνωρίστηκαν νωρίτερα από τις παρακρινικές, εξακολουθούν δε μέχρι σήμερα να θεωρείται ότι παίζουν πρωτεύοντα ρόλο σε σχέση με τις παρακρινικές. Οι ορμονικές δράσεις οφείλονται στην αγγειοτασίνη II, που παράγεται εντός του κυκλοφορούντος αίματος, με τη δράση της ρενίνης, εκκρινόμενης από τους νεφρούς, επάνω στο αγγειοτασινογόνο του πλάσματος και την εν συνεχεία δράση του μετατρεπτικού ενζύμου, το οποίο προέρχεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, επί της αγγειοτασίνης I.

Η κυκλοφορούσα και ορμονικά δρώσα αγγειοτασίνη II επηρεάζει την αρτηριακή πίεση ενεργώντας επί του γενικού αγγειακού τόνου και της νεφρικής άρδευσης και προκαλώντας έκκριση αλδοστερόνης. Με τους δύο τελευταίους τρόπους επεμβαίνει στην οικονομία των ηλεκτρολυτών και του ύδατος και μειώνει την αναλογική διούρηση. Ενεργεί, επίσης, στο ΚΝΣ, όπου αυξάνει τη δραστηριότητα των κέντρων του συμπαθητικού και διεγείρει την παραγωγή αντιδιουρητικής ορμόνης.

Οι επί των νεφρών δράσεις της κυκλοφορούσας αγγειοτασίνης II ομοιάζουν με εκείνες της τοπικά παραγόμενης, είναι όμως γενικευμένες (78,79,88,89). Αυξάνει τις αγγειακές ενδονεφρικές αντιστάσεις και έτσι μειώνει την περισωληνιακή άρδευση, με αποτέλεσμα την αύξηση της επαναρρόφησης. Έχει ισχυρότερη δράση στο απαγωγό αρτηρίδιο ούτως ώστε να βελτιώνει τη σπειραματική διήθηση. Η εκλεκτικότητα της δράσης αποδίδεται αφενός μεν σε διαφορετική κατανομή των υποδοχέων στο προσαγωγό και στο απαγωγό αρτηρίδιο, αφετέρου στο γεγονός ότι η αντιδραστικά συντιθέμενη  $\text{PGE}_2$  είναι περισσότερο δραστική στο προσαγωγό αρτηρίδιο. Η αγγειοτασίνη II συσπά ακόμη τα μεσαγγειακά κύτταρα και, ρικνώνοντας το σπείραμα, περιορίζει την επιφάνεια διήθησης. Ωστόσο η δράση αυτή συνήθως εξουδετερώνεται από τη σύνθεση της  $\text{PGE}_2$  από τα μεσαγγειακά κύτταρα. Εκτός από τις διαφορετικές αγγειοσυσπαστικές επιδράσεις κατά μήκος των αγγείων ενός νεφρώνα, η αγγειοτασίνη II εξασκεί γενικότερα ισχυρότερη σύσπαση στα αγγεία των επιπολής νεφρώνων, εκτρέποντας την άρδευση προς τους βαθύτερους νεφρώνες που έχουν μεγαλύτερη επαναρροφητική ικανότητα.

Η αγγειοτασίνη II που παράγεται ως συνέπεια του περιορισμού της αιμάτωσης ενός μέρους από το σύνολο των νεφρώνων, εξαιτίας την ρενίνης που εκκρίνεται από τους υποαρδευόμενους ιστούς, αποσκοπεί στο να αυξήσει σε όλους τους νεφρώνες γενικώς την επαναρρόφηση τόσο με τις άμεσες ενέργειες



**Εικόνα 8.11: Ενέργειες της αγγειοτασίνης II σε νεφρικό επίπεδο.** Καταγράφονται οι μηχανισμοί με τους οποίους ρυθμίζεται η σπειραματική υδροστατική πίεση και ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης (GFR: Glomerular Filtration Rate) σε περιπτώσεις χαμηλών επιπέδων αρτηριακής πίεσης.

*Guyton A., Hall J.: Textbook of Medical Physiology, 1996*

της όσο και μέσω της αλδοστερόνης, ώστε να ανεβάσει επαρκώς την αρτηριακή πίεση σε επίπεδα που θα υπερνικήσουν το κώλυμα που υπάρχει προ των υποαρδευόμενων νεφρώνων. Ο σκοπός αυτός δεν είναι δυνατόν να εκπληρωθεί μόνον από την αυξημένη επαναρρόφηση που πραγματοποιούν οι υποαρδευόμενοι νεφρώνες, γιατί η οποιαδήποτε αύξηση της πίεσης που προκύπτει, εξουδετερώνεται από την αυξημένη διούρηση που προκαλεί στους υγιείς νεφρώνες. Έτσι, λοιπόν, γίνεται προφανής η ανάγκη ορμονικού μηχανισμού που θα αναχαιτίζει την αύξηση της διούρησης από τους υγιείς νεφρώνες. Αυτό ακριβώς το σκοπό εξυπηρετούν η αγγειοτασίνη II και η αλδοστερόνη. Ο ρόλος αυτός είναι πρόδηλος στην παθογένεια της αρτηριονεφρικής υπέρτασης. Ο ρόλος της αλδοστερόνης είναι επικουρικός και συμβάλλει ώστε η άνοδος της πίεσης να επιτυγχάνεται με μεγαλύτερη αγγειοτασίνη II, οπότε και η γενικευμένη αγγειοσύσπαση και κατ'επέκταση η ιστική ισχαιμία είναι μικρότερη.

Εκείνο που δεν είναι επαρκώς διεκκρισμένο είναι το αίτιο κινητοποίησης του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης σε ένα μέρος των

ασθενών με “ιδιοπαθή” υπέρταση, δηλαδή ασθενών όπου δεν αποδεικνύεται η ύπαρξη νεφρικής, νεφραγγειακής ή ενδοκρινικής νόσου. Δύο λόγοι μπορούν να εξηγήσουν το φαινόμενο:

- α) Δευτεροπαθής διέγερση της έκκρισης της ρενίνης από αύξηση του τόνου του συμπαθητικού.
- β) Ενδονεφρική ανισότητα της άρδευσης των νεφρώνων.

Στην πρώτη περίπτωση η έκκριση της ρενίνης επιβαρύνει τη συμπαθητικογενή υπέρταση, ενώ στη δεύτερη περίπτωση αποτελεί αυτό τούτο το αίτιο της υπέρτασης.

Σύμφωνα με τα παραπάνω εξηγούνται οι ιδιομορφίες που παρουσιάζει και η αρτηριακή υπέρταση που συνδέεται με αυξημένα επίπεδα αγγειοτασίνης II. Πρόκειται για υπέρταση με δυσανάλογα αυξημένες περιφερικές αντιστάσεις και δυσανάλογη για τη βαρύτητα της υπέρτασης καρδιαγγειακή υπερτροφία.

Σε κυτταρικό επίπεδο ο τρόπος δράσης της αγγειοτασίνης II είναι ο ακόλουθος (77):

Η αγγειοτασίνη II ενεργεί διεγείροντας τη φωσφορολιπάση C (PLC), η οποία αποικοδομεί τη διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη ( $PIP_2$ ; Phosphatidylinositol Diphosphate) προς δύο ενδοκυττάρια μεσολαβητές, δηλαδή την  $IP_3$  που αυξάνει το ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$  πρωταρχικά με απελευθέρωση ενδοκυττάρια αποθηκευμένου, και τη DAG που ευαισθητοποιεί τους ενδοκυττάρια μηχανισμούς στο  $Ca^{2+}$ , προκαλεί ενδοκυττάρια αλκάλωση επιτείνοντας την ανταλλαγή  $H^+$  ενδοκυττάρια με  $Na^+$  εξωκυττάρια και διεγείρει μηχανισμούς υπερπλασίας και υπερτροφίας. Επιπρόσθετα, η αγγειοτασίνη II διεγείρει τη φωσφολιπάση  $A_2$  ( $PLA_2$ :Phospholipase  $A_2$ ) που απελευθερώνοντας αραχιδονικό οξύ οδηγεί σε σχηματισμό προσταγλανδινών, που συνήθως αποσκοπούν στο να μετριάσουν την υπερβολική δράση της αγγειοτασίνης II. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα προκαλεί την παραγωγή προστακυκλίνης και NO.

### Νατριουρητικά Πεπτίδια

Τα νατριουρητικά πεπτίδια έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση τόσο του κυκλοφορούντος όγκου αίματος όσο και του αγγειακού τόνου. Διακρίνονται στο κοιλιακό νατριουρητικό πεπτίδιο (ANP: Atrial Natriuretic Peptide) και στο εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο (BNP: Brain Natriuretic Peptide) που απελευθερώνονται από τους κόλπους και τις κοιλίες της καρδιάς αντίστοιχα, σε απάντηση της μηχανικής διάτασης των τοιχωμάτων. Ένα τρίτο μέλος της οικογένειας αυτής που απαντά σε υψηλές συγκεντρώσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα και ιδιαίτερα στα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι το C-τύπου νατριουρητικό πεπτίδιο (CNP: C-type Natriuretic Peptide) (90-92).

Η έκκριση των ANP αυξάνει κατά την άνοδο της αρτηριακής πίεσης (93-95).



Όταν αυτή οφείλεται σε υπερφόρτωση της κυκλοφορίας με υγρά, στην αυξημένη έκκριση συμμετέχουν αμφότεροι οι κόλποι. Αντίθετα, όταν η υπέρταση προκαλεί υπερφόρτιση πίεσης στην αριστερή κοιλία και αύξηση της τελοδιαστολικής της πίεσης, την υπερέκκριση προκαλεί ο αριστερός κόλπος. Η αύξηση του φλεβικού τόνου που συνυπάρχει κατά την υπέρταση με την αύξηση του αρτηριακού τόνου, εκτρέποντας αίμα προς τη μικρή κυκλοφορία, συμβάλλει πάντως στη διάταση αμφοτέρων των κόλπων και την έκκριση ANP. Μολονότι η έκκριση είναι το άμεσο αποτέλεσμα του μηχανικού ερεθίσματος, υφίσταται ρυθμιστική επίδραση από το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Η α-αδρενεργική διέγερση την ευοδώνει, ενώ η β-αδρενεργική διέγερση την αναστέλλει. Η κατόπιν αύξησης του όγκου του αίματος αύξηση της έκκρισης του ANP αμβλύνεται όταν η καρδιά απονευρωθεί. Τα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η διέγερση του συμπαθητικού συστήματος εξασκεί ανασταλτική δράση επί της έκκρισης ANP, δηλαδή εκδηλώνεται ως υπερέχουσα β-αδρενεργική δράση (90,91,96).

Στην κλινική πράξη, η μεσοπρόθεσμη χορήγηση β-αδρενεργικών αποκλειστών σε ασθενείς με μέτριου βαθμού ιδιοπαθή υπέρταση προάγει την αύξηση των επιπέδων του ANP παρόλο που η επερχόμενη πτώση της αρτηριακής πίεσης συμβαδίζει με ελάττωση της διαμέτρου των αριστερών καρδιακών κοιλοτήτων (9,97-101).

Το ANP και το BNP προκαλούν αγγειοδιαστολή, αυξάνοντας στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων το cGMP (cyclic Guanosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη) κατ' ανάλογο τρόπο με το NO, με τη μόνη διαφορά ότι το πρώτο διεγείρει τη μεμβρανική, ενώ το δεύτερο τη διαλυτή γουανυλική κυκλάση (99). Η αγγειοδιαστολή αφορά και στη νεφρική κυκλοφορία, συμβάλλοντας έτσι στην αύξηση της αναλογικής διούρησης. Διαστέλλονται κατ' εσχόλην τα προσαγωγά αρτηρίδια με αποτέλεσμα την αύξηση της σπειραματικής διήθησης. Η σωληναριακή επαναρρόφηση επίσης μετριάζεται, χωρίς να είναι πλήρως γνωστοί οι μηχανισμοί, οπωσδήποτε όμως συμβάλλει η αύξηση της άρδευσης των νεφρώνων. Με τη διαστολή, επίσης, των προτριχοειδών αρτηριδίων επιτυγχάνεται αύξηση της υδροστατικής πίεσης στα τριχοειδή της συστηματικής κυκλοφορίας και ανακατανομή των υγρών υπέρ του μεσοκυττάρου χώρου (102,103).

Το CNP ασκεί αγγειοδιασταλτική δράση με υπερπολωτικό μηχανισμό στο επίπεδο των διαύλων του  $K^+$ , πιστεύεται δε ότι αποτελεί ένα από τα μέλη της ομάδας των υπερπολωτικών παραγόντων του ενδοθηλίου (EDHFs: Endothelium Derived Hyperpolarizing Factors) (92).

Το ANP αποτελεί ισχυρό ανταγωνιστή του συστήματος ρενίνης - αγγειοτασίνης - αλδοστερόνης και στα τρία επίπεδά του. Την έκκριση ρενίνης αναστέλλει διότι διαστέλλει το προσαγωγό αρτηρίδιο και αυξάνει την προσαγωγή  $Na^+$  στην πυκνή κηλίδα. Η αναστολή δεν εμφανίζεται αν η υπερέκκριση ρενίνης είναι απότοκος ετερόπλευρης στένωσης νεφρικής αρτηρίας, οπότε κωλύεται

η ανάπτυξη των ανωτέρω μηχανισμών. Αντίθετα, η λόγω γενικής αγγειοδιαστολής πτώση της πίεσης επιτείνει την υπερέκκριση της ρενίνης. Το ANP ανταγωνίζεται τη δράση της αγγειοτασίνης II. Αίρει τον αγγειόσπασμο, αυξάνει τη νεφρική άρδευση, αίρει την υπέρταση των απαγωγών αρτηριδίων, αναχαιτίζει την αυξημένη επαναρόφηση στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια, αναστέλλει τις δράσεις στο ΚΝΣ (δίψα, έκκριση αντιδιουρητικής ορμόνης και ACTH). Αναστέλλει, επίσης, με άμεση ενέργεια την έκκριση της αλδοστερόνης καθώς και άλλων στεροειδών ορμονών.

Όλες οι παραπάνω δράσεις συγκλίνουν στη θεώρηση του ANP ως σημαντικού υποτασικού παράγοντα που χρησιμοποιείται από τον οργανισμό για την ομοιοστασία της αρτηριακής πίεσης (93-95). Στην παθολογία της υπέρτασης εμπλέκεται υπό την έννοια ότι, παρά την παρατηρούμενη αντιρροπιστική αύξηση της έκκρισής του, δεν επιτυγχάνει το σκοπό του είτε διότι υπάρχει μειωμένη ευαισθησία των υποδοχέων του, είτε διότι η αύξηση της έκκρισης υπολείπεται έναντι της αναγκαιότητας. Λίγες πρόσφατες εργασίες, όπως ήδη έχει αναφερθεί, αποδεικνύουν ότι η αντιυπερτασική δράση των β-αδρενεργικών αποκλειστών οφείλεται σε αύξηση της έκκρισης του ANP (97-99,104-107).

### **Αντιδιουρητική ορμόνη (ADH) ή Αργινίνη Βαζοπρεσσίνη (AVP)**

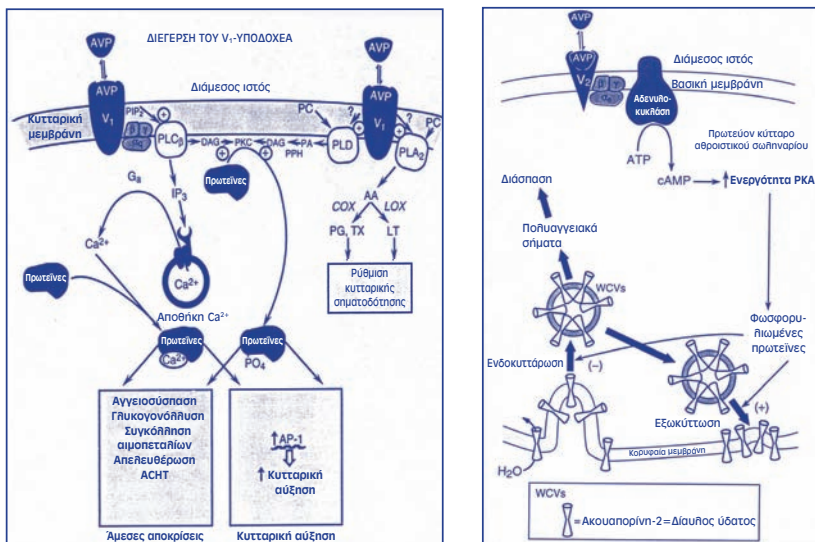
Η AVP (Arginine Vasopressin) εκκρίνεται από τη νευροϋπόφυση στην κυκλοφορία του αίματος· επίσης χρησιμοποιείται στο κεντρικό νευρικό σύστημα νευρομεταβιβαστής ή ως τροποποιητής της λειτουργίας νευρώνων, ανηκόντων στο αυτόνομο νευρικό σύστημα (108,109).

Οι υποδοχείς στους οποίους δρά είναι οι παρακάτω:

- α)  $V_1$  ευρισκόμενοι στις λείες μυϊκές ίνες, οι οποίοι προκαλούν παραγωγή  $IP_3$  και δι' αυτής απελευθέρωση ενδοκυττάρια αποθηκευμένου  $Ca^{2+}$  και σύσπαση.
- β)  $V_2$  ευρισκόμενοι στα επιθηλιακά κύτταρα των αθροιστικών σωληναρίων, οι οποίοι διεγείρονται αυξάνουν την ενδοκυττάρια cAMP και δι' αυτής τη διαπερατότητα των σωληναρίων στο νερό.
- γ) Υποδοχείς στο ΚΝΣ, διάφοροι των προηγούμενων.

Ο έλεγχος έκκρισης της AVP γίνεται με δύο κύριους μηχανισμούς:

- α) Ογκομετρικός. Η μείωση του κεντρικού όγκου του αίματος ή της αρτηριακής πίεσης προκαλεί διέγερση. Αντίθετα, η αύξηση της αιματοπλήθειας προκαλεί καταστολή της έκκρισης.
- β) Ωσμωτικός. Αύξηση της ωσμωτικότητας ή της πυκνότητας του αίματος διεγείρει την έκκριση. Την έκκριση επίσης διεγείρει η αγγειοτασίνη II, ενώ αναστέλλει η δοπαμίνη.



**Εικόνα 8.12: Ενέργειες της αργινίνης βαζοπρεσίνης. (αριστερά)** Καταγράφονται οι ενέργειες από τη διέγερση των V<sub>1</sub>-υποδοχέων της AVP (Arginine Vasopressin:Αργινίνη βαζοπρεσίνη) οι οποίοι συνδέονται με το σύστημα της PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C). Από τη διέγερση της PLC σχηματίζεται η DAG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη) που ενεργοποιεί την PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C) η οποία προάγει φωσφορυλιώσεις πρωτεϊνών και ρυθμίζει την ενδοκυττάρια σηματοδότηση και η IP<sub>3</sub> (Inositol Triphosphate:Τριφωσφορική ινοσιτόλη) που απελευθερώνει ενδοκυττάρια Ca<sup>2+</sup> το οποίο κινητοποιεί τη βιολογική απάντηση του κυττάρου. **(δεξιά)** Η διέγερση των V<sub>2</sub>-υποδοχέων της AVP ενεργοποιεί το σύστημα της AC (Adenylcyclase: Αδενυλοκυκλάση) στα επιθηλιακά κύτταρα των αθροιστικών σωληναρίων. Το αποτέλεσμα είναι η αύξηση της ενδοκυττάριας cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη), η ενεργοποίηση της κινάσης PKA, η φωσφορυλίωση πρωτεϊνών, η μετακίνηση της ισορροπίας που αφορά την πορεία της ακουαπορίνης-2 προς την κορυφαία μεμβράνη των κύριων κυττάρων των αθροιστικών σωληναρίων και η αύξηση της διαπερατότητας των σωληναρίων στο ύδωρ. Όπου PLD (Phospholipase D: Φωσφολιπάση D), PLA<sub>2</sub> (Phospholipase A<sub>2</sub>: Φωσφολιπάση A<sub>2</sub>), COX (Cyclooxygenase: Κυκλοοξυγενάση), LOX (Lipoxygenase : Λιποοξυγενάση), PG (Prostaglandin : Προσταγλανδίνη), TX (Thromboxane : Θρομβοξάνη), LT (Leukotriene: Λευκοτριένη), AP-1 (Activator Protein-1: Ενεργοποιός Πρωτεΐνη-1), ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη), WCVs (Water Channel containing Vesicles: Αγγεία περιέχοντα διαλύτες ύδατος).

Brunton L.:Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 2006

Μολονότι οι παραπάνω ιδιότητες οφείλουν να εμπλέξουν την AVP στην ομοιοστασία και τις διαταραχές της αρτηριακής πίεσης, ωστόσο οι κλινικές και πειραματικές παρατηρήσεις δεν συνηγορούν για μια άμεση σχέση. Δεν διατυπώθηκαν συσχετίσεις επιπέδων AVP στο πλάσμα με το ύψος της αρτηριακής πίεσης. Τα σύνδρομα καταχρηστικής έκκρισης AVP δεν συνοδεύονται από αρτηριακή υπέρταση. Η εξωγενής χορήγηση AVP δεν προκαλεί αξιόλογη υπέρταση και η χορήγηση V<sub>1</sub> ανταγωνιστών δεν προκαλεί πτώση της πίεσης σε καλώς ενυδατωμένα άτομα ή πάσχοντες από μέτρια ιδιοπαθή υπέρταση (110).

Ωστόσο οι νεότερες έρευνες αποδεικνύουν ότι υπάρχει λειτουργικός ρόλος για την AVP στην υπέρταση. Η AVP αυξάνει αντιδραστικά, όταν επιχειρείται με συμπαθολυτικά φάρμακα η μείωση της δραστηριότητας του συμπαθητικού. Ενεργώντας εντός του ΚΝΣ αυξάνει την αντιδραστικότητα του αντανακλαστικού τόξου των τασεοϋποδοχέων απέναντι στη μείωση της αρτηριακής πίεσης, διεγείροντας τον κεντρικό τόνο του συμπαθητικού. Αυτός ο τρόπος δράσης ερμηνεύει τη σημασία της AVP στη διατήρηση της αρτηριακής πίεσης κατά την ορθοστασία, ιδιαίτερα σε ασθενείς με νευροπάθεια του αυτόνομου συστήματος. Είναι πιθανόν, λοιπόν, ότι όταν ο οργανισμός έχει εξοικειωθεί σε υψηλότερα επίπεδα αρτηριακής πίεσης, κατά την προσπάθεια μείωσής της, η έκκριση AVP τείνει να εξουδετερώσει την προσπάθεια αυτή διεγείροντας το κεντρικό συμπαθητικό. Έτσι, επί του παρόντος, ο ρόλος της AVP φαίνεται ότι συνίσταται όχι στην παθογένεια αλλά στη διατήρηση της αρτηριακής υπέρτασης (111-115).

### **γ-MSH**

Η γ-MSH αποτελεί τμήμα της προ-οπιομελανοκορτίνης (POMC: Proopiomelanocortin), που περιέχει ακολουθία αμινοξέων ανάλογη εκείνης που περιέχεται στις άλλες θυγατρικές ορμόνες της POMC, δηλαδή τις ACTH, α-MSH και β-MSH. Η ακολουθία αυτή δίνει στα πολυπεπίδια που την περιέχουν νατριουρητικές ιδιότητες. Η γ-MSH κυκλοφορεί στο πλάσμα. Διεγείρει το συμπαθητικό νευρικό σύστημα με κεντρική δράση. Ορισμένοι συγγραφείς της αποδίδουν υπερτασική δράση με μηχανισμό ανάλογο εκείνου που αποδίδεται στον διγοξινειδή παράγοντα. Η αύξηση, δηλαδή, του κεντρικού όγκου του αίματος οδηγεί σε έκκριση της ορμόνης, η οποία αφενός μεν προάγει τη διούρηση, αφετέρου όμως με τη διέγερση του συμπαθητικού μεταβάλλει την αναλογική διούρηση και ρυθμίζει την αρτηριακή πίεση σε υψηλότερα επίπεδα, με μικρότερο όγκο αίματος. Ωστόσο δεν υπάρχουν επαρκείς πειραματικές αποδείξεις που να στηρίζουν την παραπάνω θεωρία. Τα πειραματικά δεδομένα συνηγορούν υπέρ του γεγονότος ότι τα πολυπεπίδια αυτά προάγουν την αύξηση της αρτηριακής πίεσης (116).

### Ινσουλίνη

Όπως αποδεικνύουν νεότερες μελέτες, υπάρχει σαφής σύνδεση μεταξύ υπερινσουλιναϊμίας και αρτηριακής υπέρτασης. Η υπερινσουλιναϊμία συνοδεύει την παχυσαρκία, προηγείται της εκδήλωσης του μη ινσουλινοεξαρτημένου σακχαρώδους διαβήτη και εξακολουθεί να υφίσταται κατά την κλινική διαδρομή της νόσου. Οφείλεται σε γενετικά και επίκτητα αίτια που δημιουργούν αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης. Η αρτηριακή υπέρταση συνδέεται τόσο με την αύξηση των επιπέδων της κυκλοφορούσας ινσουλίνης όσο και με την υπεργλυκαιμία, όταν αυτή εκδηλωθεί ως αποτέλεσμα μη πλήρως αντιρροπιστικής υπερινσουλιναϊμίας.

Η ινσουλίνη εξασκεί έμμεσες και άμεσες ενέργειες στη νεφρική λειτουργία που συνεπάγονται μείωση της αναλογικής διούρησης και συνεπώς άνοδο της αρτηριακής πίεσης (117,118). Έμμεσα επιδρά με την κεντρική διέγερση του συμπαθητικού συστήματος που προκαλεί, η οποία οδηγεί σε μείωση της νεφρικής άρδευσης αλλά και σε  $\alpha_1$ -αδρενεργικά διεγερόμενη αύξηση της επαναρρόφησης  $\text{Na}^+$  από τα σωληναριακά επιθήλια (119/114). Με άμεση δράση στα σωληναριακά επιθήλια η ινσουλίνη αυξάνει την επαναρρόφηση του  $\text{Na}^+$ . Ένας μηχανισμός με τον οποίο επιτυγχάνεται τούτο είναι η ενίσχυση της λειτουργίας της αντλίας ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  με την οποία επαναρροφάται  $\text{Na}^+$  ανταλασσόμενο με ιόντα  $\text{H}^+$  που εκκρίνονται στον αυλό, κυρίως του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου (120,121).

Η υπεργλυκαιμία που προκαλείται από την υπερίσχυση της αντίστασης προς την ινσουλίνη προκαλεί μη ενζυματική γλυκοζυλίωση πολλών πρωτεϊνών των οποίων έτσι μεταβάλλει τις λειτουργικές ικανότητες. Με τον τρόπο αυτό μειώνει τη δραστηριότητα της αντλίας ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPάση) και της αντλίας εκδίωξης  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPάση). Αποτέλεσμα των ανωτέρω είναι τελικά ο εμπλουτισμός των κυττάρων με  $\text{Ca}^{2+}$ . Η αύξηση αυτή του ενδοκυττάρου  $\text{Ca}^{2+}$  αυξάνει τον τόνο των αγγείων και μειώνει τη νεφρική άρδευση, οδηγώντας πάλι σε αρτηριακή υπέρταση (69,122-128).

Η ινσουλίνη διεγείρει επίσης τη σύνθεση της προενδοθηλίνης (PET: Pro-Endothelin) και ταυτόχρονα τη δραστηριότητα του μετατρεπτικού ενζύμου της ενδοθηλίνης (ECE: Endothelin Converting Enzyme), με αποτέλεσμα τη σύνθεση ενδοθηλίνης-1 (ET-1: Endothelin-1) η οποία διεγείροντας τους αγγειακούς υποδοχείς  $\text{ET}_A$  προκαλεί αγγειοσύσπαση.

Ωστόσο η υπερτασική δράση της ινσουλίνης εκδηλώνεται μόνον όταν στα πλαίσια του μεταβολικού συνδρόμου αναδειχθεί ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Στο υγιές ενδοθήλιο επικρατεί άμεση υποτασική δράση από υπερέχουσα ενδοθηλιογενή αγγειοδιαστολή, η οποία οφείλεται σε διέγερση παραγωγής οξειδίου του αζώτου ( $\text{NO}$ : Nitric Oxide) μέσω μηχανισμού L-αργινίνης εξαρτημένου από την παρουσία τετραϋδροπερίνης ( $\text{BH}_4$ ) που διεγείρει το ένζυμο cNOS (constitutive NO synthase III: δομική συνθάση III του  $\text{NO}$ ).

### Παραθορμόνη

Ο κορυφαίος ρόλος του  $\text{Ca}^{2+}$  στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου φέρνει στο προσκήνιο τις ορμόνες που ρυθμίζουν το μεταβολισμό του  $\text{Ca}^{2+}$ . Η συχνή συνύπαρξη πρωτοπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού και αρτηριακής υπέρτασης δικαιολογεί το ενδιαφέρον για την παραθορμόνη.

Η παραθορμόνη (PTH:Parathyroid Hormone) σε χαμηλές πυκνότητες (φυσιολογικές) αυξάνει τον τόνο των αγγείων, ενώ, παραδόξως, σε υψηλές (φαρμακολογικές) τον μειώνει. Τούτο οφείλεται στο ότι ενώ οι φυσιολογικές πυκνότητες ενισχύουν την είσοδο  $\text{Ca}^{2+}$  αυξάνοντας την ευαισθησία των δυναμικοευαίσθητων διαύλων  $\text{Ca}^{2+}$ , οι υψηλές διεγείρουν την  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPάση που εκδιώκει το  $\text{Ca}^{2+}$ . Η PTH μειώνει ακόμη τη δραστηριότητα της αντλίας ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  και εμπλουτίζοντας τα κύτταρα με  $\text{Na}^+$  τα ανταλλάσσει, στη συνέχεια, με εξωκυττάριο  $\text{Ca}^{2+}$ , αυξάνοντας και με τον τρόπο αυτό το ενδοκυττάριο  $\text{Ca}^{2+}$  και τον αγγειακό τόνο (129,130).

Συνέργεια με την PTH παρουσιάζει η 1,25-διυδροξυ- $\text{D}_3$  (1,25-(OH) $_2$ - $\text{D}_3$ ) ή καλσιτριόλη ή βιταμίνη  $\text{D}_3$  η οποία συντίθεται στους νεφρούς υπό την επίδραση της PTH. Η συνέργεια δεν περιορίζεται μόνο στην απορρόφηση  $\text{Ca}^{2+}$  από το έντερο και τις άλλες μεταβολικές δράσεις, αλλά εκδηλώνεται επίσης στην είσοδο  $\text{Ca}^{2+}$  στα κύτταρα, η οποία έχει τον ίδιο διφασικό επηρεασμό από την πυκνότητα της 1,25-(OH) $_2$ - $\text{D}_3$  όπως και προκειμένου για την PTH.

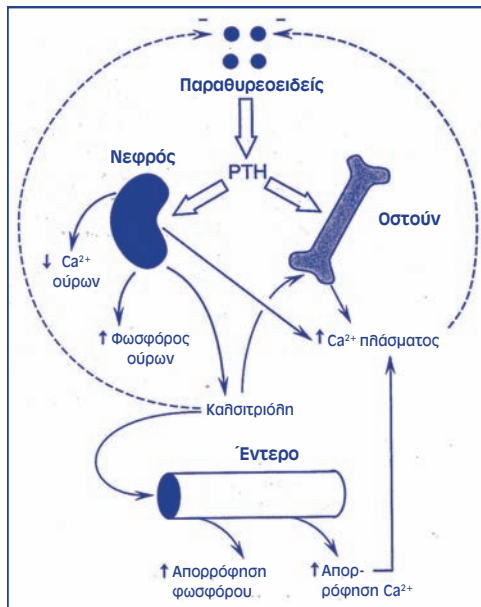
Η υψηλή πρόσληψη NaCl διεγείρει την έκκριση PTH. Από την άλλη, η ανεπαρκής πρόσληψη  $\text{Ca}^{2+}$  διεγείρει τόσο την έκκριση της PTH όσο και άμεσα την παραγωγή της 1,25 (OH) $_2$ - $\text{D}_3$ . Με τον τρόπο αυτό εξηγείται γιατί τόσο η αυξημένη πρόσληψη NaCl όσο και η στέρηση  $\text{Ca}^{2+}$  συμβάλλουν στην ανάπτυξη αρτηριακής υπέρτασης. Επιπλέον γίνεται προφανές ότι η χορήγηση συμπληρώματος  $\text{Ca}^{2+}$  είναι ευεργετική για τη θεραπεία της υπέρτασης και στις αρτηρίες, αρκεί να μη συγχωρηγείται βιταμίνη D μαζί με το  $\text{Ca}^{2+}$ . Πρέπει ακόμη να συμπληρωθεί ότι το  $\text{Ca}^{2+}$  εξασκεί νατριουρητική δράση στα ουροφόρα σωληνάκια.

### Γλυκαγόνη

Η γλυκαγόνη έχει δομικές αναλογίες προς το VIP, οι οποίες επεκτείνονται και στις φυσιολογικές δράσεις. Αυξάνοντας την cAMP στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων προκαλεί αγγειοδιαστολή, ενώ με τον ίδιο τρόπο στην καρδιά εξασκεί θετική χρονοϊνότροπη δράση (131-133).

### Ορμόνη Εκλύουσα τη Θυρεοτρόπο Ορμόνη

Η TRH (Thyrotropin Releasing Hormone: Ορμόνη Εκλύουσα τη Θυρεοτρόπο Ορμόνη) είναι ένα τριπεπτίδιο το οποίο συντίθεται στον υποθάλαμο, απελευθερώνεται στην πυλαία-υποφυσιακή κυκλοφορία και διεγείρει την απελευθέ-



**Εικόνα 8.13: Ρύθμιση από την παραθορμόνη της ομοιόστασης του ασβεστίου.** Η παραθορμόνη (PTH: Parathyroid Hormone) προάγει την ομοιόσταση του  $\text{Ca}^{2+}$  στο αίμα καθώς έχει διεγερτικές δράσεις στα οστά (κινητοποίηση  $\text{Ca}^{2+}$ ) και στους νεφρούς (κατακράτηση  $\text{Ca}^{2+}$ , αποβολή φωσφόρου). Επίσης προάγει τη σύνθεση της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D (καλσιτριόλη) που είναι ο ενεργός μεταβολίτης της βιταμίνης D.

Brunton L.: *Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 2006*

ρωση της TSH (Thyroid Stimulating Hormone: Θυρεοτρόπος Ορμόνη) στην υπόφυση. Ενιέμενη αυξάνει την αρτηριακή πίεση, την καρδιακή συχνότητα και το ρυθμό της αναπνοής. Ανταγωνίζεται τα οπιοειδή, χωρίς να καταλαμβάνει τους υποδοχείς των (134-136).

### Προλακτίνη

Σε χαμηλές πυκνότητες αυξάνει την αρτηριακή πίεση ευαισθητοποιώντας τα αγγεία έναντι της νοραδρεναλίνης και της αγγειοτασίνης II. Σε υψηλές πυκνότητες επί πειραματοζώων μειώνει την αρτηριακή πίεση (72/65). Υπερτασικές έγκυοι παρουσιάζουν αύξηση της προλακτίνης κατά την έγερση, ενώ το αντίθετο συμβαίνει σε μη υπερτασικές εγκύους. Η διαταραχή αποδίδεται σε ανεπάρκεια των κεντρικών δοπαμινεργικών μηχανισμών (137).

### Φλοιοτρόπος Ορμόνη

Η φλοιοτρόπος ορμόνη (ACTH) δεσμευόμενη σε ειδικούς υποδοχείς στο τοίχω-

μα των αγγείων και το μυοκάρδιο, ευαισθητοποιεί τα κύτταρα στη δράση της νορεπινεφρίνης, ιδιαίτερα των υπερτασικών ατόμων, με αποτέλεσμα την αύξηση του αγγειακού τόνου, τον θετικό ινοτροπισμό και την αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Έμμεσες δράσεις που συμβάλλουν στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης πραγματοποιούνται μέσω της έκκρισης κορτιζόλης (138-141).

### **Αναδυόμενα πεπτίδια**

Τα τελευταία χρόνια διαπιστώθηκε και μελετήθηκε η δράση πολλών πεπτιδίων που ασκούν αγγειοδραστικές ενέργειες μέσω των υποδοχέων GPCRs (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη). Τα πεπτίδια αυτά είτε δεν ήταν γνωστά είτε δεν ήταν γνωστές οι ενέργειές τους στον αγγειακό τόνο και πολύ περισσότερο οι μηχανισμοί με τους οποίους ασκούσαν τις ενέργειες αυτές. Οι διαπιστώσεις αυτές οι οποίες έχουν τεκμηριωθεί, καθώς, επίσης, και αυτές οι οποίες ευρίσκονται υπό έρευνα, ανοίγουν νέους δρόμους στη φαρμακολογική έρευνα. Στις γραμμές που ακολουθούν γίνεται μια συνοπτική αναφορά στα πεπτίδια αυτά (142,143).

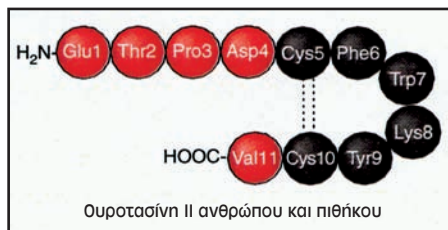
Η απελίνη είναι ένα αγγειοσυσπαστικό πεπτίδιο το οποίο συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, απελευθερώνεται τοπικά και δρα διεγείροντας τους APJ-υποδοχείς στις λείες μυϊκές ίνες. Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια, η έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την απελίνη αναβαθμίζεται.

Η μοτιλίνη είναι επίσης ένα αγγειοσυσπαστικό αμινοπεπτίδιο της τάξης των 22 αμινοξέων. Οι υποδοχείς της, οι οποίοι ευρίσκονται και στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων, διεγείρονται είτε από την κυκλοφορούσα ουσία είτε από την τοπικά απελευθερούμενη από τα περιαγγειακά νεύρα. Η μοτιλίνη συσπά ισχυρά τις στεφανιαίες αρτηρίες.

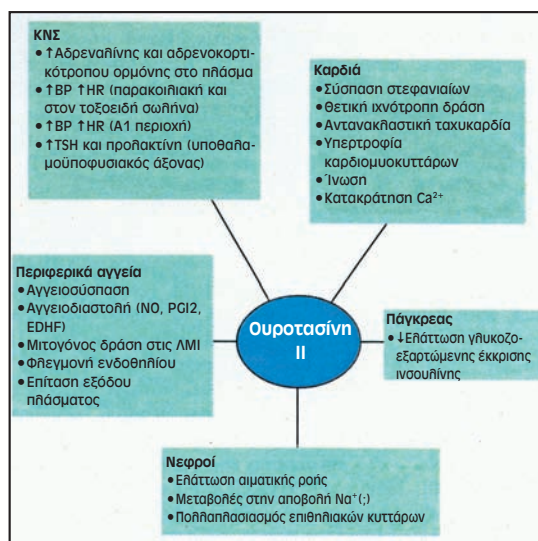
Η νευρομεδίνη U-25 είναι ένα αγγειοσυσπαστικό πεπτίδιο με ιδιαίτερη δράση στα μεγάλα αρτηριακά και φλεβικά στελέχη. Τη δράση αυτή την ασκεί άμεσα στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων μέσω των υποδοχέων NMUR1 (Neuromedin U Receptor 1: Υποδοχέας 1 της νευρομεδίνης U) που εκφράζονται ευρύτατα στο καρδιαγγειακό σύστημα, σε αντίθεση με τους NMUR2 που εκφράζονται κυρίως στο ΚΝΣ.

Η ουροτασίνη-II είναι επίσης ένα πεπτίδιο το οποίο αποτελεί την πλέον ισχυρή αγγειοσυσπαστική ουσία από όσες είναι γνωστές μέχρι σήμερα. Συσπά τις αρτηρίες και τις φλέβες και ρυθμίζει την καρδιαγγειακή ομοιόσταση στην περιφέρεια. Οι δράσεις της ασκούνται άμεσα επί των λείων μυϊκών ινών των αγγείων. Στον άνθρωπο, οι μυϊκού τύπου μικρές στεφανιαίες αρτηρίες που χαρακτηρίζονται ως αγγεία αντίστασης είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην ουροτασίνη-II και το σύστημα της αγγειοδραστικής αυτής ουσίας είναι ιδιαίτερα αναβαθμισμένο κατά την αθηρωμάτωση και την καρδιακή ανεπάρκεια. Ήδη μη πεπτιδι-





**Εικόνα 8.14: Μόριο της ουροτασίνης II.** Το μόριο της ουροτασίνης II αποτελείται από 11 αμινοξέα και διαθέτει ένα αμινικό πέρας και ένα καρβοξυλικό πέρας.  
*Trends Pharmacol. Sci. 53,2004*



**Εικόνα 8.15: Βιολογικές δράσεις της ουροτασίνης II.** Καταγράφονται οι δράσεις της ουροτασίνης στο καρδιαγγειακό σύστημα και σε συστήματα που έχουν άμεση σχέση με αυτό. Όπου NO (Nitric Oxide:Οξείδιο του αζώτου), PGI<sub>2</sub> (prostacyclin:Προστακυκλίνη), EDHF (Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor:): Υπερπολωτικός παράγοντας του ενδοθηλίου), BP (Blood Pressure: Αρτηριακή πίεση), HR (Heart Rate: Καρδιακός ρυθμός), ΑΜΙ: Λείες Μυϊκές Ίνες.  
*Trends Pharmacol. Sci. 53,2004*

κοί αποκλειστές των υποδοχέων της ουροτασίνης II έχουν σχεδιασθεί και ευρίσκονται σε φάση προκλινικής έρευνας (142-144).

Η γκρελίνη, ένα πεπτιδίιο που αποτελείται από 28 αμινοξέα και το οποίο είναι ο ενδογενής αγωνιστής του σεκρεταγωγού υποδοχέα της αυξητικής ορμόνης για την απελευθέρωση της ορμόνης αυτής, έχει παράλληλα αγγειοδιασταλτικές ενέργειες στο καρδιαγγειακό σύστημα. Οι δράσεις της ασκούνται άμεσα επί των λείων μυϊκών ινών των αγγείων και είναι ισοδύναμες σε ισχύ με εκείνες του νατριουρητικού πεπτιδίου. Οι υποδοχείς της γκρελίνης ανήκουν στους GPCRs

και είναι αναβαθμισμένοι κατά την αθηρωμάτωση, γεγονός που σημαίνει ότι το πεπτιδίο αυτό έχει αντιρροπιστικό ρόλο.

Η νοσισεπτίνη είναι επίσης ένα ισχυρό αγγειοδιασταλτικό πεπτιδίο με άμεση δράση επί των λείων μυϊκών ινών των αγγείων μέσω των νέων οπιοειδών υποδοχέων NOP. Πρόσφατες αναφορές ομιλούν και για ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή.

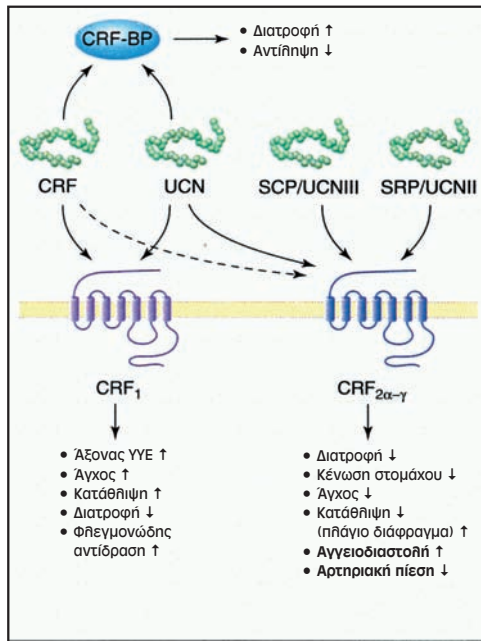
Οι ουροκορτίνες, δηλαδή ο παράγοντας που απελευθερώνει την κορτικοτροπίνη (CRF: Corticotropin Releasing Factor), η ουροκορτίνη 1 (UCN1: Urocortin 1), η ουροκορτίνη 2 (UCN2 ή Stresscortin-Related Peptide: Ουροκορτίνη 2 ή Πεπτιδίο σχετιζόμενο με τη στρεσκοπίνη) και η ουροκορτίνη 3 (UCN3 ή Stresscortin) είναι αγγειοδιασταλτικές ουσίες και ασκούν τη δράση τους οι μιν δύο πρώτες μέσω των υποδοχέων CRF<sub>1</sub> και CRF<sub>2</sub>, οι δε υπόλοιπες μέσω των υποδοχέων CRF<sub>2</sub>. Η ύπαρξη των υποδοχέων CRF<sub>2</sub> έχει διαπιστωθεί σε όλα τα αγγεία συμπεριλαμβανόμενων των ανθιστάμενων αγγείων της καρδιάς, η δε δράση των ουροκορτινών είναι ενδοθηλιοανεξάρτητη.

Τα πεπτιδία CRFs (Corticotrophin Releasing Factors: Απελευθερωτικοί παράγοντες της κορτικοτροπίνης) όπως η UCN (Urocortin: ουροκορτίνη), η UCN2 και η UCN3, στα οποία έγινε ήδη αναφορά, έχουν ως κύριο λειτουργικό ρόλο την αντιμετώπιση του στρες μέσα από την άσκηση μιας ποικιλίας βιολογικών δράσεων. Τις δράσεις αυτές ασκούν, όπως ήδη αναφέρθηκε, μέσω της διέγερσης των CRF-υποδοχέων που ανήκουν στους υποδοχείς GPCR (G Protein Coupled Receptors: Υποδοχείς συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνη). Οι υποδοχείς αυτοί διακρίνονται σε δύο υποτύπους, τον CRF<sub>1</sub>-υποδοχέα που εντοπίζεται κυρίως στο ΚΝΣ και τον CRF<sub>2</sub>-υποδοχέα που παρουσιάζει και εντοπίσεις σε περιφερικά όργανα, μεταξύ των οποίων και στην καρδιά. Ειδικότερα, ο CRF<sub>2α-γ</sub>-υποδοχέας εντοπίζεται ιδιαίτερα στα αρτηρίδια, συνδέεται με το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης και η διέγερσή του οδηγεί σε αγγειοδιαστολή και υπόταση. Η πρωτεΐνη CRF-BP (CRF-Binding Protein: Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με τα CRF) συνδέεται με τα πεπτιδία αυτά και περιορίζει την ενεργοποίηση των υποδοχέων τους (99,142,143,145).

### Φαρμακολογικές προσεγγίσεις

Η τροποποίηση της δράσης ενός πεπτιδίου μπορεί να γίνει, τουλάχιστον θεωρητικά, με διάφορες φαρμακολογικές προσεγγίσεις (142,143).

Η ενίσχυση της δράσης ενός πεπτιδίου, όταν αυτό είναι επιθυμητό, μπορεί να γίνει με δύο τρόπους. Ο ένας είναι με τη χρήση εξωγενών αγωνιστών των υποδοχέων. Είναι ένας κλασικός τρόπος ο οποίος, όμως, πολλές φορές δημιουργεί προβλήματα από πιθανή υπερδιέγερση των υποδοχέων, ιδιαίτερα για τα πεπτιδία που έχουν κατασταλτική δράση στα κύτταρα στόχους. Ο δεύτερος



**Εικόνα 8.16: Ενέργειες των πεπτιδίων CRF.** Τα πεπτίδια CRF (Corticotrophin Releasing Factor: Εκλυτικός παράγοντας της κορτικοτροπίνης) αλληλεπιδρούν με την ανασταλτική πρωτεΐνη CRF-BP (CRF-Binding Protein: Πρωτεΐνη συνδεόμενη με τα CRF) και διεγείρουν τους CRF-υποδοχείς ασκώντας πλήθος ενεργειών, μεταξύ των οποίων είναι η αγγειοδιαστολή και η υπόταση. Όπου UCN (Urocortin: ουροκορτίνη), SCP/UCNII (Stresscopin-Related Peptide / Urocortin II: Πεπτιδίο σχετιζόμενο με τη στρεσκοπίνη / ουροκορτίνη II), SCP/UCNIII (Stresscopin-Related Peptide / Urocortin III: Πεπτιδίο σχετιζόμενο με τη στρεσκοπίνη / ουροκορτίνη III), ΥΥΕ (Υποθάλαμος-Υπόφυση-Επινεφρίδια).

*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*

αφορά την αναστολή της δράσης των ενζύμων που αδρανοποιούν τα πεπτίδια με στόχο να ελέγχεται η κυκλοφορούσα ποσότητα του πεπτιδίου.

Σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με τις κατεχολαμίνες και τους αμινοξομεταβιβαστές που η αδρανοποίησή τους γίνεται με επαναπρόσληψη, τα πεπτίδια αδρανοποιούνται με μεταβολίζοντα ένζυμα. Πρόκειται για πεπτιδάσες που διασπούν τα πεπτίδια σε αδρανή μόρια. Οι περισσότερες πεπτιδάσες ανήκουν στην οικογένεια των μεταλλοπεπτιδασών που στο μόριό τους περιέχεται ψευδάργυρος. Τα ένζυμα αυτά είναι προσκολλημένα στην κυτταρική μεμβράνη, παρουσιάζουν ένα μικρό διαμεμβρανικό τμήμα, ενώ η ενεργός θέση του ενζύμου βλέπει προς τα εκτός του κυττάρου.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι η απελευθέρωση των νευροπεπτιδίων ελέγχεται με τρόπο ανάλογο των κατεχολαμινών, δηλαδή με την ύπαρξη προσυναπτικών αυτο-υποδοχέων (autoreceptors) που δρουν είτε ως ιονοτροπικοί είτε ως

μεταβοτροπικοί υποδοχείς. Ιδιαίτερα, αυτό φαίνεται να ισχύει για την ουσία P και ο περιορισμός της απελευθέρωσής της φαίνεται να μεθοδεύεται από τους NK1-προσυναπτικούς υποδοχείς. Ο φαρμακολογικός έλεγχος των υποδοχέων αυτών θα μπορούσε να έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία για την αντιμετώπιση του χρόνιου πόνου, καθώς και εκείνου που συνοδεύει τις ημικρανίες (146).

Η αναστολή της δράσης του πεπτιδίου μπορεί επίσης να γίνει με δύο τρόπους. Ο ένας αφορά τη χρήση εκλεκτικών αποκλειστών των υποδοχέων στο κύτταρο στόχο. Είναι ένας τρόπος που χρησιμοποιείται για την αγγειοτασίνη II εδώ και μια δεκαετία και για την ενδοθηλίνη-1 πιο πρόσφατα. Περιττό να λεχθεί ότι κατά τη διάρκεια του αποκλεισμού του υποδοχέα, τα ποσά του κυκλοφορούντος πεπτιδίου παραμένουν σταθερά ή αυξάνουν με μηχανισμό ανατροφοδότησης (feedback). Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε φαινόμενα εξοικίωσης (ανοχής) στον αποκλειστή και απώλειας της δραστηριότητάς του, αν ο υποδοχέας γίνει προσβάσιμος για το πεπτίδιο λόγω ανταγωνισμού με βάση το νόμο των μαζών ή λόγω αυξημένης έκφρασης του υποδοχέα. Φαινόμενα ανάκρουσης (rebound) μπορούν να συμβούν συνεπεία της απότομης διακοπής του φαρμάκου αποκλειστή και απομάκρυνσής του από τον υποδοχέα, εφόσον αυτή είναι ταχεία. Αντίθετα, ο αποκλεισμός των ενζύμων που μετατρέπουν τις αρχικά αδρανείς μορφές των πεπτιδίων σε δραστικές, για όσα πεπτίδια συμβαίνει αυτό, είναι κάτι που εφαρμόζεται για την αγγειοτασίνη II εδώ και πολλές δεκαετίες. Και εδώ, όμως, υπάρχει πάντα η πιθανότητα το πεπτίδιο αυτό να συντίθεται και από παράπλευρους βιοχημικούς δρόμους, οπότε ο ανταγωνισμός που επιτυγχάνεται είναι μικρός μόνο.

Η διαπίστωση της ύπαρξης πεπτιδίων τα οποία είτε δεν ήταν γνωστά, είτε δεν ήταν γνωστές οι δράσεις τους είτε ήταν γνωστές οι δράσεις τους αλλά όχι και οι υποδοχείς μέσω των οποίων τις ασκούσαν, ανοίγει ευοίωνες προοπτικές για τη φαρμακολογική έρευνα. Η έρευνα αυτή στοχεύει στη σύνθεση φαρμάκων αγωνιστών ή αποκλειστών της δράσης των πεπτιδίων αυτών για μελλοντικές παρεμβάσεις σε παθήσεις του καρδιαγγειακού συστήματος. Ο σχεδιασμός αποκλειστών των υποδοχέων των αγγειοσυσπαστικών ουσιών είναι ένας από τους στόχους (142,143).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Παπαδόπουλος Κ.: Οξείες και χρόνιες μεταβολές της αρτηριακής πίεσεως. Ο ρόλος της νατριουρήσεως. *Αρτ. Υπερτ.* 11: 1-2, 1985
2. Παπαδόπουλος Κ.: Η μορφολογία και σκοπιμότητα της λειτουργικής καμπύλης των νεφρών. Ομοιοστασία αρτηριακής πίεσεως και σπειραματικής διηθήσεως. *Αρτ. Υπερτ.* 11: 2-3, 1985
3. Παπαδόπουλος Κ.: Η νεφρική λειτουργία παράγοντας εκλεκτικότητας της χρονίως αντιϋπερτασικής θεραπείας. *Αρτ. Υπερτ.* 11: 3-6, 1985
4. Παπαδόπουλος Κ., Σακαντάμης Γ.: Ο ρόλος του συμπαθητικού νευρικού συστήματος στην ιδιοπαθή αρτηριακή υπέρταση. *Αρτ. Υπερτ.* 11: 1-3, 1986
5. Παπαδόπουλος Κ., Σακαντάμης Γ.: Ενδονεφρικές μεταβολές κατά την καλοήγη αρτηριακή υπέρταση. *Αρτ. Υπερτ.* 19: 2-5, 1987
6. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Το κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο στην αρτηριακή υπέρταση. *Αρτ. Υπερτ.* 24: 177-185, 1992
7. Papadopoulos C.L., Kokkas B.A., Kotridis P.S., et al.: Plasma atrial natriuretic peptide in essential hypertension after angiotensin converting enzyme inhibition. *Int. J. Angiol* 4:44-45, 1995
8. Papadopoulos C.L., Kokkas B.A., Kotridis, P.S., et al.: The effect of  $\beta_1$ -blocker bisoprolol on atrial natriuretic peptide plasma levels in hypertensive patients. *Int. J. Angiol.* 4:165-168, 1995
9. Παπαδόπουλος Κ.: Ασβέστιο-Υπέρταση και αποκλειστές εισόδου ασβεστίου. *Αρτ. Υπερτ.* 15: 3-6, 1986
10. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Πεπτίδια και πεπτιδικές ορμόνες στην αρτηριακή υπέρταση. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 12:55-75, 1994
11. Guillemin R.: The language of polypeptides and the wisdom of the body. *Physiologist* 28. 391-396, 1985
12. Hokfelt T., Johansson O., Ljungadahl A., Lundberg J., Schutzberg M.: Peptidergic neurons. *Nature* 284: 515-521, 1980
13. Lundberg J.M., Anggard A., Fahrenkrug J., Hokfell T., Mutt V.: Vasoactive intestinal polypeptide in cholinergic neurons of exocrine glands. Functional significance of coexisting transmitters for vasodilation and secretion. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 77: 1651, 1990
14. Said S.I.: Vasoactive peptides: state-of-the-art review. *Hypertension* 5 (Supp/1): 1-18-26, 1983
15. Said S.I.: Neuropeptides in cardiovascular regulation. In: Buckley J., Ferrario C. (eds). "Brain peptides and catecholamines in cardiovascular regulation". Raven Press, New York pp. 93-107, 1987
16. Fuxe K., Anderson K., Locatelli V., Mutt V., Lundberg J., Hokfell T., Agnali L.F., Eneroth P., Botme P.: Neuropeptides and central catecholamine systems: Interactions in neuroendocrine and central cardiovascular regulation. In: Costa E., Trabucchi M. (eds) "Neural peptides and neuronal communications".

- Raven Press, New York, pp. 37-50, 1980
17. Palkovits M.: Distribution of neuropeptides in the central nervous system: a review of biochemical mapping studies. *Proc. Neurobiol* 23:151-184, 1984
  18. Hokfelt T., Everitt B.J., Fuxe K., Kalia M., Agnati I., Johansson O., Harfstrand A., Lundberg J.M., Terenius I., Theodorsson-Norheim E., Goldstein M.: Transmitter and peptide systems in areas involved in the control of blood pressure. *Clin Exp Hypertens (A)* 6 (1&2): 23-41, 1984
  19. Hokfelt T., Elfvin L.G., Schultzberg M., Fuxe K., Said, S.1., Mutt V., Goldstein M.: Immunohistochemical evidence of vasoactive intestinal polypeptide-containing neurous and nerve fibers in sympathetic ganglia. *Neuroscience* 2. 885-896, 1977
  20. Tornebrandt K., Nobin A., Owman C.: Contractile and dilatory action of neuropeptides on isolated human mesenteric blood vessels. *Peptides* 8: 251-256, 1987
  21. Ganten O., Land R.E., Archelos J., Unger T.: Peptidergic systems: effects on blood vessels. *J. Cardiovasc. Pharmacol*\_ S598-S607, 1984
  22. Campbell D.J.: Circulating and tissue angiotensin systems. *J. Clin. Invest.* 19: 1-6, 1987
  23. Hokfelt T., Johansson O., Goldstein M.: Chemical anatomy of the brain. *Science* 225: 1326-1334, 1984
  24. Gebber G.L.: Brain systems involved in cardiovascular regulation. In: Randall WC. (ed) "Nervous control of cardiovascular function". Oxford University Press, New York pp. 346-368, 1984
  25. Latlg R.E., Gaida W., Ganten O., Hermann K., Kraft K., Unger T.H.: Neuropeptides and central blood pressure regulation. In: Ganten D., Pfaff D. (eds). "Central cardiovascular control: basic and clinical aspects". Springer-Verlag, New York pp. 103-123, 1983
  26. Kokkas B., Papadopoulos K., Kotoula A. et al.: Identification of  $\delta$ -opioid receptors at the smooth muscles of the bovine aortic media. *Epitheor. Clin. Pharmacol. Pharmakokinet. (Int. Ed)*. 5: 67-70, 1991
  27. Lundberg J., Hokfelt T.: Coexistence of peptides and classical neurotransmitters. *Trends Neurosci*.6: 325-333, 1983
  28. Holaday J.W.: Cardiovascular effects of endogenous opiate systems. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 103-123, 1983
  29. Giles T.O., Sander G.E., Rice J.C., Ouiroz A.C.: Systemic methionine-enkephalin evokes cardiostimulatory responses in the human. *Peptides* 8:609-612, 1987
  30. Παραδέλλης Α.: Κλινική Φαρμακολογία, University Studio Press, Θεσσαλονίκη, 1992
  31. Feurestein G., Siren A.L.: The opioid peptides. A role of hypertension? *Hypertension* 8: 561-565, 1987
  32. Gustein H., Akil H.: Opioid analgesics. In: Brunton L. et al (eds) "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw -Hill, New York pp 547-590, 2006

33. Campbell D.: Circulating and tissue angiotensin systems. *J Clin. Invest.* 19:1-6, 1987
34. Jackson E.: Renin and angiotensin. In Hardman J. et al ( eds ). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw - Hill Comp., New York pp 809-841, 2001
35. Lundberg J.M., Anggard A., Pernow J., Hokfelt T.: Neuropeptide Y, substance P, and VIP-immunoreactive nerves in cat spleen in relation to autonomic vascular and volume control. *Cell Tissue Res.* 239: 9-18, 1985
36. Lundberg J.M., Franco-Cereceda A., Hua X., Hokfelt T., Fischer J.: Coexistence of substance P and calcitonin gene-related peptide like immunoreactivities in sensory nerves in relation to cardiovascular and bronchoconstrictor effects of capsaicin. *Eur. J. Pharmacol.* 108: 315-319, 1985
37. Otsuka M., Konishi S.: Substance P: The first peptide neurotransmitter? *Trends Neurosci.* 8:317-320, 1983
38. Regoli O., Orapeau G., Dion S., D'Orleans-Juste P.: Pharmacological receptors for substance P and neurokinins. *Life Sci.* 40:109-117,1987
39. Krause J.E., Chirgwin J.M., Carter M.S., Xu, Z.S., Hershey A.O.: Three rat preprotachykinin mRNAs encode the neuropeptides substance P and neurokinin A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84: 881-885, 1987
40. Tuden G., Smedgard H., Thulin I., Muhrbeck Σ, Efendic S.: Circulatory effects of somatostatin in anesthetized man. *Acta Clin. Scand* 145: 443,1979
41. Chronwall B.M., DiMaggio O.A., Nassari V.J., Pickel V.M., Buggiero O.A., O'Donohue T.I.: The anatomy of neuropeptide Y-containing neurons in rat brain. *Neuroscience* 15: 1159-1181, 1985
42. Tatemoto K., Carlquist M., Mutt V.: Neuropeptide Y-a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature* 298: 659-660, 1982
43. Said S.: Vasoactive Intestinal Peptide. Raven Press, New York, 1982.
44. Bloom F.: Neurotransmission and the central nervous system. In: Brunton L. (ed) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 317-339,2006
45. Said S.I.: Vasoactive intestinal polypeptide. *J. Endocrinol. Invest.* 2:191-200, 1986
46. Said S.I.: Vasodilator action of VIP: introduction and general considerations. In: S.I.Said (ed) "Vasoactive Intestinal Peptide". Raven Press, New York, pp 145-148,1982
47. Nguyen K.O., Sills M.A., Jacobowitz O.M.: Cardiovascular effects produced by microinjection of calcitonin gene-related peptide into the rat central amygdaloid nucleus. *Peptides* 1:337-339, 1986
48. Kawai Y., Takami K., Shiosaka S., Amson P.C., Hillyard C.J., Girgis S., MacIntyre L., Tohyama M.: Topographic localization of calcitonin gene-related peptide

- in the rat brain: an immunohistochemical analysis. *Neuroscience* 15: 747-763, 1985
49. Rosenfeld M.G., Mermod J.J., Amara S.G., Swanson L.W., Sawchenko P.E., Rivier J., Vale W.W., Evans R.M.: Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature* 304: 129-135, 1983
  50. Krause D., Purdy R., Pearce J., Duckles S.: Vascular neuroeffector mechanisms. The next 30 years. *Trends Pharmacol. Sci* 23:541-542, 2002
  51. Saper C.B., Standaert O.G., Currie M.G., Schavartz O., Geller O.M., Needleman P.: Atriopeptin-immunoreactive neurons in the brain: presence in the cardiovascular regulatory area. *Science* 221 1047-1049, 1985
  52. Edvinsson I., Hakanson R., Wahlestedt C., Jaddman R.: Effects of neuropeptide Y on the cardiovascular system. *Trends Pharmacol. Sci.* 8: 231-235, 1987
  53. Oahlof C., Oahlof P., Lundberg J.M.: Neuropeptide  $\gamma$  (Npy): Enhancement of blood pressure increase upon  $\alpha$ -adrenoceptor activation and direct pressor effects in pithed rats. *Eur. J. Pharmacol.* 109:298-292, 1985
  54. Grundemar L., Hakanson R.: Neuropeptide Y effector systems. Perspectives for drug development. *Trends Pharmacol. Sci.* 15:153-159,1994
  55. Yamamoto Y., Kitamura N., Yamada J., Yamashita T.: Immunohistochemical study of the distributions of the peptide-and catecholamine-containing nerves in the omasum of the sheep. *Acta Anat.* 149:104-110,1994
  56. Smitherman T.C., Oehmer G.J., Said S.I.: Vasoactive intestinal peptide as a coronary vasodilator. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 521 421-430, 1988
  57. Said S.I., Boshier I.P., Spath J.A., Kontos H.A.: Positive inotropic action of a newly isolated vasoactive intestinal polypeptide (VIP). *Clin. Res.* 20: 29,1972
  58. Krejs, J.: Cardiovascular effects of vasoactive intestinal peptide in healthy subjects. *Am. J. Cardiol.* 60: 1356-1361,1987
  59. Porter J.P., Gamong W.F.: Vasoactive intestinal peptide and rennin secretion. *Ann.. N. Y. Acad. Sci.* 521:465-477, 1988
  60. Regoli O., Orapeau G.: Pharmacological receptors for substance P and neurokinins. *Life Sci.* 40:109-117, 1987
  61. Smith, A.P., Lee, N.M.: Pharmacology of dynorphin. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 28: 134-140, 1988
  62. Kokkas B., Kouyoumtzis A., Kotoula M., Kouvelas D., Karamouzis M., Papadopoulos K., Paradellis A.: The action of dynorphin 1-13 on calcium uptake by bovine aortic tissue. *Int. J. Immunopathology Pharmacol.* 4: 91-79, 1991
  63. Kouvelas, O., Kokkas, B., Papadopoulos, K., et al.: Synergism of naloxone and morphine on the vascular tone. *Epith. Klin. Farmakol. Farmakokin (Int. Ed.)* 4: 178-181, 1990
  64. Kokkas B., Kotoula M., Kouyoumtzis O., Papadopoulos K., Paradelis A.: The influence of methionino-5 enkephalin on calcium uptake by the bovine aortic media. *Meth. Find Exp. Clin. Pharmacol.* 12:181-184, 1990



65. Uddman R., Edvinsson I., Ekblad E., Hakanson R., Sundler F.: Calcitonin gene related peptide (CGRP): perivascular distribution and vasodilatory effects. *Regul. Pept.* 15: 1-23, 1986
66. Fontaine B., Klarsfeld A., Changeux J.P.: Calcitonin gene-related peptide and muscle activity regulate acetylcholine receptor alpha-subunit mRNA levels by distinct intracellular pathways. *Cell Biol.* 105: 1337-1342, 1987
67. Nikitenko L., Smith D., Hague S., Wilson C., Bicknell R.: Adrenomedulin and the microvasculature. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:101-103,2002
68. Sorrentino V., Rizzuto R.: Molecular genetics of Ca<sup>2+</sup> stores and intracellular Ca<sup>2+</sup> signalling. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:461-466, 2001
69. Hay D., Smith D.: Knockouts and transgenic confirm the importance of adrenomedulin in the vasculature. *Trends Pharmacol. Svi.* 22:57-69,2001
70. Brain S., Poyner D., Hill R.: CGRP receptors. A headache to study, but will antagonists prove therapeutic in migraine? *Trends Pharmacol. Sci.* 23:51-53,2002
71. Wilkes B.M., Mento P.F.: Bradykinin-induced vasoconstriction and thromboxane release in perfused human placenta. *Am. J Physiol.* 254: E681-E686, 1988
72. Ryan J.W.: The metabolism of angiotensin I and bradykinin by endothelial cells. In: Jaffe E (ed) "Biology of Endothelial Cells". Martinus Nijhoff, Boston, pp 317-329,1984
73. Skidel R., Erdos E.: Histamine, bradykinin, and their antagonists. In: Brunton L. et al (eds) "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw -Hill, New York pp 629-651, 2006
74. Παπαδόπουλος Κ.: Το αρτηριακό ιστικό σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης. *Αρτηρ. Υπερτ.* 18: 5-7, 1987
75. Heinrikson, R., Poorman, R.: The biochemistry and molecular biology of recombinant human renin and angiotensin. In: Laragh J., Brenner B. (eds) "Hypertension". Raven Press, New York, pp 1181-1195, 1990
76. Lenz T.: Tissue renin systems as a possible factor in hypertension. In: Laragh J., Brenner B. (eds) "Hypertension" Raven Press, New York, pp 1319-1326, 1990
77. Marsden P., Brenner B., Ballermann B.: Mechanisms of angiotensin action on vascular smooth muscle, the adrenal and the kidney. : Laragh J., Brenner B. (eds) "Hypertension". Raven Press, New York, pp 1247-1265, 1990
78. Παπαδόπουλος Κ.: Της Συντάξεως απόψεις για τον ρόλο του νεφρογενούς Μετατρεπτικού Ενζύμου της Αγγειοτασίνης. *Αρτηρ. Υπερτ.* 12: 1-2, 1989
79. Παπαδόπουλος Κ., Σακαντάμης Γ.: Μηχανισμοί δράσης των αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (αΜΕΑ) κατά την αντιϋπερτασική θεραπεία. *Γαληνός* 30: 467-480, 1988
80. Furchott R.F.: Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ. Res.* 53:557-573, 1983
81. Palmer R., Ashton D., Moncada S.: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333: 664-666,1988

82. Myronidou M., Kokkas B., Kouyoumtzis A., Gregoriades N., Lourbopoulos A., Mylonas I., Papadopoulos C.L., Mirtsou-Fidani V.: Losartan increases NO production from the bovine aortic wall that is stimulated by angiotensin II. *Eur. J. Inflammation*. 3: 113-117, 2003
83. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yazaki Y., Goto K., Masaki T.: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332: 411-414, 1988
84. Vanhoutte P.M., Miller V.M.: Heterogeneity of endothelium-dependent responses in mammalian blood vessels. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 7(Suppl): 812-823, 1985
85. Masaki T.: Historical review. Endothelin. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:219-224, 2004
86. De Neef P., Robberecht P., Chatelain P., Wealbroeck M., Christophe J.: The in vivo chronotropic and inotropic effects of vasoactive intestinal (VIP) on the atria and ventricular papillary muscle from cynomolgus monkey heart. *Regul. Pept.* 244: 237-244, 1984
87. Kummer W., Reinecke M., Heym C.: Neurotensin-like immunoreactivity in presumptive baroreceptor neurons innervating the guinea pig carotid sinus. *J. Auton. Nerv. Syst.* 35:107-115, 1991
88. Παπαδόπουλος Κ.: Η επίδραση στην νεφρική αιμοδυναμική υπερτασικών ασθενών των αποκλειστών του Ca<sup>+</sup>, των διουρητικών, των β-αποκλειστών και των ανταγωνιστών του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης. *Αρτ. Υπερτ. Τεύχ.* 20: 1, 1987
89. Παπαδόπουλος Κ.: Το αρτηριακό ιστικό σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης. *Αρτ. Υπερτ. Τεύχ.* 18: 5-7, 1987
90. Παπαδόπουλος, Κ.: Το κοιλιακό νατριουρητικό πεπτιδία στην αρτηριακή υπέρταση. *Αρτ. Υπερτ.* 1: 177-185, 1992
91. Papadopoulos C.: The contribution of the atrial natriuretic peptide in arterial pressure regulation. *Epitheor. Klin. Farmacol. Farmakokinet. (Int. Ed)* 6:117-123, 1992
92. Ahluwalia A., Hobbs A.: Endothelium-derived C-type natriuretic peptide. More than just a hyperpolarizing factor. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:162-167, 2005
93. Sagawara A., Nakao K., Sakamoto M., et al.: Plasma concentration of atrial natriuretic polypeptide in essential hypertension. *Lancet* :1426-1427, 1985
94. Sugnella G.A., Markanda N.O., Shore A.C., MacGregor G.A.: Raised circulating levels of atrial natriuretic peptides in essential hypertension. *Lancet*. 179-181, 1986
95. Montorsi P., Tonolo G., Polonia J., et al.: Correlation of plasma atrial natriuretic factor in health and hypertension. *Hypertension* 10: 570-576, 1987
96. Koho M., Yokolawa K., Yasunari K., et al.: Acute effects of α- and β-adrenoceptor blockade on plasma atrial natriuretic peptides during exercise in elderly patients with mild hypertension. *Chest* 99: 847-854, 1991

97. Papadopoulos C., Kokkas B., Kotridis P., Karamouzis M., Haldoupi M., Platis A., Dadoush G.: The effect of  $\beta_1$ -blocker /  $\beta_2$  agonist celiprolol on Atrial Natriuretic Peptide plasma levels in hypertensive patients . *Cardiovasc. Drugs Ther.* 12 :345-346,1998
98. Papadopoulos C., Kokkas B., Anogiannakis G. : Beta blockers and Atrial Natriuretic Peptide (ANP ) in hypertension. *Intern. J. Immunopathol. Pharmacol.* . 13:107-110,2000
99. Waldman S., Rapaport R.M., Murad F.: Atrial natriuretic factor activates particulate guanylate cyclase and elevates cyclic GMP in rat tissues. *J. Biol. Chem.* 254: 14332-14334, 1984
100. Papadopoulos P.C, Kotridis P., Kokkas B., Koutsimanis V., Aidonidis G., Dadoush G., Gouli O., Karamouzis M., Kouyoumtzis A., Sakantamis G., Hatseras D., Papadopoulos C.L.: Plasma Atrial Natriuretic Peptide in Essential Hypertension after treatment with Carvedilol. *Rev. Pharmacol. Pharmacokin.*, 2006 in press
101. Papadopoulos P.C., Kokkas B., Kotridis P., Aidonidis G., Koutsimanis V., Karnaras D., Vogiatzis I., Dadoush G., Karamouzis M., Kouyoumtzis A., Sakantamis A., Hatseras D., Papadopoulos C.L.: Plasma Atrial Natriuretic Peptide in Essential Hypertension after treatment with Nebivolol. *Rev. Pharmacol. Pharmacokin.*, 2006 in press
102. Racz K., Kuckel O., Buu N.T., et al.: Atrial natriuretic factor, catecholamines, and natriuresis. *N Engl. J. Med* 314: 312-323, 1986
103. Fried T.A., McCoy R.N., Osgood R.W., et al.: Effect of atriopeptin 11 on determinants of glomerular filtration rate in the in vitro perfused dog glomerulus. *Am. J. Physiol.* 250: F1119-F1122, 1986
104. Παπαδόπουλος Κ., Κόκκας Β., Κοτρίδης, Π., και συν.: Η επίδραση της παρατεταμένης χορηγήσεως του  $\beta_1$  αποκλειστού βισοπρολόλη στην αρτηριακή πίεση και τον κολπικό νατριουρητικό παράγοντα επί ιδιοπαθούς υπερτάσεως. *Αρτ. Υπερτ.* 1: 201-205, 1992.
105. Papadopoulos, C.L., Kokkas, B.A.: Atrial natriuretic peptide contributes to the antihypertensive action of many drugs. *Eur. J. Metabolism Pharmacokin.* 28:55-58,2003
106. Hollenberg M., Plum J., Heering P., et al.: Influence of betaxolol on renal function and atrial natriuretic peptide in essential hypertension. *J. Hypertens.* 9: 819-824, 1990
107. Nakaoka H., Kithara Y., Amano M., et al.: Effect of  $\beta$ -adrenergic receptor blockade on atrial natriuretic peptide in essential hypertension. *Hypertension* 10: 221-225,1987
108. Gainer H.: Biosynthesis of vasopressin: an overview. In: Buckley J., Ferrario C.M. (eds) "Brain Peptides and Catecholamines in Cardiovascular Regulation". Raven Press, New York pp. 365-372, 1987
109. Unger T., Rohmeiss P., Oenmert G., Luft F.C., Ganten O., Lang R.E.: Differential actions of neuronal and hormonal vasopressin on blood pressure and

- baroreceptor reflex sensitivity in rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8 (Suppl 7): 981-986,1986
110. Bussien J.P., Waeber B., Nussberger J., Hofbauer K.G., Brunner H.R.: Blockade of the vascular effect of vasopressin in patients with mild essential hypertension. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 282 130-139, 1986
  111. Blessings W.W., Sved A.F., Reis O.J.: Destruction of noradrenergic neurons in rabbit brain stem elevates plasma vasopressin, causing hypertension. *Science* 217: 661, 1982
  112. Morton J.J., Padfield P.I.: Vasopressin and hypertension in man. *J. Cardiovasc. Pharmacol* 7(Suppl): S101-S106, 1986
  113. Jackson E.: Vasopressin and other agents affecting the renal conservation of water. In: Brunton L. (ed) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 771-788,2006
  114. Simpson H.C., Zubillaga J.E., Cillier J.G., Bennett E.O., Mehta N., Ang V.T., Jenkins, J.G.: Endogenous vasopressin affects postural control of blood pressure in man. *Clin. Sci.* 8: 589-592, 1987
  115. Saad C.I., Ribeiro A.B., Zanella M.T.; Mulinari R.A., Gavras I., Gavras H.: The role of vasopressin in blood pressure maintenance in diabetic orthostatic hypertension. *Hypertension* 11(Suppl II): 1217-1221,1988
  116. Jochem J.: Involvement of proopiomelanocortin-derived peptides in endogenous central histamine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 55:57-71,2004
  117. Fidelman M.I., May J.M., Biber T., Watlington, C.Q.: Insulin stimulation of Na<sup>+</sup> transport and glucose metabolism in cultured kidney cells. *Am. J. Physiol* 242: C121-123, 1982
  118. Cox M., Singer I.: Insulin mediated Na<sup>+</sup> transport in the urinary bladder. *Am. J. Physiol* 232: F270-F273, 1977
  119. Landsberg I.: Diet, obesity and hypertension: an hypothesis involving insulin, the sympathetic nervous system and adaptive thermogenesis. *Q. J. Med.* 238: 1081-1090, 1986
  120. Meyer P.: Similarities in cellular proliferative mechanisms in hypertension and neoplasia. In: Laragh J., B. Brenner B. (eds) "Hypertension". Raven Press, New York, pp. 541-545,1990
  121. Ζεμπεκάκης Π., Λαζαρίδης Α., Καλεβρόσογλου Ι., και συν.: Η επίδραση της ενδογενούς ινσουλίνης στη νατριούρηση κατά τη δοκιμασία ανοχής γλυκόζης σε ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση. *Αρτ. Υπερτ.* 2: 106-113,1993
  122. Reaven G.M.: Insulin resistance, hyperinsulinemia, hypertriglyceridemia, and hypertension: Parallels between human disease and rodent models. *Diabetes Care* 14: 195-202,1991
  123. Halkin H., Modan M., Shefi M., Almog S.: Altered erythrocyte and plasma sodium and potassium in hypertension. A facet of hyperinsulinemia. *Hypertension* 11: 71-77,1988

124. Resh M.O., Nemenoff R.A., Guidotti G.: Insulin stimulation of (Na,K)-Adenosine Triphosphatase dependent 86-Rb uptake in rat adipocytes. *J. Biol Chem.* 255: 10938-10945, 1980
125. Moore R.O.: Effects of insulin on ion transport. *Bioch. Biophys. Acta* 737: 1-49, 1983
126. De Fronzo R.A., Cooke C.R., Andres R., Faloona G.R., Davis P.: The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium calcium and phosphate in man. *J. Clin. Invest.* 55: 845-855, 1975.
127. Hammerman M.R.: Interaction of insulin with the renal proximal tubular cell. *Am. J. Physiol.* 249: F1-F11, 1985
128. Davis S.: Insulin, oral hypoglycemic agents, and the pharmacology of the endocrine pancreas. In: Brunton L. (ed) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 1613-1645, 2006
129. Pang P.K.T., Tenner T.E. Jr., Yee J.A., Yang M., Janssen H.F.: Hypotensive action of parathyroid hormone preparations on rats and dogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 675, 1990
130. Pang P.K.T., Yang M.C.M., Kenny A.D., Tenner, T.E. Jr.: Structure and vascular activity relationship of parathyroid hormone and some hypotensive peptides. *Clin. Exp. Hypertens.* 4: 189, 1982
131. Παπαδόπουλος Κ., Λευκός Ν., Αγοραστός Ι. και συν.: Πρόδρομος ανακοίνωσης επί των θεραπευτικών εφαρμογών του γλυκαγόνου επί καρδιακών παθήσεων. *Γαληνός* 14: 798-805, 1972
132. Papadopoulos K., Lefkos N., Concouris I.: L'effect du glucagon sur les phases du cycle cardiaque. *Arch.Un. Med. Balc.* 11. 323-326, 1973
133. Σακαντάμης Γ., Παπαδόπουλος Κ., Χασσάντι Μ. και συν.: Μεταβολές της μεγίστης σχετικής ταχύτητας του κρουστικού κύματος του καρωτιδικού σφυγμού κατά την χορήγηση γλυκαγόνης. *Γαληνός* 23. 979-982, 1981
134. Farwell A., Braverman L.: Thyroid and antithyroid drugs. In: Brunton L. (ed) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 1511-1540, 2006
135. Holaday J.W., D'Amato R.J., Faden A.I.: Thyrotropin-releasing hormone improves cardiovascular function in experimental endotoxic and hemorrhagic shock. *Science* 213-216, 1981
136. Tache Y., Lis M., Collu R.: Effects of thyrotropin-releasing hormone on behavioral and hormonal changes induced by beta-endorphin. *Life Sci.* 21: 841-846, 1977
170. Mills D.E., Buchman M.T., Peake G.T.: Effects of prolactin administration and suppression on blood pressure and body fluid compartments in the rat. *Endocrinology* 109: 1950, 1981
138. Lohmeier T.E., Carroll R.G.: Chronic potential of vasoconstrictor hypertension by adrenocorticotrophic hormone. *Hypertension* 4(Suppl II): 11-138 11-148, 1982

139. Connell J.M., Whitworth J.A., Cavies D.I., Levre A.F., Richards A.M., Fraser R.: Effects of ACTH and cortisone administration on blood pressure, electrolyte metabolism, atrial natriuretic peptide and renal function in normal man. *J. Hypertens.* 4: 425-433, 1987
140. Zeiler R.H., Strand F.L., El-Sherif N.: Electrophysiological and contractile responses of canine atrial tissue to adrenocorticotropin. *Peptides* 3: 815-822, 1982
141. Vergona R.A., Strand F.L., Cohen M.R.: ACTH 1-24 induced potentiation of norepinephrine contractile responses in aortic strips from spontaneously hypertensive (SH) and normotensive (WKY) rats. *Peptides* 8: 581-584, 1985
142. Roques B.: Novel approaches to targeting neuropeptide systems. *Trends Pharmacol. Sci* 21:475-483,2000
143. Maguire J., Devenport A.: Regulation of vascular reactivity by established and emerging GPCRs. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:448-454, 2005
144. Douglas S., Dhanak D., Johns D.: From 'gills to pills'. Urotensin II as a regulator of mammalian cardiorenal function. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:76-84,2004
145. Dautzenberg F., Hauger R.: The CRF peptide family and their receptors. Yet more patterns discovered. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:71-77,2002
146. Malcangio M., Bowery N.: Peptide autoreceptors. Does an autoreceptor for substance P exist? *Trends Pharmacol. Sci.* 20:405-407,1999

## ΕΝΑΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### **ΑΓΓΕΙΟΤΑΣΙΝΗ II ΚΑΙ ΝΑΤΡΙΟΥΡΗΤΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ. ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΙ ΣΤΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΝΕΦΡΩΝ**

Β. Α. Κόκκας και Κ. Λ. Παπαδόπουλος

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Το σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης αποτελεί έναν ιδιαίτερα βασικό μηχανισμό ρύθμισης της αρτηριακής πίεσης προάγοντας, μεταξύ άλλων, και μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς την αύξηση του αγγειακού τόνου, την πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος και την αύξηση του κυκλοφορούντος όγκου αίματος λόγω κατακράτησης νατρίου και ύδατος. Τα νατριουρητικά πεπτιδία δρουν ανταγωνιστικά. Οι επιδράσεις τους είναι τόσο περιφερειακές, όπως η νατριούρηση, η αγγειοδιαστολή, η αναστολή της σύνθεσης της αλδοστερόνης και οι αντιμιτωτικές ιδιότητες, όσο και κεντρικές, όπως η καταστολή της δίψας και η αναστολή της έκκρισης της βαζοπρεσίνης. Επίσης έχουν δράσεις ενάντια στο συμπαθητικό νευρικό σύστημα που συμβάλλουν μετά των λοιπών στην ελάττωση της αρτηριακής πίεσης. Τόσο τα νατριουρητικά πεπτιδία όσο και οι  $\beta_1$ -αδρενεργικοί αποκλειστές που αυξάνουν τις συγκεντρώσεις αίματος των πεπτιδίων αυτών δρουν ανασταλτικά στην κινητοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης αναστέλλοντας την απελευθέρωση της πρώτης από τα κύτταρα της παρασπειραματικής συσκευής.*

#### **Εισαγωγή**

Το σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης συνιστά έναν ιδιαίτερα βασικό μηχανισμό βραχυπρόθεσμης και μακροπρόθεσμης ρύθμισης της αρτηριακής πίεσης. Παράγοντες που ελαττώνουν την αρτηριακή πίεση ή την καρδιακή παροχή, όπως αιμορραγίες, νεφρωσικά σύνδρομα, συμφορητική καρδιακή

ανεπάρκεια αλλά και φάρμακα, όπως είναι τα αγγειοδιασταλτικά και τα διουρητικά, αποτελούν το ομόλογο ερέθισμα για την κινητοποίηση του συστήματος αυτού.

Ένας από τους παράγοντες που ενεργοποιούν τον άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης είναι, όπως προαναφέρθηκε, και η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια. Η αύξηση της πίεσης μέσα στις αριστερές καρδιακές κοιλότητες έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση των νατριουρητικών πεπτιδίων. Ο αντιρροπιστικός αυτός μηχανισμός ανταγωνίζεται το σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης και αλδοστερόνης τόσο στο επίπεδο του αγγειακού τοιχώματος όσο και στο επίπεδο λειτουργίας των νεφρών με φαινομενικά ανεξάρτητους και διαφορετικούς μηχανισμούς.

## **Βιοσύνθεση της αγγειοτασίνης II**

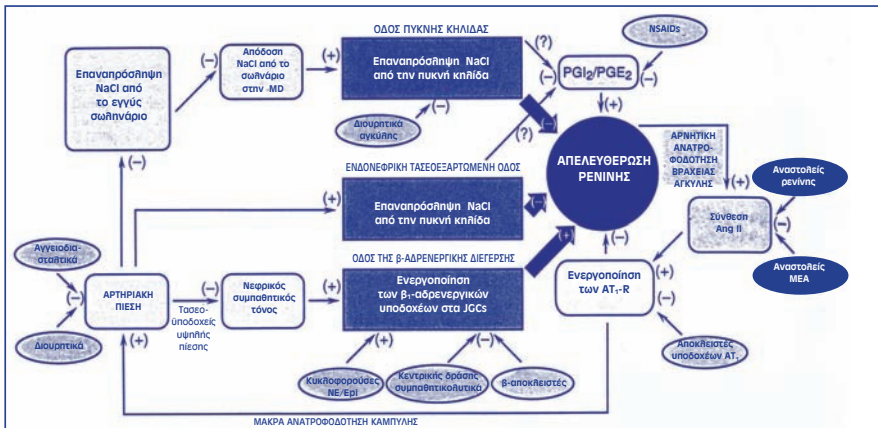
Η αγγειοτασίνη II (AT II) είναι μια ενδογενής ουσία που δρα τόσο ως κυκλοφορούσα όσο και ως ιστική τοπική ορμόνη. Παράλληλα, η ουσία αυτή δρα ως νευρομεταβιβαστική στο ΚΝΣ. Η βιοσύνθεση της AT II είναι γνωστή και γι' αυτό η αναφορά στο θέμα θα είναι συνοπτική.

### **Μηχανισμοί απελευθέρωσης της ρενίνης**

Από τα κύτταρα της παρασπειραματικής συσκευής του νεφρού εκκρίνεται η ρενίνη που είναι ένα γλυκοπρωτεολυτικό ένζυμο. Πρόκειται για μια ασπαρτυλική πρωτεάση η οποία έχει έναν περιορισμένο αριθμό υποστρωμάτων. Η απελευθέρωση της ρενίνης διέπεται από τρεις μηχανισμούς (1-4).

Ο πρώτος μηχανισμός αποκαλείται μονοπάτι της πυκνής κηλίδας (macula densa pathway). Στην περίπτωση αυτή, τα κύτταρα της παρασπειραματικής συσκευής δέχονται χημικά σήματα που προέρχονται από τα κύτταρα της πυκνής κηλίδας. Η ελάττωση της συγκέντρωσης του NaCl στα κύτταρα της πυκνής κηλίδας έχει ως αποτέλεσμα την αποστολή σήματος στην παρασπειραματική συσκευή, το οποίο πραγματοποιείται με την απελευθέρωση προσταγλανδινών (PGs) λόγω διέγερσης της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2), ενώ η αντίστοιχη αύξηση του NaCl προάγει την απελευθέρωση της αδενοσίνης. Στην πρώτη περίπτωση το σήμα είναι διεγερτικό, ενώ στη δεύτερη περίπτωση είναι ανασταλτικό. Οι PGs διεγείρουν υποδοχείς συνδεδεμένους με G<sub>s</sub>-πρωτεΐνη στα κύτταρα της παρασπειραματικής συσκευής. Από τη διεγερτική αυτή δράση σχηματίζεται η κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP: cyclic Adenosine Monophosphate), η οποία είναι και το ομόλογο ερέθισμα για την απελευθέρωση της ρενίνης.





**Εικόνα 9.1: Μηχανισμοί απελευθέρωσης της ρενίνης.** Απεικονίζονται οι τρεις μηχανισμοί απελευθέρωσης της ρενίνης, οι φυσιολογικές αλληλεπιδράσεις και οι φαρμακολογικοί ανασταλτικοί στόχοι (βλέπε κείμενο). Όπου MD (Macula Densa pathway: Βιοχημική οδός της πυκνής κηλίδας), NSAIDs (Non Steroid Analgesic Antiinflammatory Drugs: μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα), AngII (Angiotensin II: αγγειοτασίνη II), PGI<sub>2</sub> / PGE<sub>2</sub> (Prostacyclin/prostaglandin E<sub>2</sub>, προστακυκλίνη / προσταγλανδίνη E), NE / Epi (Noradrenaline / Epinephrine: νοραδρεναλίνη / αδρεναλίνη), Hardman J. et al (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics", 2001

Ο δεύτερος μηχανισμός ονομάζεται ενδονεφρικό μονοπάτι των τασσοϋποδοχέων (intrarenal baroreceptor pathway). Το μονοπάτι αυτό ρυθμίζεται από την πίεση του αίματος στα προμαλπιγιανά αγγεία. Η αύξηση της πίεσης δρα ανασταλτικά στην απελευθέρωση της ρενίνης και η ελάττωση οδωτικά. Πιστεύεται ότι η ελάττωση της διάτασης του αγγειακού τοιχώματος προάγει τη σύνθεση και απελευθέρωση των PGs, που με τη σειρά τους προάγουν την απελευθέρωση της ρενίνης.

Ο τρίτος μηχανισμός διαμεσολαβείται από τη νοραδρεναλίνη που απελευθερώνεται από τις μεταγαγγλιακές συμπαθητικές ίνες αντανακλαστικά όταν πέφτει η αρτηριακή πίεση. Η νοραδρεναλίνη προκαλεί τη διέγερση των β<sub>1</sub>-αδρενεργικών υποδοχέων στα κύτταρα της παρασπειραματικής συσκευής. Η διέγερση αυτή οδηγεί επίσης στη σύνθεση της cAMP και στην απελευθέρωση της ρενίνης.

**Βιοσύνθεση των αγγειοτασινών**

Υπό την επίδραση της ρενίνης, το αγγειοτασινογόνο το οποίο παράγεται στο ήπαρ και τον λιπώδη ιστό υφίσταται μια διάσπαση του δεσμού λευκίνης-βαλίνης και δίνει ένα αδρανές δεκαπεπτίδιο, την αγγειοτασίνη I (AT I). Η τελευταία με την επίδραση του μετατρεπτικού ενζύμου (ΜΕΑ) που είναι μια καρβοξυπεπτιδάση μετατρέπεται σε ένα ιδιαίτερα δραστικό οκταπεπτίδιο, την AT II.

Το ΜΕΑ είναι ένα μη εξειδικευμένο ένζυμο, καθώς διασπά διπεπτιδικές ομάδες από υποστρώματα με διαφορετική αλληλουχία ενζύμων. Πρόκειται για ένζυμο ταυτόσημο με την κινινάση II που διασπά τη βραδυκινίνη (1,5-7).

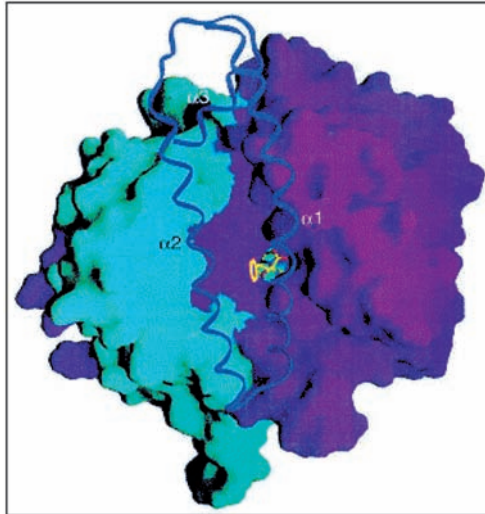
Επίσης, η AT I υπό την επίδραση ενζύμων όπως η μεταλλοπεπτιδάση 24.15, η ενδοπεπτιδάση 24.11 και η προπυλενδοπεπτιδάση 24.26 δίνει την αγγειοτασίνη-(1-7) {AT (1-7)}. Το ίδιο συμβαίνει και με την επίδραση της προπυλκαρβοξυπεπτιδάσης στην AT II. Οι νεότερες αναφορές εστιάζονται στο ένζυμο ΜΕΑ2 ως το ένζυμο που σχηματίζει την AT-(1-7) από την AT II. Οι αγγειοτασινάσες διασπούν ταχύτατα την ATII. Ο χρόνος  $t_{1/2}$  για την ATII είναι της τάξης του 1' λεπτού, ενώ ο αντίστοιχος της ρενίνης είναι 20'-30' λεπτά (8-10).

### **Χαρακτηριστικά του ΜΕΑ**

Η κυκλοφορούσα AT II σχηματίζεται με βραδύ ρυθμό από την AT I με τη δράση του ΜΕΑ ή ACE (Angiotensin Converting Enzyme) του πλάσματος και αθρόα με τη δράση του ΜΕΑ της κυτταρικής μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων. Παράλληλα, η ύπαρξη τοπικών ΜΕΑ έχει διαπιστωθεί σε διάφορους ιστούς μεταξύ, των οποίων και το αγγειακό τοίχωμα. Υπολογίζεται ότι η ιστική προέλευση AT II αντιπροσωπεύει το 75% του συνόλου της ενδογενούς αυτής ουσίας. Η αναλογία αυτή της ιστικής AT II σε σχέση με την αντίστοιχη αιματική υποδηλώνει και το κλινικό ενδιαφέρον που αντιπροσωπεύει η πρώτη.

Το ΜΕΑ, όπως ήδη αναφέρθηκε, είναι μια διπεπτιδυλοκαρβοξυπεπτιδάση που εξαρτάται από τον ψευδάργυρο και εκφράζεται με δύο μορφές που κωδικοποιούνται από το ίδιο γονίδιο και η διαφοροποίηση οφείλεται σε εναλλακτικές θέσεις αποκοπής του συντιθέμενου μορίου. Ανήκει στις τύπου-1 μεμβρανικές πρωτεΐνες, περιέχει 1.278 υπόλοιπα αμινοξέων και μια περιοχή για σύνδεση με Zn. Το ΜΕΑ είναι προσορμισμένο στην κυτταρική μεμβράνη μέσω ενός απλού διαμεμβρανικού τμήματος το οποίο ευρίσκεται κοντά στο C-πέρας. Οι δύο αυτές μορφές διαφέρουν ως προς την ιστική κατανομή και τη δομή των τομέων του μορίου τους. Η σωματική μορφή ευρίσκεται σε πολλούς ιστούς, ενώ η ορχική ή γοναδική μορφή απαντά μόνο στους όρχεις. Και τα δύο ένζυμα δρουν ως εκτοένζυμα στην κυτταρική επιφάνεια. Μια διαλυτή μορφή του ενζύμου υπάρχει στο κυκλοφορούν αίμα και στα υγρά του σώματος. Η μορφή αυτή προέρχεται από την κυτταρική μεμβράνη και αποσπάται με τη δράση μιας σεκρετάσης (11,12).

Η σωματική μορφή ΜΕΑ έχει δύο τομείς μεταλλοπρωτεΐνας, τον N-τομέα και τον C-τομέα. Κάθε τομέας διαθέτει ένα ενεργό μοτίβο που περιέχει μια αλληλουχία σύνδεσης με  $Zn^{2+}$ . Παρόλο που και οι δύο τομείς έχουν ενεργότητα πρωτεάσης, ο C-τομέας είναι πιο σημαντικός για τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Η ορχική ή γενετική ή βλαστική (germinal) μορφή ΜΕΑ έχει μόνο μία καταλυτική θέση που αντιστοιχεί στον C-τομέα της σωματικής μορφής (11,12).



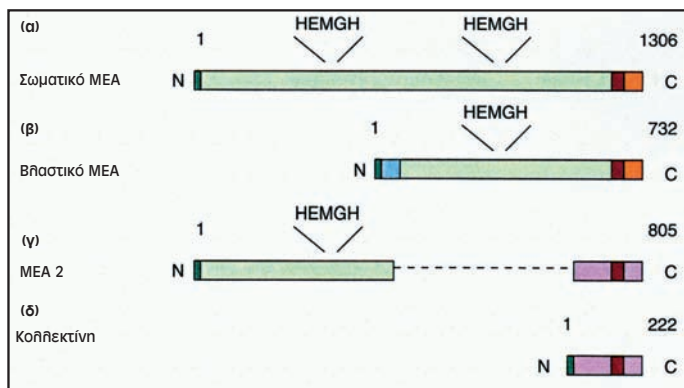
**Εικόνα 9.2:** Τριδιάστατη δομή του ορχικού ανθρώπινου ΜΕΑ. Διακρίνονται οι δύο υποτομείς I (πράσινο) και II (μωβ) αντίστοιχα. Η πολυπεπτιδική, δίκην ραχοκοκαλιάς, αλυσίδα για τις έλικες α1, α2 και α3 (σκούρο μπλε) αποκαλύπτει τον βαθύ διάυλο όπου ευρίσκονται οι ενεργοί θέσεις, καθώς και το σημείο σύνδεσης με τον αναστολέα λισινοπρίλη (κίτρινο).

*Trends Pharmacol. Sci. 24, 2003*

Το ένζυμο αυτό είναι μάλλον μη εξειδικευμένο και διασπά διπεπτιδικές ομάδες από υποστρώματα με διαφορετική αλληλουχία ενζύμων. Εμφανίζει σε μεγάλο ποσοστό γενετικό πολυμορφισμό που εντοπίζεται στο εσώνιο (intron) 16 του γονιδίου που το εκφράζει, με αποτέλεσμα την εμφάνιση μεγάλης ποικιλίας φαινοτύπων. Άτομα ομοζυγώτες όσον αφορά τη διαγραφή του βραχέος αλληλομόρφου στο προαναφερθέν εσώνιο έχουν υψηλά επίπεδα ΜΕΑ στο πλάσμα και υπόκεινται σε αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών επεισοδίων (13-15).

Κατά την υδρόλυση της αγγειοτασίνης I και της βραδυκινίνης, το ΜΕΑ δρα ως πεπτιδυλοδιπεπτιδάση απομακρύνοντας το διπεπτίδιο του C-πέρας του υποστρώματος. Σε άλλα, όμως, υποστρώματα, όπως η ουσία P, η χολοκυστοκινίνη και η λουλιβερίνη, το ΜΕΑ μπορεί και δρα ως ενδοπεπτιδάση (10).

Η γονιδιακή έρευνα έχει αποκαλύψει την ύπαρξη μιας ομόλογης μορφής του ΜΕΑ. Πρόκειται για το ΜΕΑ2 ή ACEH (ACE Homologue) το οποίο εμφανίζεται αυξημένο επί καρδιακής ανεπάρκειας. Πρόκειται για μια πρωτεΐνη που περιέχει 805 υπόλοιπα αμινοξέων, έχει έναν καταλυτικό τομέα και κατά 40% ομοιότητα με τους N και C τομείς του σωματικού ΜΕΑ. Παρουσιάζει ως καταλυτικό ένζυμο μια προτίμηση για το υδρόφοβο υπόλοιπο αμινοξέος στο C-πέρας του υποστρώματος και υδρολύει την αγγειοτασίνη I, όχι όμως και τη βραδυκινίνη, η οποία διαθέτει μια βασική αργινίνη στο C-πέρας. Το ΜΕΑ2 δεν επηρεάζεται από γνωστούς αναστολείς όπως είναι η καπτοπρίλη, η λισινοπρίλη και η εναλαπρίλη (11,12).



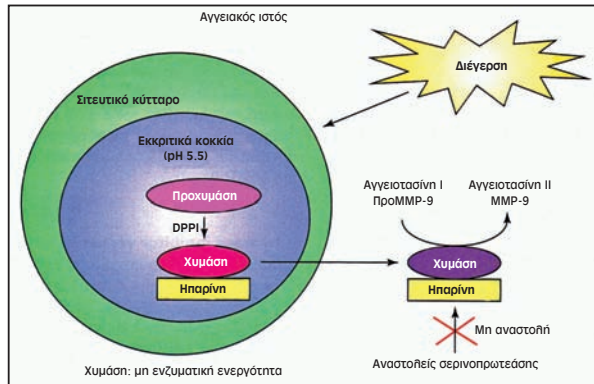
**Εικόνα 9.3:** Δομή του τομέα (α) του σωματικού MEA, (β) του γοναδικού ή ορχικού MEA, (γ) του ανθρώπινου ομολόγου MEA 2, (δ) της κολλεκτρίνης. Καθεμιά από αυτές τις πρωτεΐνες είναι μια τύπου 1 ενσωματωμένη στην κυτταρική μεμβράνη πρωτεΐνη με ένα, N-τελικό εξωκυττάριο τομέα και έναν βραχύ C-κυτταροπλασματικό τομέα, ένα σηματοδοτούν πεπτίδιο (πράσινο) και έναν δι-αμεμβρανικό τομέα (κόκκινο). Οι αριθμοί επισημαίνουν τα υπόλοιπα αμινοξέων της κάθε πρωτεΐνης. Τόσο το MEA όσο και το MEA2 περιέχουν τμήματα (HEMGH) που συνδέονται με φευδάργυρο (Zn) και τα οποία δημιουργούν τις ενεργούς θέσεις του ενζύμου. Το σωματικό MEA έχει δύο ενεργούς θέσεις, ενώ το γοναδικό MEA και το MEA 2 έχουν μόνο μία ενεργό θέση.

*Trends Pharmacol. Sci, 2002*

Ένα ομόλογο του MEA2 είναι η κολλεκτρίνη η οποία δεν έχει καταλυτικό τομέα. Η έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την κολλεκτρίνη επάγεται σε περιπτώσεις νεφρικής βλάβης. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι τα MEA δεν έχουν μόνο καταλυτικό ρόλο στη λειτουργία του ανθρώπινου σώματος (12).

Πολλοί ιστοί, συμπεριλαμβανομένου του αγγειακού τοιχώματος, περιέχουν mRNA που μεταφέρει τον κώδικα για τη σύνθεση τόσο της ρενίνης όσο και του MEA. Δεν υπάρχουν ενδείξεις για διαφορές μεταξύ του ιστικού MEA και του αντίστοιχου του πλάσματος όσον αφορά τη δομή και τη συγγένεια σύνδεσης. Όπως πιστεύεται, το αγγειακό τοίχωμα παράγει AT II με εκκίνηση από το αγγειοτασινογόνο που υπάρχει στο τοίχωμα αυτό και το οποίο υφίσταται την επίδραση της ρενίνης. Δεν είναι γνωστό αν πρόκειται για την κυκλοφορούσα ρενίνη ή την τοπικά παραγόμενη ή και τις δύο, ούτε το ποσοστό συμμετοχής της καθεμιάς από αυτές. Πιστεύεται, επίσης, ότι ο τραυματισμός του αγγείου έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του αγγειακού MEA. Από τα στοιχεία του αγγειακού τοιχώματος, AT II παράγουν τόσο τα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και οι λείες μυϊκές ίνες. Παράλληλα τα μακροφάγα που συσσωρεύονται κατά την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης έχουν και αυτά τη δυνατότητα να συνθέτουν την ουσία αυτή (1,16-20).

Η σημασία του ιστικού συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης δεν είναι ξεκάθαρη. Πιστεύεται ότι αφορά την κάλυψη απαιτήσεων για τοπική αναδιαμόρφωση των ιστών όταν οι ιστοί υφίστανται λειτουργική υπέρταση ή δυσπραγούν,



**Εικόνα 9.4: Σύνθεση και ενεργότητα της χυμάσης.** Η χυμάση συντίθεται ως προχυμάση στα εκκριτικά κοκκία των σιτευτικών κυττάρων με τη δράση της διπτετιδυλπεπτιδάσης (DPPPI: Dipetidylpeptidase). Αποθηκεύεται σε σύμπλεγμα με την ηπαρίνη και ασκεί ενζυμική δράση αμέσως μόλις απελευθερωθεί με τη μορφή του συμπλέγματος στον ενδιάμεσο ιστό ύστερα από αγγειακό τραυματισμό. Προάγει τη μετατροπή της αγγειοτασίνης I στην ενεργό αγγειοτασίνη II και τη μετατροπή της αδρανούς προμεταλλοπρωτεϊνάσης 9 (proMMP-9: prometalloproteinase 9) στη δραστική μεταλλοπρωτεϊνάση 9 (MMP-9: Metalloproteinase 9). Η μεμονωμένη χυμάση αδρανοποιείται από τους αναστολείς της σερίνοπρωτεάσης, ενώ με τη μορφή του συμπλέγματος είναι ανθεκτική σε διάσπαση.

*Trends Pharmacol. Sci. 25,2004*

καθώς και στην τοπική ρύθμιση της δραστηριότητας του συμπαθητικού και την ικανοποίηση τοπικών κυκλοφορικών ρυθμίσεων.

Η ιστική έκφραση των ενζύμων που διέπουν το σύστημα αυτό είναι σχετικά χαμηλή και φαίνεται ότι κανένα κύτταρο δεν περιέχει όλα τα στοιχεία του συστήματος. Το ιστικό σύστημα δεν συνεισφέρει σημαντικά στα κυκλοφορούντα ποσά της ενεργού ρενίνης (1).

Μερικοί ιστοί μπορούν να συνθέτουν AT II με μηχανισμούς ανεξάρτητους από την επίδραση του ΜΕΑ. Η λόγω σωματοψυχικής υπερέντασης κινητοποίηση κατεχολαμινών, η διάταση του αγγείου, ο στροβιλισμός του αίματος, είναι ερεθίσματα που ενεργοποιούν την ιστική μορφή παραγωγής της AT II. Οι ιστοί αυτοί διαθέτουν πρωτεάσες διάφορες της ρενίνης που μπορούν να μετατρέψουν το αγγειοτασινογόνο σε AT I ή σε ένζυμα όπως η καθεψίνη και η τονίνη που το μετατρέπουν απ' ευθείας σε AT II. Υπάρχουν, επίσης, ένζυμα όπως οι χυμάσες στον καρδιακό ιστό, η καθεψίνη G καθώς και ένα ένζυμο ευαίσθητο στη χυμοστατίνη σε διάφορους ιστούς που συνθέτουν AT II με μηχανισμούς που δεν έχουν σχέση με το ΜΕΑ. Παρόλο που η σημασία αυτών των βιοχημικών οδών παραμένει άγνωστη, εντούτοις υπάρχουν δεδομένα σύμφωνα με τα οποία η AT II αυτή πέραν της αγγειοσυσπαστικής ενέργειας εμπλέκεται και στην αναδιαμόρφωση της δομής των οργάνων στόχων (1,5).

## Υποδοχείς της αγγειοτασίνης II

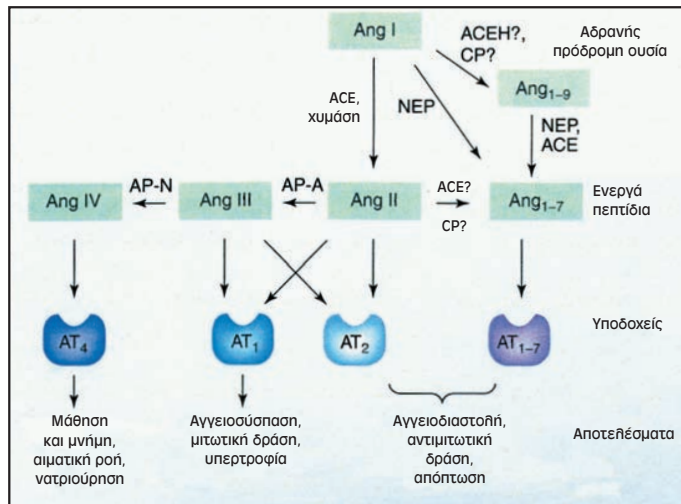
Η ταξινόμηση των υποδοχέων της AT II βασίζεται στις φαρμακολογικές τους ιδιότητες, τα δομικά στοιχεία τους, τους μηχανισμούς μετάδοσης και ασφαλώς στην εκλεκτικότητά τους να συνδέονται με διάφορες ουσίες. Ενδιαφέροντα για τους υποδοχείς αυτούς είναι τα παρακάτω (1,21-27):

Δύο κύριοι τύποι υποδοχέων έχουν μέχρι σήμερα κλωνοποιηθεί, ο  $AT_1$  και ο  $AT_2$ , ενώ άλλοι δύο υποδοχείς που απαντούν στα θηλαστικά, ο  $AT_3$  και ο  $AT_4$  δεν έχουν ακόμη κλωνοποιηθεί και δεν είναι πλήρως χαρακτηρισμένοι. Ο  $AT_4$  υποδοχέας αποτελεί το σημείο σύνδεσης της AT IV (αγγειοτασίνη 3-8), ενώ πιστεύεται ότι κάποιο είδος υποομάδας υποδοχέα θα πρέπει να υπάρχει και για το μεταβολίτη AT (1-7). Οι νεότερες απόψεις συνηγορούν στο ότι η AT-(1-7) αναγνωρίζει τους υποδοχείς  $AT_1$  και ο  $AT_2$ , ενώ αναγνωρίζει και ίδιους υποδοχείς. Πειραματικά δεδομένα αναφέρουν τον υποδοχέα Mas ως υποδοχέα της AT (1-7). Επί πλέον έχει αναφερθεί η ύπαρξη μιας κυτταροπλασματικής πρωτεΐνης και ενός πυρηνικού υποδοχέα που συνδέονται με την AT που δεν έχουν όμως ακόμη χαρακτηρισθεί πλήρως. Η μεγαλύτερη, μια πρωτεΐνη που συνδέεται με πολλούς προσδέτες και προάγει την ενδοκυττάρωσή τους, έχει ευρεθεί ότι προάγει την είσοδο στο κύτταρο τόσο της AT II όσο και της AT-(1-7), δρώντας ως υποδοχέας αποκομιδής (9,10,28,29).

Οι υποδοχείς  $AT_1$  και ο  $AT_2$  έχουν μια ομολογία αμινοξέων της τάξης του 30%. Και οι δύο ανήκουν στους συνδεόμενους με G πρωτεΐνη υποδοχείς και έχουν όλα τα χαρακτηριστικά αυτών, όπως είναι τα επτά διαμεμβρανικά τμήματα και τα πέρατα αζώτου (αμινοομάδες) στο κυτταρόπλασμα και άνθρακα (καρβοξύλιο) στον μεσοκυττάριο χώρο.

Στον άνθρωπο, το γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα  $AT_1$  ευρίσκεται στο χρωμόσωμα 3. Ο υποδοχέας αυτός αποτελείται από 359 αμινοξέα, έχει μοριακή μάζα 41 kDa και περιέχει τρεις θέσεις N-γλυκοζυλίωσης, οκτώ θέσεις φωσφορυλίωσης και έξι μόρια υπολοίπων κυστεΐνης. Η τριδιάστατη δομή του υποδοχέα στηρίζεται από δύο δισουλφιδικές γέφυρες. Η υψηλή εκλεκτικότητα που έχει για την AT II καθορίζεται από αμινοξέα που ευρίσκονται στην εξωκυττάρια επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης ή κοντά σε αυτήν, καθώς και από αλληλουχίες στα διαμεμβρανικά τμήματα. Υπάρχουν τουλάχιστον δύο υποομάδες του υποδοχέα αυτού, ο  $AT_{1A}$  και ο  $AT_{1B}$ , και διαφέρουν μεταξύ τους σε 19 αμινοξέα, οι δε διαφορές εντοπίζονται κυρίως στο καρβοξυλικό πέρασ. Πιστεύεται ότι υπάρχει και μία τρίτη υποομάδα, ο υποδοχέας  $AT_{1C}$ . Ο υποδοχέας  $AT_1$  εκφράζεται κυρίως στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων, το ήπαρ, τους νεφρούς, την καρδιά, τους πνεύμονες, στη φλοιώδη μοίρα των επινεφριδίων, την υπόφυση και τον εγκέφαλο.

Ο υποδοχέας  $AT_1$  έχει την ικανότητα να συνδέεται με μια ποικιλία G-πρωτεϊνών, όπως είναι οι πρωτεΐνες  $G_q$ ,  $G_r$ ,  $G_{12}$  και  $G_{13}$ , και μέσω αυτών να κινητοποιεί

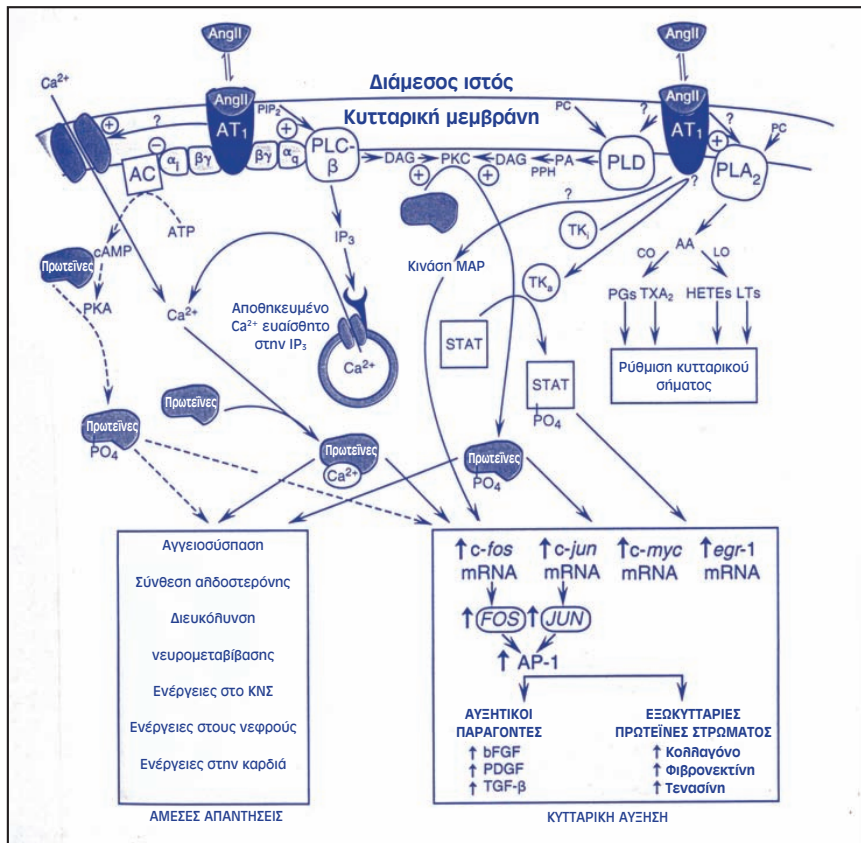


**Εικόνα 9.5: Μεταβολισμός της αγγειοτασίνης I.** Καταγράφονται οι μηχανισμοί σύνθεσης των διαφόρων ισόμορφων της αγγειοτασίνης I, οι υποδοχείς που διεγείρουν και οι βιολογικές δράσεις από τη διέγερση του κάθε υποδοχέα. Όπου Ang (Angiotensin: Αγγειοτασίνη), AT (υποδοχέας αγγειοτασίνης), ACE (Angiotensin Coverting Enzyme: Μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης) NEP (Neutral Endopeptidase: Ουδέτερη ενδοπεπτιδάση), AP (Aminopeptidase: Αμινοπεπτιδάση), CP (Carboxypeptidase: Καρβοξυπεπτιδάση).

*Trends Pharmacol. Sci.* 23,2002

έναν μεγάλο αριθμό ενδοκυττάρων βιοχημικών σημάτων. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται τα ενζυμικά συστήματα της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C), το οποίο διεγείρει, και της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylcyclase), το οποίο αδρανοποιεί. Με τους μηχανισμούς αυτούς αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του  $Ca^{2+}$  μέσω μηχανισμών ενδοκυττάριας απελευθέρωσης και εισόδου από τον εξωκυττάριο χώρο. Κινητοποιεί, επίσης, ενδοκυττάρια βιοχημικές οδούς που εξαρτώνται από τις κινάσες MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase: Πρωτεϊνική κινάση του ενεργοποιητή του μιτογόνου) και JK (Janus Kinase: Κινάση Janus), τις σερίνο-θρεονινο-πρωτεϊνικές κινάσες, τις εκτός υποδοχέων τυροσινικές κινάσες, μικρές πρωτεΐνες που συνδέονται με την GDP (Guanosine Diphosphate: Διφωσφορική γουανοσίνη), μεταγραφικούς παράγοντες, παράγοντες που εξασφαλίζουν τη μετάφραση του mRNA στα ριβοσωμάτια και, τέλος, παράγοντες που οδηγούν στη σύνθεση οξειδωτικών ουσιών.

Ο υποδοχέας  $AT_2$  κωδικοποιείται από ένα γονίδιο που ευρίσκεται στο χρωματόσωμα X. Ο υποδοχέας αυτός αποτελείται από 363 αμινοξέα, έχει μοριακή μάζα 41 kDa και περιέχει πέντε θέσεις N-γλυκοζυλίωσης, πέντε θέσεις φωσφορυλίωσης και 14 υπόλοιπα κυστεΐνης. Δεν έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη υποομάδων του υποδοχέα αυτού που εκφράζεται πλουσιότερα στους εμβρυϊκούς ιστούς παρά στους ιστούς του ενήλικα. Ο υποδοχέας αυτός συχνά απορρυθμί-



**Εικόνα 9.6: Μηχανισμοί που πυροδοτούνται από τη διέγερση του AT<sub>1</sub>-υποδοχέα της αγγειοτασίνης II.** Η διέγερση του συστήματος της PLC (Phospholipase C:Φωσφολιπάση C) οδηγεί στη σύσπαση του αγγειακού τοιχώματος και την απελευθέρωση κατεχολαμινών και αλδοστερόνης. Η διέγερση του συστήματος της PLA<sub>2</sub> (Phospholipase A<sub>2</sub>: Φωσφολιπάση A<sub>2</sub>) οδηγεί στη διέγερση της γονιδιακής έκφρασης αυξητικών παραγόντων και στη μακροπρόθεσμη υπερτροφία του αγγειακού τοιχώματος. Όπου AngII (Angiotensin II: αγγειοτασίνη II). *Hardman J. et al (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics", 2001*

ζεται ή επανεκφράζεται ύστερα από αγγειακές βλάβες, έμφραγμα του μυοκαρδίου, καρδιακή ανεπάρκεια, επούλωση τραυμάτων και εγκεφαλική ισχαιμία. Υπάρχουν πολλά κενά στις γνώσεις γύρω από τους μηχανισμούς μετάδοσης του σήματος που ξεκινά από τον υποδοχέα αυτόν και φθάνει στα ενδότερα του κυττάρου.

Πειραματικά *in vitro* δεδομένα συνηγορούν στο γεγονός ότι ο αποκλεισμός των AT<sub>1</sub>-υποδοχέων της ATII σε αγγεία ευρισκόμενα υπό τη διεγερτική επίδραση της ουσίας αυτής, οδήγησε σε αυξημένη παραγωγή του NO, ουσίας κατ' εξοχήν αγγειοδιασταλτικής, προφανώς λόγω της διέγερσης των AT<sub>2</sub>-υποδοχέων (30).



## Αγγειοκινητικές δράσεις της αγγειοτασίνης II

Οι ενέργειες της AT II είναι αγγειοσυσπαστικές και ασκούνται τόσο άμεσα όσο και έμμεσα. Παράλληλα, μέσω της αγγειοσύσπασης αυτής αλλά και μέσω του μηχανισμού της αλδοστερόνης, η AT II προάγει την αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Η ίδια ουσία δρα ως αυξητικός παράγοντας προάγοντας μακροπρόθεσμα την πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος (1,11,31).

Αποτέλεσμα της διέγερσης των υποδοχέων  $AT_1$ , οι οποίοι ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των λείων μυϊκών ινών είναι η σύσπαση αυτών και ο αγγειόσπασμος, η υπερτροφική ανάπτυξή τους και η μετανάστευσή τους. Οι ίδιοι υποδοχείς διεγείρομενοι προάγουν ακόμη την απελευθέρωση της αλδοστερόνης και της αντιδιουρητικής ορμόνης (ADH: Antidiuretic Hormone). Η AT II διεγείρει το συμπαθητικό νευρικό σύστημα κεντρικά και περιφερικά, προάγει τη σύνθεση εξωκυττάρων πρωτεϊνών στρώματος και αυξάνει τη σωληναριακή επαναπορρόφηση του νατρίου μέσω των ίδιων υποδοχέων.

Αναλυτικότερα, η AT II συσπά τα προτριχοειδή αρτηρίδια και σε μικρότερο βαθμό τα μετατριχοειδή φλεβίδια. Επίσης, η AT II ασκεί έμμεσα αγγειοδραστικές ενέργειες απελευθερώνοντας τη νοραδρεναλίνη από τις μεταγαγγλιακές ίνες του συμπαθητικού και εμποδίζοντας την επαναπρόσληψή της. Ακόμη, επιτείνει την αγγειακή απάντηση στη νοραδρεναλίνη. Παράλληλα διεγείρει και κεντρικά το συμπαθητικό τόσο δρώντας στον δικτυωτό πυρήνα του οπτικού θαλάμου (circumventricular nucleus) όσο και ελαττώνοντας την ευαισθησία των τασεοϋποδοχέων κατά τη ροή των κατεχολαμινών. Επίσης, αυξάνει την απελευθέρωση της αδρεναλίνης από τη μυελώδη μοίρα των επινεφριδίων διεγείροντας την αποπόλωση των χρωμιόφιλων κυττάρων. Παράλληλα, η AT II προάγει την απελευθέρωση της ενδοθηλίνης 1 που είναι και η ισχυρότερη αγγειοσυσπαστική ουσία. Η δράση της AT II δεν περιορίζεται μόνο στη μυελώδη μοίρα των επινεφριδίων, αλλά δρα διεγερτικά και στην αντίστοιχη φλοιώδη διεγείροντας την απελευθέρωση της αλδοστερόνης η οποία προάγει, με τη σειρά της, την κατακράτηση  $Na^+$  και ύδατος. Η ίδια ουσία προάγει και την απελευθέρωση της αντιδιουρητικής ορμόνης ADH από τον οπίσθιο λοβό της υπόφυσης. Η AT II διατηρεί την ομοιόσταση του νατρίου μέσω δύο μηχανισμών. Μεταβάλλει τη νεφρική ροή του αίματος ούτως ώστε να διατηρηθεί ένας σταθερός ρυθμός διήθησης και κατ' επέκταση της διηθούμενης ποσότητας νατρίου και διεγείρει τη μυελώδη ουσία των επινεφριδίων ώστε να απελευθερωθεί η αλδοστερόνη. Τέλος, η AT II έχει ιδιότητες αυξητικού παράγοντα και με την ιδιότητα αυτή προάγει την πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος.

Και ενώ οι ενέργειες αυτές της AT II ασκούνται μέσω των  $AT_1$ -υποδοχέων, η διέγερση των  $AT_2$ -υποδοχέων φαίνεται να έχει τα αντίθετα αποτελέσματα. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ενεργοποίηση των  $AT_2$ -υποδοχέων προκαλεί αγγειοδιαστολή, αναστέλλει την αύξηση των αγγειακών κυττάρων και προάγει την κυτταρική απόπτωση.

Το επταπεπτίδιο αγγειοτασίνη III (AT III) έχει επίσης ισχυρές αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες και προάγει την απελευθέρωση της αλδοστερόνης. Η AT (1-7), σε αντίθεση με την AT II και την AT III, δεν προκαλεί αγγειοσύσπαση, δεν απελευθερώνει κατεχολαμίνες και δεν απελευθερώνει την αλδοστερόνη. Απελευθερώνει, όμως, τη βαζοπρεσίνη και προσταγλανδίνες (1,8).

## Η αγγειοτασίνη II σε αγγειοκαρδιακές διαταραχές

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα υπό την επίδραση της διατημητικής τάσης που προκαλείται από την αιματική ροή παράγουν και απελευθερώνουν τοπικά τη βραδυκινίνη. Η ουσία αυτή ενεργοποιεί τους αντίστοιχους  $B_2$ -υποδοχείς στο ενδοθήλιο, με αποτέλεσμα την κινητοποίηση του μηχανισμού σύνθεσης του NO. Παράλληλα, το MEA που ευρίσκεται στο ενδοθήλιο αποδομεί τη βραδυκινίνη. Όταν υπάρχει καταχρηστική διέγερση του MEA ή μειονεκτεί η σύνθεση της βραδυκινίνης (ενδοθηλιακή δυσλειτουργία) αποκαλύπτεται η παρουσία και η υπερίσχυση άλλων μηχανισμών. Έτσι, το MEA προάγει τη σύνθεση της AT II η οποία, με τη σειρά της, διεγείρει τις οξειδάσες NADPH και NADH που προάγουν το σχηματισμό του υπεροξειδικού ανιόντος. Το τελευταίο αδρανοποιεί το NO και όχι μόνο στερεί το αγγειακό τοίχωμα από τις προστατευτικές του ενέργειες αλλά το μετατρέπει σε επικίνδυνη ρίζα με τα γνωστά επακόλουθα (32-34).

Κατά την αθηροσκλήρυνση υπάρχει ελαττωμένη απελευθέρωση του NO αλλά και ελαττωμένη δραστηριότητά του. Η τελευταία οφείλεται αφενός στην ελάττωση της διάχυσης του NO προς τον αγγειακό χιτώνα, αφετέρου στην αποδόμηση του τελευταίου από το υπεροξειδικό ανιόν που απελευθερώνεται από τα μακροφάγα και τα λοιπά φλεγμονώδη κύτταρα που συρρέουν στην περιοχή.

Η υπερχοληστερολαιμία (αυξημένη LDL) προκαλεί εμπλοτισμό με χοληστερόλη των κυτταρικών μεμβρανών των ενδοθηλιακών κυττάρων, των αιμοπεταλίων και των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Η οξείδωση των LDL δημιουργεί οξειδωτικά παράγωγα που εμποδίζουν την έκκριση της  $PGI_2$  (Prostacyclin: Προστακυκλίνη) και του NO από το ενδοθήλιο. Η αυξημένη μεμβρανική χοληστερόλη καθώς και τα αυξημένα κεκορεσμένα λιπαρά οξέα που είναι προϊόντα λιπόλυσης των VLDL ενισχύουν τη δράση των αντλιών ανταλλαγής ενδοκυττάρων  $H^+$  με εξωκυττάρια  $Na^+$ . Τα τελευταία ανταλλάσσονται με  $Ca^{2+}$ . Το αποτέλεσμα είναι τα αιμοπετάλια και οι λείες μυϊκές ίνες να αποκτούν αυξημένη αντιδραστικότητα απέναντι σε θρομβογόνα και αγγειοσυσπαστικά ερεθίσματα.

Οι βλαπτικοί παράγοντες επί του ενδοθηλίου είναι αφενός μηχανικοί, αφετέρου χημικοί. Μεταξύ των μηχανικών παραγόντων περιλαμβάνεται η υψηλή υδροστατική πίεση που παρουσιάζεται στην υπέρταση.

Η υψηλή υδροστατική πίεση και η μείωση της διατμητικής τάσης προκαλούν αποκλεισμό των διαύλων του  $K^+$  και κατ' επέκταση μείωση της εισόδου  $Ca^{2+}$  στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή των ανασταλτικών ουσιών, όπως είναι η  $PGI_2$  και το  $NO$ .

Η αιματογενής  $AT II$  που συνοδεύει μερικές μορφές αρτηριακής υπέρτασης και η ιστογενής τοιαύτη που υπερπαραγάγεται τοπικά, όταν εξασκείται στο αγγειακό τοίχωμα υψηλή πίεση, πέραν των αγγειοσυσπαστικών φαινομένων που προκαλούν, ενισχύουν τα φαινόμενα υπερπλασίας και μετανάστευσης των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος από τον μέσο στον έσω χιτώνα όπου μετατρέπονται σε λιποειδοβόρα μακροφάγα συμβάλλοντας στην ανάπτυξη της αθηρωμάτωσης.

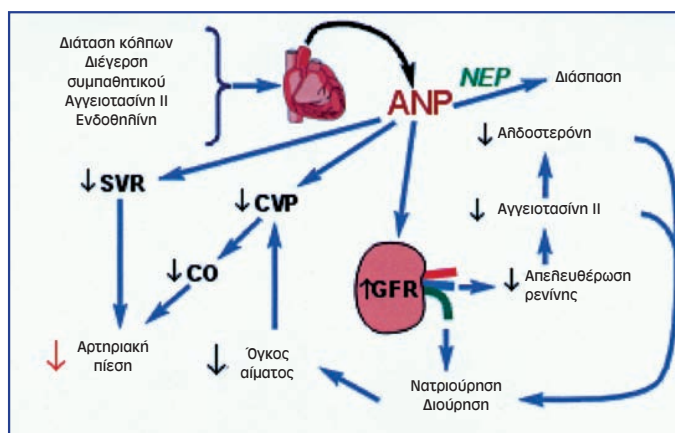
Κατά την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας παρατηρούνται παράλληλα στο αίμα αυξημένες ποσότητες  $AT II$ , αλδοστερόνης και αδρεναλίνης. Οι ουσίες αυτές προκαλούν δυσλειτουργία του ενδοθηλίου η οποία ακολουθείται από χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση που με τη σειρά της οδηγεί σε βαθύτερη ενδοθηλιακή βλάβη μέσα από τη δράση κυτταροκινών, όπως ο αποπτωτικός  $TNF-\alpha$  παράγοντας. Παράλληλα, είναι γνωστό ότι και οι υποδοχείς  $AT_2$  της αγγειοτασίνης έχουν ενοχοποιηθεί για αποπτωτικό ρόλο (35,36).

Σήμερα, όμως, είναι γνωστό ότι η κινητοποίηση των αποπτωτικών μηχανισμών δεν είναι έργο ενός μόνο υποδοχέα αλλά συνεργικής διεγερτικής δράσης των υποδοχέων  $AT_1$  και  $AT_2$ . Ο αποκλεισμός των υποδοχέων  $AT_1$  δεν οδηγεί σε απόπτωση μέσω της διέγερσης των υποδοχέων  $AT_2$ , όπως θα αναμενόταν.

### **Χαρακτηριστικά των νατριουρητικών πεπτιδίων**

Τα νατριουρητικά πεπτίδια έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση τόσο του κυκλοφορούντος όγκου αίματος όσο και του αγγειακού τόνου, και η παρουσία τους είναι ζωτικής σημασίας για την ομοιοστασία του καρδιαγγειακού συστήματος. Τόσο το κοιλιακό νατριουρητικό πεπτίδιο ( $ANP$ : Atrial Natriuretic Peptide) όσο και το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο ( $BNP$ : Brain Natriuretic Peptide) που απελευθερώνονται από τους κόλπους και τις κοιλίες της καρδιάς, αντίστοιχα, σε απάντηση της μηχανικής διάτασης των τοιχωμάτων συμπεριφέρονται ως ορμόνες και επηρεάζουν σημαντικές λειτουργίες. Οι επιδράσεις αυτές είναι περιφερειακές όπως η νατριούρηση, η αγγειοδιαστολή, η αναστολή της σύνθεσης της αλδοστερόνης και οι αντιμιτωτικές ιδιότητες, και κεντρικές, όπως η καταστολή της δίψας και η αναστολή της έκκρισης της βαζοπρεσσίνης. Επίσης έχουν δράσεις ενάντια στο συμπαθητικό νευρικό σύστημα που οδηγούν σε ελάττωση της αρτηριακής πίεσης (37).

Ένα τρίτο μέλος της οικογένειας αυτής που απαντά σε υψηλές συγκεντρώσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα και ιδιαίτερα στα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι



**Εικόνα 9.7: Κύκλος και δράσεις του ANP.** Καταγράφονται οι παράγοντες που απελευθερώνουν το ANP (Atrial Natriuretic Peptide:Κολπικό νατριουρητικό πεπτιδίο) καθώς και οι επιμέρους δράσεις του τελευταίου. Όπου NEP (Neutral Endopeptidase: Ουδέτερη ενδοπεπτιδάση), GFR (Glomerular Filtration Rate: Ρυθμός σπειραματικής διήθησης), CVP (Central Venous Pressure:Κεντρική φλεβική πίεση), CO (Cardiac Output: Όγκος παλμού), SVR (Systemic Vascular Resistance: Συστηματική αγγειακή αντίσταση).

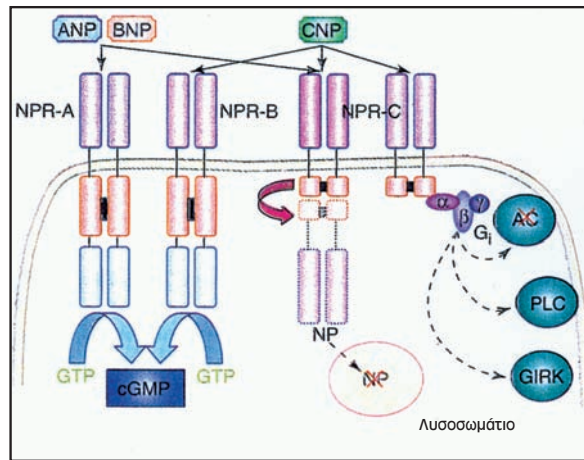
*Klabunde R.: Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin. Google-Internet,2005*

το C-τύπου νατριουρητικό πεπτιδίο (CNP:C-type Natriuretic Peptide). Το CNP αποτελεί έναν ισχυρό αγγειοδιασταλτικό παράγοντα τόσο για το αρτηριακό όσο και για το φλεβικό τοίχωμα, πλην όμως οι ενέργειές του στην απέκκριση του νατρίου και του ύδατος είναι ιδιαίτερα ασθενείς. Παράλληλα, το CNP φαίνεται να αποτελεί και έναν από τους υπερπολωτικούς παράγοντες του ενδοθηλίου που προκαλούν τη χάλαση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Η γονιδιακή έκφραση του CNP ενισχύεται από τον τροποποιητικό αυξητικό παράγοντα-α (TGF- α: Transforming Growth Factor-α), την ιντερλευκίνη-1β (IL-1β: Interleukin-1β), τον νεκρωτικό των όγκων παράγοντα-α (TNF-α: Tumor Necrosis Factor-α) και τις λιπολυσακχαρίδες, ενώ εξασθενεί από την οξειδωθείσα LDL (oxLDL), την ινσουλίνη και τον ενδοθηλιακό αγγειακό αυξητικό παράγοντα (VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor) (37).

## Υποδοχείς

Οι υποδοχείς των νατριουρητικών πεπτιδίων είναι πρωτεΐνες που διατιτραίνουν την κυτταρική μεμβράνη. Πρόκειται για επιμήκη πολυπεπτιδικά μορφώματα των οποίων το εξωκυττάριο πέρας συνδέεται με την ενδογενή ουσία, με αποτέλεσμα να ενεργοποιείται το ενδοκυττάριο πέρας που λειτουργεί ως ένζυμο. Διακρίνονται σε υποδοχείς NCR-A, NCR-B και NCR-C.

Σε πολλούς ιστούς, ο υποδοχέας NCR-C είναι ο πλέον πολυάριθμος από τα



**Εικόνα 9.8:** Σχηματική παράσταση των υποδοχέων των νατριουρητικών πεπτιδίων (NPR: Natriuretic Peptides Receptors) και των ενδοκυττάρων βιοχημικών δρόμων που αυτοί πυροδοτούν. Οι υποδοχείς NPR-A και NPR-B διεγείρουν το σύστημα της γουανυλοκυκλάσης το οποίο καταλύει τη μετατροπή της τριφωσφορικής γουανοσίνης (GTP:Guanine Triphosphate) σε κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP:cyclic Guanine Monophosphate). Το αποτέλεσμα είναι η χάλαση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Ο υποδοχέας CNPR του CNP συνδέεται με όλα τα νατριουρητικά πεπτίδια, τα περνά στο εσωτερικό των κυττάρων και τα οδηγεί στα λυσοσωμάτια, όπου και διασπώνται. Το CNP συνδέεται δυναμικά με μια υποομάδα των υποδοχέων CNPR. Αυτό οδηγεί είτε σε αδρανοποίηση του συστήματος της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylcyclase) είτε σε ενεργοποίηση του συστήματος της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C), καθώς επίσης και σε διάνοιξη των διαύλων του K<sup>+</sup> (GIRK: G-protein-gated Inwardly Rectifying K<sup>+</sup> channels). Όπου αβγ είναι το σύμπλοκο της G-πρωτεΐνης.  
*Trends Pharmacol. Sci. 26:162-167,2005*

τρία είδη υποδοχέων και συνδέεται με τα ANP, BNP και CNP με τον ίδιο βαθμό συγγένειας. Το μόριό του περιέχει στο ενδοκυττάριο τμήμα του μόνο 37 αμινοξέα και δεν έχει δραστηριότητα γουανυλοκυκλάσης (38).

Οι υποδοχείς NPR-A και NPR-B αποτελούνται από ένα εξωκυττάριο τμήμα που συνδέεται με τον προσδέτη και αποτελείται από περίπου 450 αμινοξέα, μια μεμβρανική υδρόφοβη περιοχή με 21 υπόλοιπα αμινοξέων και ένα ενδοκυττάριο τμήμα που αποτελείται από 566 έως 568 αμινοξέα. Το τελευταίο τμήμα συνίσταται από μια περιοχή απέναντι από την κυτταρική μεμβράνη που αποτελείται από περίπου 250 αμινοξέα και ονομάζεται KHD (Kinase Homology Domain: Τομέας ομόλογος κινάσης), μια συσπειρωμένη περιοχή σύνδεσης από 41 αμινοξέα και ένα C-πέρας που περιέχει 250 αμινοξέα και το οποίο αποτελεί τον καταλυτικό τομέα της γουανυλοκυκλάσης, η οποία ασκεί τη δράση της ρυθμίζοντας τη λειτουργία διαύλων ιόντων, πρωτεϊνικών κινάσων και φωσφοδιεστερασών (38).

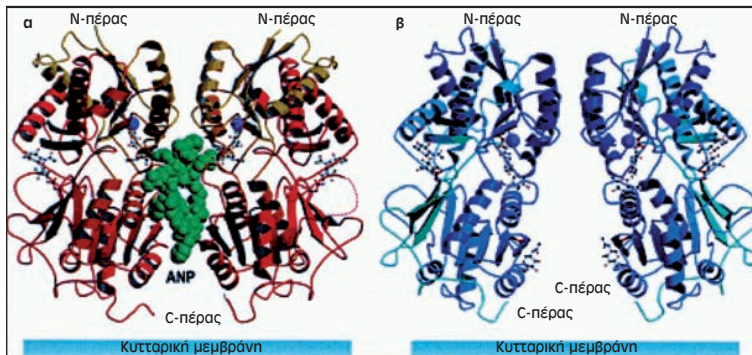
Όταν υπάρχει απουσία προσδέτη, ο υποδοχέας NPR-A υφίσταται ως ομοι-

οδιμερές ή ομοιοτετραμερές. Ο διμερισμός οφείλεται στη σύνδεση των περάτων των εξωκυττάρων τμημάτων. Τα σημεία της ενδοκυττάριας σύνδεσης αντιστοιχούν στην περιοχή που χωρίζει το τμήμα KHD από τον καταλυτικό τομέα της γουανυλοκυκλάσης, αλλά αφισβητούνται από πολλούς οι οποίοι πιστεύουν ότι αποτελούν μόνο κρυσταλλογραφικό εύρημα (38,39).

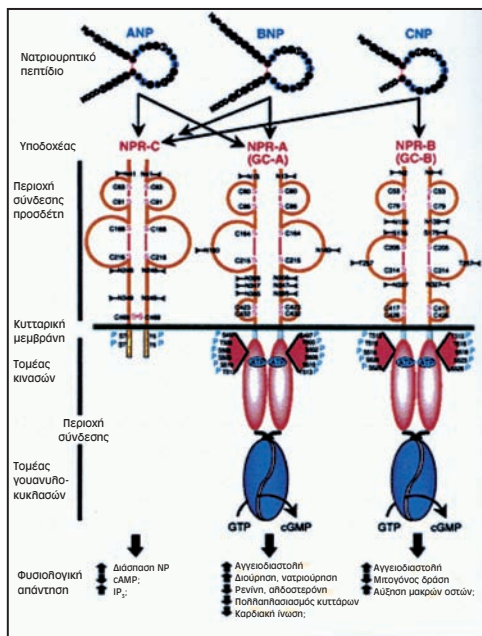
### **Μηχανισμοί ενεργοποίησης και απενεργοποίησης του υποδοχέα NCR-A**

Η σύνδεση του προσδέτη με τον υποδοχέα προκαλεί το μετασχηματισμό της εξωκυττάριας περιοχής που βλέπει προς την κυτταρική μεμβράνη. Το διμερές υφίσταται μια ενδομοριακή συστροφή η οποία προκαλεί τη μετατόπιση δίκην περιστροφής τροχού των εξωκυττάρων τμημάτων που είναι απέναντι από την κυτταρική μεμβράνη, ενώ επηρεάζει ελάχιστα το ενδοκυττάριο τμήμα των υποδοχέων. Για τη σωστή πτύχωση και τη στόχευση του υποδοχέα χρειάζεται η γλυκοζυλίωσή του, όχι όμως και για τη σύνδεση με τον προσδέτη. Για την παραγωγή του σήματος μετά την ενεργοποίηση από τον προσδέτη είναι απαραίτητη η φωσφορυλίωση του υποδοχέα σε ορισμένες θέσεις. Δεν είναι, όμως, γνωστό πως μεταδίδεται το σήμα αυτό. Πιστεύεται ότι η σύνδεση με τον προσδέτη διευκολύνει τη σύνδεση της ATP με το τμήμα KHD, το οποίο στη συνέχεια μετασχηματίζεται και διευκολύνει, με τη σειρά του, μια σειρά μηχανισμών. Μεταξύ αυτών αίρεται η ανασταλτική δράση του τμήματος KHD στον καταλυτικό τομέα της γουανυλοκυκλάσης, ελαττώνεται η συγγένεια του εξωκυττάριας τμήματος του υποδοχέα για το ANP, εκτίθενται φωσφορυλιωμένα τμήματα του τμήματος KHD στη δράση μιας φωσφατάσης και το συνδεδεμένο με ATP τμήμα KHD εξασθενεί ως υπόστρωμα της κινάσης του υποδοχέα NCR-A. Αυτό καταλήγει σε αποφωσφορυλίωση του υποδοχέα και σε αδρανοποίησή του. Πιστεύεται ότι οι μηχανισμοί ενεργοποίησης των υποδοχέων NCR-A και NCR-B δεν διαφέρουν μεταξύ τους (38,39).

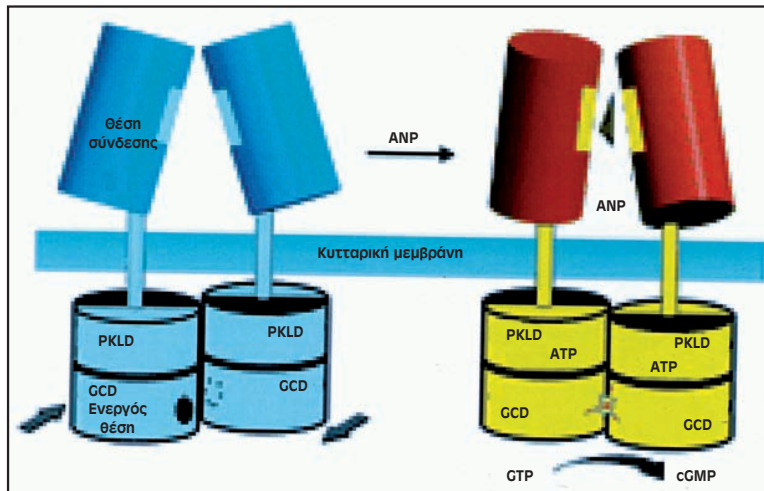
Η διέγερση του ANP-υποδοχέα έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ενζυμικού κυτταροπλασματικού άκρου που είναι το σύστημα της μεμβρανικής γουανυλοκυκλάσης (GC: Guanylyl cyclase). Ακολουθεί η διάσπαση της GTP προς κυκλική μονοφωσφορική γουανίνη (cGMP: cyclic Guanine Monophosphate) Το κυκλικό αυτό νουκλεοτίδιο κινητοποιεί και τη βιολογική απάντηση των κυττάρων. Μεταξύ άλλων, προάγει την ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάριας  $Ca^{2+}$  με αποτέλεσμα τη μυϊκή χάλαση. Ακολουθεί η πυροδότηση πολλών βιοχημικών οδών όπως εκείνης όπου μέσω της φωσφορυλίωσης πρωτεϊνών φορέων επιτυγχάνεται η είσοδος της γλυκόζης στο κύτταρο και εκ του μεταβολισμού αυτής η προμήθεια των απαραίτητων φωσφορικών ριζών. Παράλληλα, μέσω άλλης οδού προωθούνται ανασταλτικά μηνύματα που έχουν σχέση με την έκ-



Εικόνα 9.9: Κρυσταλλική δομή του υποδοχέα του ANP. (Αριστερά) Το ομοιοδιμερές του υποδοχέα συνδεδεμένο με το ANP (πράσινο). Παρατηρείται μετασχηματισμός των δομών του υποδοχέα σε σχέση (δεξιά) με την εικόνα που παρουσιάζει όταν είναι ελεύθερος. *J. Biol. Chem.* 279,2004



Εικόνα 9.10: Υποδοχείς των νατριουρητικών πεπτιδίων και ενέργειες που εκπορεύονται από αυτούς. *J. Biol. Chem.* 276,2001



Εικόνα 9.11: Προτεινόμενος μηχανισμός συστολής των εξωκυττάρων τμημάτων του διμερούς του υποδοχέα του ANP. Το σχήμα αυτό παρουσιάζει τις μεταβολές λόγω συστολής των εξωκυττάρων τμημάτων του διμερούς του υποδοχέα του ANP, όταν συνδέεται με τον προσδέτη αγωνιστή. Όπου PKLD (Protein Kinase Like Domain: Τομέας δίκην πρωτεϊνικής κινάσης) *J.Biol. Chem.*, 2004

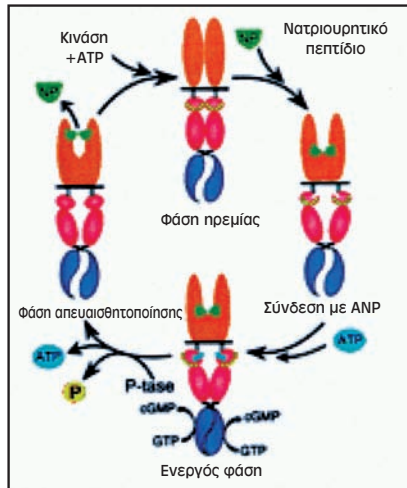
φραση πρωτοογκογονιδίων και με την υπερτροφία του αγγειακού τοιχώματος (37).

Το ANP διαστέλλει τα προσαγωγά αρτηρίδια στο νεφρικό σπείραμα και συσπά τα αντίστοιχα απαγωγά, ενώ παράλληλα χαλαρώνει τα κύτταρα του βωμανείου ελύτρου. Οι μηχανισμοί αυτοί οδηγούν σε αυξημένη διήθηση και κατ' επέκταση σε αυξημένη αποβολή ύδατος και νατρίου. Παράλληλα, το ANP ελαττώνει την επαναρόφηση του νατρίου από τα άπω εσπειραμένα σωληνάρια και τα αντίστοιχα αθροιστικά (40).

Ο κυριότερος ρόλος του υποδοχέα του CNP (CNPR: CNP Receptor) συνίσταται στο να δρα ως υποδοχέας αποκομιδής των νατριοδιουρητικών πεπτιδίων και να ρυθμίζει τη συγκέντρωσή τους στο πλάσμα. Αυτό επιτυγχάνεται με το να ενώνεται με τα πεπτιδία αυτά, να τα περνά στο εσωτερικό των κυττάρων και να τα οδηγεί στα λυσοσωμάτια, όπου και διασπώνται (37).

Οι δραστηριότητες των υποδοχέων NCR-A και NCR-B ελαττώνονται όταν διεγείρονται από τα νατριουρητικά πεπτιδία ή από άλλους προσδέτες. Στην πρώτη περίπτωση ομιλούμε για ομόλογη απευαισθητοποίηση και στη δεύτερη για ετερόλογη απευαισθητοποίηση. Η απευαισθητοποίηση αυτή γίνεται με αποφωσφορυλίωση, σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με τους υποδοχείς GPCRs όπου η απευαισθητοποίηση αυτή γίνεται με φωσφορυλίωση. Βασικό ρόλο στην απευαισθητοποίηση αυτή φαίνεται να έχει η PKC. Δεν είναι γνωστό αν η PKC





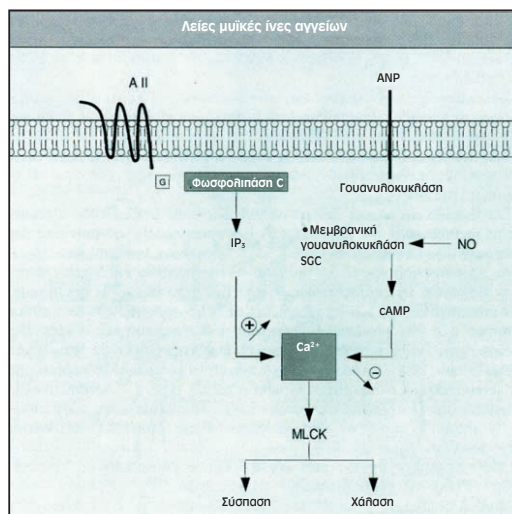
Εικόνα 9.12: Φάσεις ενεργοποίησης και απενεργοποίησης του διμερούς του υποδοχέα των νατριουρητικών πεπτιδίων. Υπάρχει μια κυκλική πορεία ενεργοποίησης και αδρανοποίησης που πραγματοποιείται με την ενδοκυττάρωση και φωσφορυλίωση.  
*J. Biol. Chem.* 276,2001

ενεργοποιεί κάποια φωσφατάση που είναι υπεύθυνη για την αποφωσφορύλιωση ή απενεργοποιεί μια πρωτεϊνική κινάση που είναι υπεύθυνη για τη φωσφορύλιωση. Για να δράσει η PKC χρειάζεται να διεγερθεί· μεταξύ των παραγόντων που την διεγείρουν είναι η αγγειοτασίνη II και η ενδοθηλίνη. Οι μηχανισμοί αυτοί εμφανίζουν ένα ακόμη σημείο ανταγωνισμού μεταξύ του άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης και των νατριουρητικών πεπτιδίων (38).

Υπάρχουν, όμως, διαφορές μηχανισμών μεταξύ ομόλογων και ετερόλογων απευαισθητοποιήσεων. Η ομόλογη απαιτεί τη σύνδεση του νατριουρητικού πεπτιδίου με τον υποδοχέα, δεν χρειάζεται απαραίτητα τη δράση της PKC και απαιτεί πλήρη αποφωσφορύλιωση του υποδοχέα. Αντίθετα, η ετερόλογη απευαισθητοποίηση απαιτεί πλήρη αποφωσφορύλιωση του υποδοχέα, δεν χρειάζεται τη σύνδεση του νατριουρητικού πεπτιδίου με τον υποδοχέα, ενώ χρειάζεται απαραίτητα τη δράση της PKC (38).

### Σχέσεις αγγειοτασίνης II και νατριουρητικών πεπτιδίων

Το ANP δρα ανασταλτικά στην απελευθέρωση της ρενίνης που είναι απαραίτητη για την τελική σύνθεση της αγγειοτασίνης II. Επίσης, οι  $\beta_1$ -αδρενεργικοί αποκλειστές που αυξάνουν τις συγκεντρώσεις αίματος του ANP με μηχανισμό μάλλον αυξημένης απελευθέρωσης, είναι γνωστό ότι δρουν ανασταλτικά στην απελευθέρωση της ρενίνης, διότι αποκλείουν τους  $\beta_1$ -αδρενεργικούς υποδοχείς στα κύτταρα της παρασπειραματικής συσκευής (8).



**Εικόνα 9.13: Σύγκριση των ενεργειών της αγγειοτασίνης II, του ANP και του NO στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων.** Η διέγερση του συστήματος της PLC (Phospholipase C:Φωσφολιπάση C) προάγει τη σύνθεση της IP<sub>3</sub> (Inositol Triphosphate: Τριφωσφορική ινοσιτόλη) η οποία απελευθερώνει ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup>, με αποτέλεσμα να κινητοποιείται ο μηχανισμός μυϊκής σύσπασης. Η διέγερση των υποδοχέων του ANP (Atrial Natriuretic Peptide: Κολλπικό νατριουρητικό πεπτίδιο) ενεργοποιεί το σύστημα της γουανυλοκυκλάσης (μεμβρανική γουανυλοκυκλάση) στο ενδοκυττάριο άκρο του υποδοχέα, με αποτέλεσμα τη σύνθεση της cGMP (cyclic Guanine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη). Το αποτέλεσμα είναι η χάλαση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Με τον ίδιο μηχανισμό προκαλεί χάλαση το οξειδίο του αζώτου (NO) διεγείροντας τη sGC (soluble Guanylcyclase: διαλυτή γουανυλοκυκλάση). Όπου MLCK (Myosin Light Chain Kinase:Ελαφρά άλυσος της μυοσίνης).

*JB. Michel et al. Médecine cardiovasculaire du système rénine-angiotensine, 1992*

Κλινικές μελέτες σε υπερτασικούς ασθενείς έχουν δείξει ότι διάφορες κατηγορίες αντιυπερτασικών φαρμάκων, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται οι αναστολείς του ΜΕΑ και οι αποκλειστές των υποδοχέων ΑΤ<sub>1</sub> της αγγειοτασίνης II, αυξάνουν τα επίπεδα του ANP, μολονότι οι διαστάσεις των αριστερών καρδιακών κοιλοτήτων παραμένουν σταθερές ή μικραίνουν και η αρτηριακή πίεση ελαττώνεται. Πιθανολογούνται διάφοροι μηχανισμοί κατά περίπτωση, όπως η αυξημένη απελευθέρωση ή ο μειωμένος καταβολισμός (41,42).

Παράλληλα, υπάρχει ένας ανταγωνισμός μεταξύ της ΑΤII και του ANP όσον αφορά την απέκκριση του νατρίου, παράγοντα ιδιαίτερα σημαντικού για τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης.

Τόσο το ΜΕΑ όσο και η ουδέτερη ενδοπεπτιδάση ( NEP: Neutral Endopeptidase) καταλύουν αντιδράσεις που συνθέτουν ή αδρανοποιούν πεπτίδια τα οποία συμμετέχουν στη ρύθμιση των λειτουργιών του καρδιαγγειακού συστήματος και των νεφρών. Κοινός κρίκος μεταξύ των δύο αυτών ενζύμων φαίνεται να είναι η βραδυκίνη. Η ουσία αυτή, η οποία αδρανοποιείται από το ΜΕΑ και

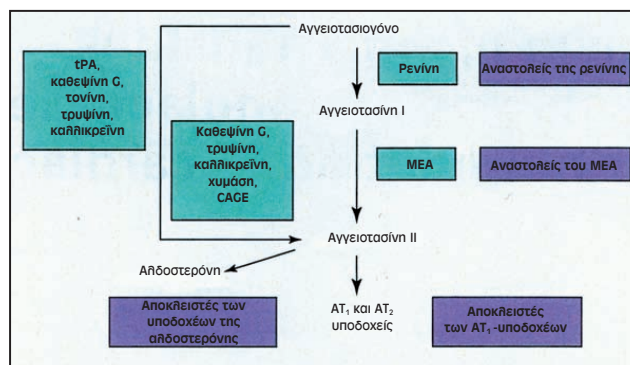
τη NEP, διεγείρει μέσω των  $B_2$  υποδοχέων την αυξημένη απελευθέρωση των αγγειοδιασταλτικών NO, της προστακυκλίνης ( $PGI_2$ ) και της προσταγλανδίνης  $E_2$  ( $PGE_2$ ). Η διέγερση των A και B υποδοχέων των νατριουρητικών πεπτιδίων οδηγεί στην ενδοκυττάρια αύξηση της cGMP. Το ίδιο προκαλεί και το συντιθέμενο από τη βραδυκινίνη NO. Ως εκ τούτου, υπάρχει ένα κοινό τελικό μόριο που μεσολαβεί στη βιοχημική μετάδοση σημάτων που καταλήγουν σε αγγειοδιαστολή, νατριούρηση και αντιμιτωτική δράση (43).

### Φαρμακολογικές εφαρμογές και προοπτικές

Από μακρού χρόνου χρησιμοποιούνται κατά την αντιυπερτασική αγωγή φάρμακα τα οποία αναστέλλουν τη δράση του MEA, και τα οποία χάριν συντομίας αποκαλούνται ΑΜΕΑ (Αναστολείς του MEA). Τα βιβλιογραφικά δεδομένα συνηγορούν υπέρ της άποψης ότι η ευεργετική επίδραση των αναστολέων του MEA στην αντιμετώπιση της υπέρτασης και στην αρνητική εξέλιξη των αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων οφείλονται περισσότερο σε τοπική αναστολή του ενζύμου αυτού. Σε αυτό συμβάλλει, η βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου λόγω τοπικής αύξησης της βραδυκινίνης και της συνεπαγόμενης βελτίωσης της παραγωγής NO, ενώ η αναστολή της δραστηριότητας του MEA στα μακροφάγα που ευρίσκονται στην αθηρωματική πλάκα δρα ανασταλτικά στη ρήξη της τελευταίας. Η αναστολή της λειτουργίας του ενζύμου αυτού θα πρέπει, εκτός των άλλων αποτελεσμάτων, να δρά, με βάση τα όσα ήδη αναλύθηκαν, και ανασταλτικά στην υπερπλασία του αγγειακού τοιχώματος. Το αποτέλεσμα είναι ασφαλώς συνάρτηση του βαθμού διεισδυτικότητας των φαρμάκων αυτών στους ιστούς, του βαθμού σύνδεσης και αποσύνδεσής τους με το ιστικό MEA αλλά και του βαθμού συνεισφοράς των άλλων βιοχημικών οδών στην τοπική παραγωγή αγγειοτασίνης II (24,44-48).

Φάρμακα όπως η καπτοπρίλη, η βενζεπρίλη, η εναλαπρίλη, η λισινοπρίλη, η κιναιπρίλη και η ραμιπρίλη ανήκουν στην κατηγορία αυτή.

Αν και τα φάρμακα αυτά δρουν ανασταλτικά στο MEA, είναι ωστόσο γνωστό ότι μερικοί ιστοί μπορούν να συνθέτουν αγγειοτασίνη II με μηχανισμούς ανεξάρτητους από την επίδραση του MEA. Η λόγω σωματοψυχικής υπερέντασης κινητοποίηση κατεχολαμινών, η διάταση του αγγείου, ο στροβιλισμός του αίματος είναι ερεθίσματα που ενεργοποιούν την ιστική μορφή παραγωγής της ΑΤ II. Οι ιστοί διαθέτουν πρωτεάσες διάφορες της ρενίνης που μπορούν να μετατρέψουν το αγγειοτασινογόνο σε αγγειοτασίνη I ή σε ένζυμο όπως η καθεψίνη και η τονίνη που το μετατρέπουν απ' ευθείας σε αγγειοτασίνη II. Υπάρχουν επίσης, ένζυμο όπως οι χυμάσες στον καρδιακό ιστό, η καθεψίνη G, καθώς και ένα ένζυμο ευαίσθητο στη χυμοστατίνη σε διάφορους ιστούς, που συνθέτουν αγγειοτασίνη II με μηχανισμούς που δεν έχουν σχέση με το MEA



**Εικόνα 9.14: Βιοχημική οδός σύνθεσης της αγγειοτασίνης II και φάρμακα.** Στο σχεδιάγραμμα αυτό παρουσιάζονται τα σημεία φαρμακολογικών παρεμβάσεων στα διάφορα στάδια σύνθεσης της αγγειοτασίνης II.

*Trends Pharmacological Sci.:26,2005*

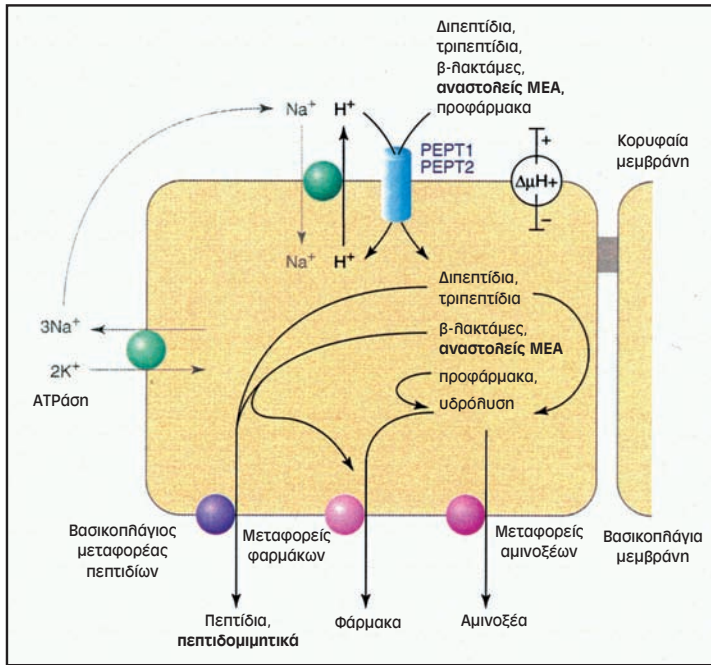
(24,49,50).

Ως εκ τούτου, μειονέκτημα για τις ουσίες αυτές σε μοριακό επίπεδο είναι ότι δεν μπορούν να επηρεάσουν τη σύνθεση της αγγειοτασίνης II από άλλες βιοχημικές οδούς που δρουν ανεξάρτητα από το MEA και των οποίων ο βαθμός συμβολής δεν είναι γνωστός σε περίπτωση αποκλεισμού του ενζύμου αυτού. Μειονέκτημα, επίσης, για τις ουσίες αυτές σε κλινικό επίπεδο είναι η εμφάνιση ενοχλητικού βήχα σε μικρό ποσοστό των ασθενών που αποδίδεται σε υπερευαίσθησία του βρογχικού δένδρου απέναντι στην τοπικά αυξημένη βραδυκινίνη, όταν υπάρχουν γενετικά προσδιορισμένοι υπερευαίσθητοι τοπικοί υποδοχείς.

Η δομή των δύο σωματικών MEA δεν είναι γνωστή. Μέχρι σήμερα, η σύνθεση των αναστολέων του MEA γινόταν με βάση το μόριο άλλων καρβοξυπεπτιδασών. Μετά την πρόσφατη επίτευξη της μελέτης του ανθρώπινου ορχικού MEA, και με βάση αυτό, φαίνεται να ανοίγει ο δρόμος για τη σύνθεση πλέον εκλεκτικών αποκλειστών του ενζύμου αυτού. Το MEA αυτό διαθέτει έναν βαθύ διάυλο στο βάθος του οποίου ευρίσκεται η ενεργός περιοχή. Επίσης, μελετήθηκε στο MEA αυτό ο μηχανισμός και τα σημεία σύνδεσης των αναστολέων όπως η λισινοπρίλη (11,13).

Τα πολλαπλά ισόμορφα που παρουσιάζει το MEA καθώς και η ύπαρξη παραπλήσιων του MEA ενζύμων όπως το ACEH και το NEP ανοίγουν νέους ορίζοντες στη φαρμακολογική έρευνα για την ανάπτυξη αντιυπερτασικών φαρμάκων. Συνδυασμένες μορφές αναστολέων των αγγειοπεπτιδασών που θα καλύπτουν ένα ευρύτερο φάσμα των ενζύμων αυτών προφανώς θα έχουν καλύτερη φαρμακολογική συμπεριφορά από τους απλούς αναστολείς του MEA (12,13).

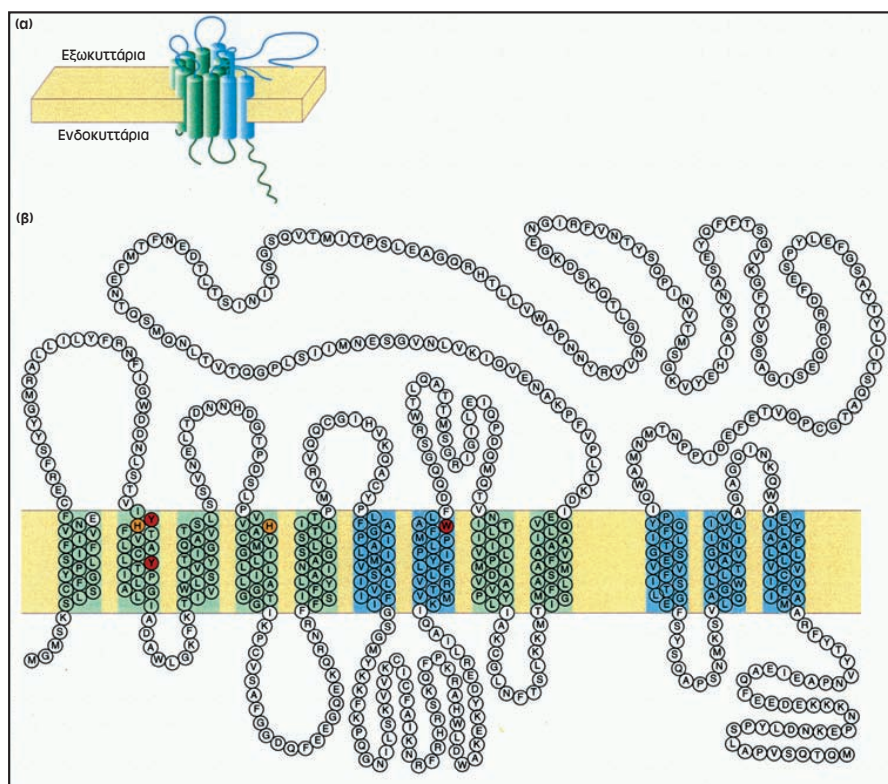
Πράγματι, οι αναστολείς των αγγειοπεπτιδασών (VPIs: Vasopeptidase



**Εικόνα 9.15: Πρόσληψη αναστολέων του ΜΕΑ από τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και του νεφρού.** Η καπτοπρίλη και η εναλαπρίλη προσλαμβάνονται από τα επιθηλιακά κύτταρα μέσω των πεπτιδικών μεταφορέων PEPT1 (Peptide Transporter 1) και εξέρχονται από το κύτταρο προς την αιματική κυκλοφορία μέσω μιας πρωτεΐνης μεταφορέα αγνώστου, μέχρι σήμερα, ταυτότητας. Οι ίδιοι μηχανισμοί ισχύουν και για άλλα διπεπτιδικά, τριπεπτιδικά και πεπτιδομιμητικά φάρμακα. *Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*

Inhibitors) που έχουν μέχρι σήμερα συντεθεί δρουν ανασταλτικά τόσο στο επίπεδο του ΜΕΑ όσο και στο επίπεδο της νεπριλυσίνης (NEP: Neutral Endopeptidase). Με τους μηχανισμούς αυτούς αναστέλλουν τη δραστηριότητα του άξονα ρενίνη-αγγειοτασίνη-αλδοστερόνη και ενδυναμώνουν την αγγειοδιασταλτική, νατριουρητική και αντιμυϊτική δράση της βραδυκινίνης και των νατριουρητικών πεπτιδίων. Ουσίες όπως η φασιδοτρίλη και η αλατριοπρίλη καθώς και νέοι ανταγωνιστές της κατηγορίας αυτής ευρίσκονται σε φάσεις έρευνας (8,48).

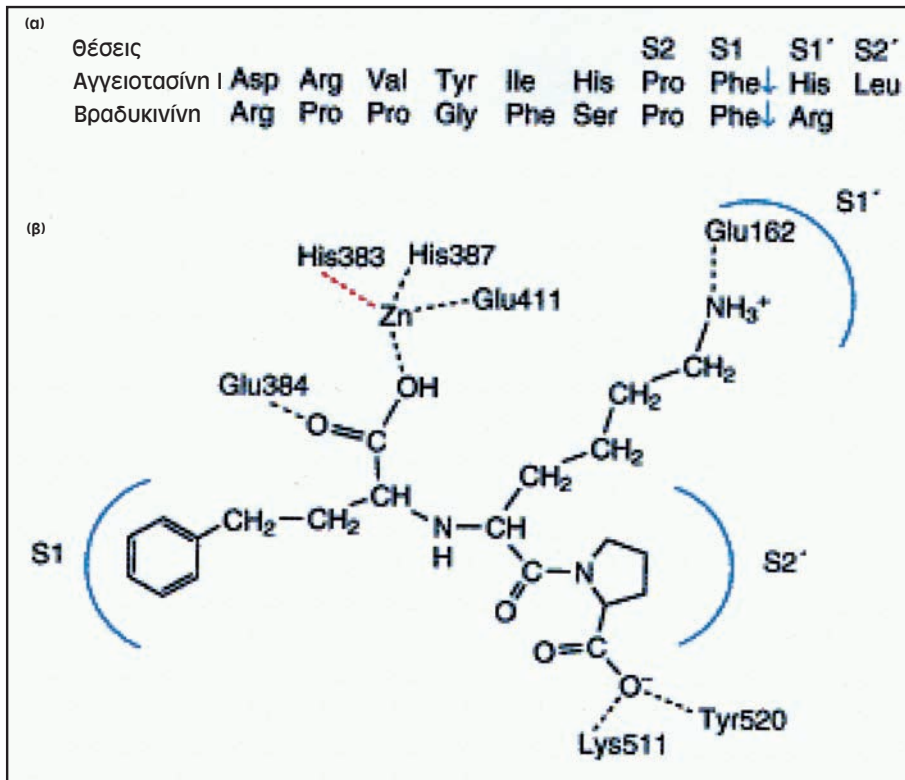
Ένας άλλος στόχος που επιτεύχθηκε εδώ και δέκα χρόνια είναι η σύνθεση αποκλειστών των υποδοχέων της αγγειοτασίνης II. Φάρμακα



**Εικόνα 9.16:** Προτεινόμενη δομή του μορίου της PEPT-1 που είναι υπεύθυνο για την πρόσληψη από το έντερο και επαναπρόσληψη από τους νεφρούς των φαρμάκων αναστολέων του MEA. Ο πεπτιδικός μεταφορέας PEPT1 (Peptide Transporter 1) αποτελείται από μια αλυσίδα αμινοξέων με 12 διαμεμβρανικά τμήματα, ένα N-πέρας και ένα C-πέρας, που και τα δύο είναι ενδοκυττάρια. Τα διαμεμβρανικά τμήματα (πράσινα) αποτελούν μέρος του τομέα σύνδεσης με το υπόστρωμα. Τα υπόλοιπα της ιστιδίνης (κίτρινα) έχουν βασικό ρόλο στη σύνδεση με τα πρωτόνια και την αναγνώριση του υποστρώματος. Τα υπόλοιπα αμινοξέων (κόκκινα) έχουν ρυθμιστικό ρόλο.  
*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*

όπως η λοσαρτάνη, η ιρβεσαρτάνη, η βαλσαρτάνη, η καντεσαρτάνη και η τελμισαρτάνη δρουν ως αντιυπερτασικά αποκλείοντας τους  $AT_1$  - υποδοχείς.

Τα περισσότερα παράγωγα που χρησιμοποιούνται σήμερα στην κλινική πράξη είναι αποκλειστές των υποδοχέων  $AT_1$ . Τα φάρμακα αυτά δρουν ανταγωνιζόμενα όλες τις φαρμακολογικές ενέργειες που πηγάζουν από τον υποδοχέα αυτό και στις οποίες έχει γίνει ήδη αναφορά. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται όλες οι ενέργειες που οδηγούν στην υπέρταση και την υπερπλασία του αγγειακού τοιχώματος. Η χρόνια χορήγηση σε πειραματόζωα των αποκλειστών των υποδοχέων  $AT_1$  είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση τόσο της πρωτεΐνης Βαχ που προάγει την απόπτωση όσο και της σύνθεσης του κολλαγόνου τύπου I που



Εικόνα 9.17: Μοριακή αναγνώριση των υποστρωμάτων από το γοναδικό ή ορχικό ανθρώπινο MEA. (α) Τα σημεία αποκοπής των μορίων της αγγειοτασίνης I και της βραδυκινίνης επισημαίνονται με κάθετα βέλη (μπλε). (β) Παρουσιάζονται τα σημεία σύνδεσης του αναστολέα λυσινοπρίλη με τις ενεργούς θέσεις του MEA. Επισημαίνονται τα σημεία αλληλεπιδράσεων μεταξύ ομάδων του ενζύμου και του φαρμάκου αναστολέα (διακεκομμένες γραμμές), καθώς επίσης και οι θέσεις αλληλεπίδρασης με τα μόρια της αγγειοτασίνης I και της βραδυκινίνης (μπλε τόξα).

*Trends Pharmacol. Sci* 24, 2003

προάγει την ίνωση. Τα ευρήματα αυτά διαπιστώθηκαν σε καρδιακό ιστό, αλλά είναι ενδεικτικά του τι μπορεί να συμβαίνει και σε άλλους ιστούς όπως είναι εκείνοι του αγγειακού τοιχώματος. Πρόσφατα διαπιστώθηκε σε καλλιέργειες λείων μυϊκών ινών από το αγγειακό τοίχωμα της πνευμονικής αρτηρίας του ανθρώπου ότι ο αποκλεισμός των  $AT_1$ -υποδοχέων οδηγεί σε ελαττωμένη σύνθεση γλυκοζαμινογλυκανών, των οποίων η σύνθεση έχει ήδη διεγερθεί από την αγγειοτασίνη II. Παράλληλα, κατά την επώαση ιστοτεμαχίων αορτής βοός με ακέραιο ενδοθήλιο και υπό την επίδραση της αγγειοτασίνης II, διαπιστώθηκε ιδιαίτερα αυξημένη παραγωγή NO (24,30,50-52).

Στη κλινική πράξη, όλες οι ενδείξεις στηρίζουν την άποψη ότι οι αποκλει-

στές των υποδοχέων  $AT_1$  και οι αναστολείς του ΜΕΑ έχουν την ίδια αντιυπερτασική ενέργεια. Με τη χορήγηση των αποκλειστών των  $AT_1$ -υποδοχέων αποφεύγεται ο βήχας που αποτελεί και την ανεπιθύμητη ενέργεια των αναστολέων του ΜΕΑ.

Ιδιαίτερης προσοχής πρέπει να τύχει ο ρόλος τόσο των ΑΜΕΑ όσο και των αποκλειστών των  $AT_1$  υποδοχέων στην προστασία της σπειραματικής λειτουργίας (νεφροπροστασία) τόσο επί αρτηριακής υπέρτασης όσο και επί υποκλινικού ή κλινικά έκδηλου σακχαρώδους διαβήτη, ιδιαίτερα τύπου 2, πολλώ δε μάλλον επί του συνηθέστατου συνδυασμού των δύο καταστάσεων. Με την ιδιότητά τους να διαστέλλουν το απαγωγό αρτηρίδιο, αμφότερες οι φαρμακευτικές ομάδες μειώνουν τη σπειραματική πίεση η οποία είναι βλαπτική για το σπείραμα και της οποίας οι επιπτώσεις εκτιμώνται από την ποσότητα της μικρο ή, ακόμη χειρότερα, της μακρολευκωματουρίας (53-63).

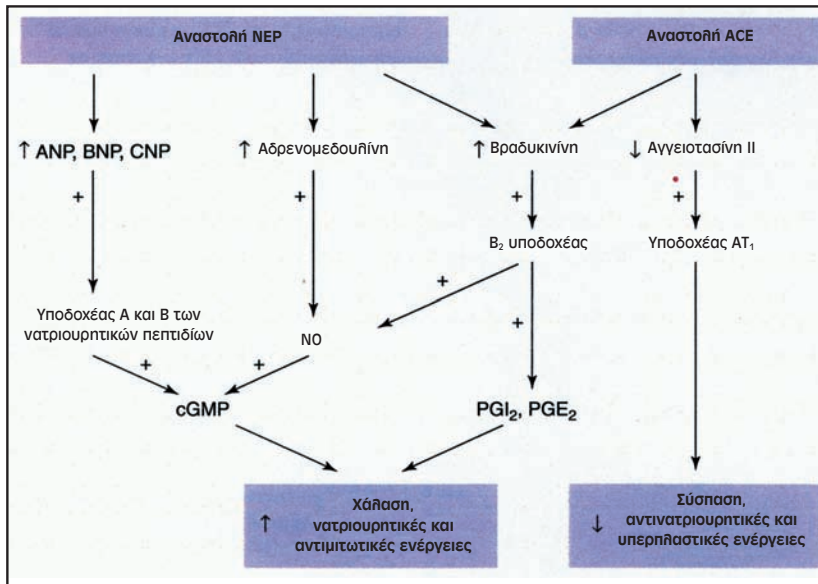
Επί σακχαρώδους διαβήτη υπάρχει, επιπρόσθετα, παθολογική εκλεκτική χάλαση του προσαγωγού αρτηριδίου, η οποία ευθύνεται για ενδοσπειραματική υπέρταση ακόμη και όταν δεν υπάρχει συστηματική υπέρταση. Τούτο οφείλεται στη διαταραχή της νεφρικής αυτορρύθμισης της κυκλοφορίας, κατά την οποία ο τόνος του προσαγωγού αρτηριδίου αυξάνεται με την αύξηση της πίεσης του αίματος και της άρδευσης, προκειμένου να προστατεύσει το σπείραμα από καταχρηστική άρδευση και υπέρταση.

Η λευκωματουρία προκαλεί μεσαγγειακές βλάβες λόγω άθροισης πρωτεΐνης. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε καταχρηστική σύνθεση θεμέλιας ουσίας και πολλαπλασιασμό των μεσαγγειακών κυττάρων, καθώς και σε ενδοθηλιακές βλάβες. Όλα αυτά, σε συνδυασμό με την ενδοθηλιακή βλάβη που οφείλεται στην υπέρταση του σπείραματος και την απελευθέρωση χυμικών παραγόντων, οδηγούν σε θρομβώσεις, αποφράξεις τριχοειδών, ίνωση και ρίκνωση του μαλπιγγειανού σωματίου (60,64,65).

Ο ρόλος της αγγειοτασίνης δεν συνίσταται μόνο στη μέσω της εκλεκτικής σύσπασης του απαγωγού αρτηριδίου ενδοσπειραματική υπέρταση, αλλά και στην παραγωγή κυτταροκινών, εν πολλοίς ομοίων με εκείνες που παράγονται κατά την υπεργλυκαιμία, και οι οποίες δια συνισταμένης δράσης δημιουργούν ποικίλες αγγειακές βλάβες. Αυτές χαρακτηρίζουν όχι μόνο τη σπειραματοπάθεια αλλά και την ευρύτερη παθολογία των αγγείων, με αποτέλεσμα η χαρακτηριστική λευκωματινουρία να αποτελεί προάγγελο ευρύτερης καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας που περιλαμβάνει και τα οξέα καρδιακά ισχαιμικά επεισόδια (66-69).

Για τη θεραπεία των παραπάνω καταστάσεων έχει αποδειχθεί η ικανότητα αμφοτέρων των προαναφερθεισών φαρμακολογικών ομάδων, των οποίων η χρήση περιλαμβάνει την εν λόγω ένδειξη. Τελευταία, μάλιστα, διερευνάται το κατά πόσον ο συνδυασμός τους, προκαλώντας πληρέστερη εξάλειψη της δρά-





**Εικόνα 9.18:** Φυσιολογικές συνέπειες από την αναστολή του MEA και της ουδέτερης ενδοπεπτιδάσης (NEP:Neutral Endopeptidase). Η αναστολή του MEA ελαττώνει τη σύνθεση της αγγειοτασίνης II (ATII) και περιορίζει τις αγγειοσυσπαστικές, αντινατριουρητικές και μιτωτικές ενέργειες της ουσίας αυτής που κινητοποιούνται από τους  $AT_1$ -υποδοχείς. Ο αποκλεισμός της NEP προστατεύει τα νατριουρητικά πεπτιδία ANP (Atrial Natriuretic Peptide), BNP (Brain Natriuretic Peptide), c-τύπου νατριουρητικό πεπτιδίο (c-type Natriuretic Peptide) και αδρενομεδουλίνη. Με τον τρόπο αυτό αυξάνεται η σύνθεση της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP) μέσω της διέγερσης των A και B υποδοχέων των πεπτιδίων αυτών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση του αγγειακού τόνου, την αύξηση της νατιούρησης καθώς και αντιπαραπλαστικές και αντιυπερτροφικές δράσεις στα καρδιακά και αγγειακά κύτταρα. Ο αποκλεισμός τόσο του MEA όσο και της NEP ελαττώνει την αποδόμηση της βραδυκινίνης και ενισχύει την αγγειοδιασταλτική, νατριουρητική και αντιμυϊτική δράση της ουσίας αυτής που κινητοποιούνται μέσω των  $B_2$ -υποδοχέων της, με αποτέλεσμα την αυξημένη απελευθέρωση των αγγειοδιασταλτικών NO, της προστακυκλίνης ( $PGI_2$ ) και της προσταγλανδίνης E2 ( $PGE_2$ ).

*Trends Pharmacol. Sci. 22:106-109,2001*

σης της  $AT_{II}$ , είναι χρήσιμος στην αντιμετώπιση βαρέων μορφών λευκωματινουρίας και προϊούσας νεφροπάθειας (70,71).

Όσον αφορά τη δυνατότητα φαρμακολογικών παρεμβάσεων στο επίπεδο του ANP, κλινικές μελέτες σε υπερτασικούς ασθενείς έχουν δείξει ότι διάφορες κατηγορίες αντιυπερτασικών φαρμάκων, όταν χορηγούνται για διάστημα λίγων εβδομάδων, αυξάνουν τα επίπεδα του ANP παρόλο που οι διαστάσεις των αριστερών καρδιακών κοιλοτήτων παραμένουν σταθερές ή μικραίνουν και η αρτηριακή πίεση ελαττώνεται. Αυτό έχει παρατηρηθεί ιδιαίτερα με τους β-αδρενεργικούς αναστολείς, τους αναστολείς του MEA και τους αποκλειστές των υποδοχέων  $AT_1$  της  $AT_{II}$ . Δεν είναι γνωστό, όμως, αν η αύξηση αυτή οφείλε-

ται σε αυξημένη απελευθέρωση ή σε μειωμένο καταβολισμό (42,72-76).

Θεωρείται ότι είναι θέμα χρόνου η σύνθεση φαρμάκων που θα ρυθμίζουν τη δράση των υποδοχέων των νατριουρητικών πεπτιδίων. Δεδομένου ότι η φωσφορυλίωση είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των υποδοχέων NCR-A και NCR-B, η φωσφατάση που είναι υπεύθυνη για την αποφωσφορυλίωση και η πρωτεϊνική κινάση που είναι υπεύθυνη για τη φωσφορυλίωση αποτελούν βασικούς μοριακούς στόχους. Πιστεύεται ότι ορισμένες μορφές ιδιοπαθούς υπέρτασης μπορεί να εξηγηθούν με μεταλλάξεις της κινάσης αυτής. Η ταυτοποίηση και άλλων πρωτεϊνών που ρυθμίζουν τους υποδοχείς αυτούς πιστεύεται ότι θα δώσει και άλλους μοριακούς στόχους στη φαρμακολογική έρευνα (38).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Jackson E.: Renin and angiotensin. In: Brunton L. (ed). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw - Hill Comp., New York pp 789-822, 2006
2. Greensberg S., Lorenz J., He x.: Effect of prostaglandin synthesis inhibition on macula densa stimulated renin secretion. *Amm. J. Physiol.* 265:F578-F583,1993
3. Linas S.: Role of prostaglandin in renine secretion in the isolated kidney. *Amm. J. Physiol.* 246:F811-F818,1984
4. Weihprecht H., Lorenz J., Schnermann J., Skott O.: Effect of adenosine1-receptor blockade on renin release from rabbit isolated perfused juxtglomerular apparatus. *J. Clin. Invest.* 85:1622-1628,1990
5. Guyton A. and Hall J.: Textbook of medical physiology. Philadelphia USA, Saunders W. Comp. p 855, 1996
6. Soubrier F., Alhene-Gelas F., Hubert C., Allegrini J., John M., Tregar G., Corvoe P.: Two putative active centers in human angiotensin I - converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 85:9386-9390, 1988
7. Morris B., Zee R., Schrader A.: Different frequencies of angiotensin converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. *J.Clin.Invest.*94:1085-1089, 1994
8. Williams G., D;uhy R.: Disorders of the adrenal cortex. In: Braunwald E. et al (eds) "Harrison's. Principles of internal medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp2084-2105,2001
9. Santos R., Frezaed F., Ferreira A.: Angiotensin-(1-7): blood, heart, and vessels. *Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents* 3:383-391,2005
10. Ferrario C., Jessup J., Gallagher P.: Effects of renin-angiotensin system blockade on renal angiotensin-(1-7) forming enzymes and receptors. *Kidney J.* 68:89-96,2005
11. Παπαδόπουλος Κ.Α., Κόκκας Β.: Ενδοθηλίνες και αρτηριακή υπέρταση. *Αρτηριακή Υπέρταση.* 8: 62-72,1999
12. Turner A., Hooper N.: The angiotensin-converting enzyme gene family. *Genomics and pharmacology. Trends Pharmacol. Sci.* 23:177-183,2002
13. Brew K.: Structure of human ACE gives new insights into inhibitor binding and design. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:391-394,2003
14. Turner A., Hooper N.: The angiotensin converting enzyme gene family. *Genomics and Pharmacology. Trends Pharmacol. Sci.* 23:177-183, 2002
15. Morris B., Zee R. and Schrader A.: Different frequencies of angiotensin converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. *J.Clin.Invest.*1994; 94:1085-1089, 1994
16. Vanhouste P., Boulanger C., Illiano S., Nagao T., Vidal M., Mombouli J.: Endothelium - dependent effects of converting enzyme inhibitors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 22 (Suppl.5):10-16, 1993

17. Dzau V.: Vascular angiotensin pathways: a new therapeutic target. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 10 (Suppl.7):9-16, 1987
18. Johnston Cl.: Renin - angiotensin system: a dual tissue and hormonal system for cardiovascular control. *J. Hypertens.* 10 (Suppl.7):13-26, 1992
19. Kitazono T., Padgett R., Armstrong M., Tompkins P., Heistad D.: Evidence that angiotensin-II is present in human monocytes. *Circulation* 91:1129-1134, 1995
20. Dzau V., Pratt R.: Cardiac, vascular and intrarenal renin - angiotensin systems in normal physiology and disease. In: Robertson J., Nicholls M. (eds) "The Renin-Angiotensin System". Mosby, London pp 42.1- 42.11, 1993
21. DeCasparo M., Catt K., Inagami T.: Angiotensin receptors. In: Godfraind Th. Et al (eds) "The IUPHAR compendium of receptor characterization and classification". IUPHAR Media Ltd, London pp 81-84, 1998
22. DeCasparo M., Husain A., Alexander W., Catt K., Chiu A., Drew M., Godfraind T., Harding I., Inagami T., Timmermans P.: A proposed update of the nomenclature of angiotensin receptors. *Hypertension* 25:924-927, 1995
23. Godfraind T., Elliot M., Catt K.: Drug therapy-angiotensin receptors and their antagonists. *N.Engl.J.Med.* 334:1649-1654, 1996
24. Griendling K., Ushiofucal M., Lassegue B., Alexander R.: Angiotensin II signaling in vascular smooth muscle - new concepts. *Hypertension* 29:366-371, 1997
25. Nakajima M., Hutchinson H., Fujinaga M., Hayashida W., Morishita R., Zhang I., Horiuchi M., Pratt R., Dzau V.: The angiotensin II type 2 (AT<sub>2</sub>) receptor antagonizes the growth effects of the AT<sub>1</sub> receptor- Gain of function study using gene transfer, *Proc. Nat.Acad. Sci.* 92:10663-10667, 1995
26. Kang J., Sumners C., Posner P.: Angiotensin II type -2 receptor modulated changes in potassium currents in cultured neurons. *Am.J.Physiol.* 265:C607-C616, 1993
27. Buisson B., Laflamme L, Bottari S., DeCasparo M., Gallo-Payet N., Payet M.: A G protein is involved in the T-Type calcium current in non-differentiated NG108-15 cells. *J.Biol.Chem.* 1995;1670-1674, 1995
28. Gonzales-Villalobos R., Klassen R., Allen P.: Megalin binds and internalizes angiotensin-(1-7). *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 27: 2005, in press
29. Gurzu B., Costuleanu M., Slatineanu S.: Are multiple angiotensin receptor types involved in angiotensin (1-7) actions on isolated rat portal vein. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 6:90-95, 2005
30. Myronidou M., Kokkas B., Kouyoumtzis A., Gregoriades N., Lourbopoulos A., Mylonas I., Papadopoulos C.L., Mirtsou-Fidani V.: Losartan increases NO production from the bovine aortic wall that is stimulated by angiotensin II. *Eur. J. Inflammation.* 3: 113-117, 2003
31. Κόκκας Β., Παπακωνσταντίνου Ε., Παπαδόπουλος Κ.Α.: Αγγειοτασίνη II και δομή του αγγειακού τοιχώματος. *Αρτηριακή Υπέρταση.* 7:73-81, 1998
32. Griendling K., Minieri C., Ollerenshaw J., Alexander R.: Angiotensin II

- stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ.Res.* 74:1141-1149, 1994
33. Bulter A., Flitney F., Williams D.: NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrothiols and iron - nitrosyls in biology. *Trends Pharmacol. Sci.* 16: 18-22, 1995
  34. Groves P., Kurz S., Just H. and Drexler H.: Role of endogenous bradykinin in human coronary vasomotor control. *Circulation* 92:3424-3430, 1995
  35. Curzen N., Timmis A.: Endothelial dysfunction in chronic heart failure. In: Coats A., Cleland J.(eds) "Controversies in the management of heart failure". Churchill - Livingstone, London pp 26-40, 1997
  36. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Κόκκας Β.: Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου επί καρδιακής ανεπάρκειας. *Αρτηριακή Υπέρταση* 6: 76-83, 1997
  37. Ahluwalia A., Hobbs A.: Endothelium-derived C-type natriuretic peptide. More than just a hyperpolarizing factor. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:162-167,2005
  38. Potter L., Hunter T.: Guanyl cyclase-linked natriuretic peptide receptors. Structure and regulation. *J. Biol. Chem.* 276:6057-6060,2001
  39. Ogawa H., Qiu Y., Ogawa C., Misono K.: Crystal structure of hormone bound atrial natriuretic peptide receptor extracellular domain. Rotation mechanism for transmembrane signal. *J. Biol. Chem.* 279:28625-28631,2004
  40. Wikipedia. Free Encyclopedia. Google-Internet 2005
  41. Papadopoulos C., Kokkas B., Kotridis P., Gitsios C., Kanonidis I., Faitatziadis D., Pilis A., Theodoridis E., Paradelis A.: Plasma atrial natriuretic peptide in essential hypertension after angiotensin converting enzyme inhibition. *Intern. J. Angiology* 4:44-45,1995
  42. Kotridis P., Kokkas B., Karamouzis M., Sakadamis G., Kanonidis I., Dadous,G., Karadona C., Gouli O., Karadoumanis J., Papadopoulos P.C., Papadopoulos C.L.: Plasma atrial natriuretic peptide in essential hypertension after treatment with irbesartan. *Blood Pressure* 11:91-94,2002
  43. Bralet J., Schwartz J.C.: Vasopeptides inhibitors. An emerging class of cardiovascular drugs. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:106-109,2001
  44. Rakugi H., Kim D., Krieger J., Wangs D., Dzau V. And Pratt R.: Induction of angiotensin converting enzyme in the neointima after vascular injury. Possible role in restenosis. *J.Clin.Invest.* 93:339-346, 1994
  45. Dzau V.:Vascular angiotensin pathways: a new therapeutic target. *J.Cardiovasc. Pharmacol.* 10 (Suppl.7):9-16, 1987
  46. Luscher T.: Angiotensin ACE inhibitors and endothelial control of vasomotor tone. *Bas. Res. Cardiol.* 88 (Suppl. 1):15-24, 1993
  47. Lonn E., Yusuf, Psa P. Montague T., Teo K., Benedict C. and Pitt B.: Emerging role of angiotensin - converting enzyme inhibitors in cardiac and vascular protection, *Circulation* 90:2056-2069, 1994
  48. Caliotti A., Boerringer G., Chen H.: Differential action of vasopeptidase inhibition versus angiotensin-converting enzyme inhibition on diuretic therapy in experimental congestive heart failure. *Circulation* 105:639-644,2002

49. Takai S., Jin D., Muramatsu M.: Chymase as a novel target for the prevention of vascular diseases. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:518-522,2004
50. Papakonstantinou E., Karakioulakis G., Kokkas B., Papadopoulos C.L. and Roth M.: Angiotensin II induced glycosaminoglycan synthesis by primary human vascular smooth muscle cells is mediated by subtype-1 angiotensin II receptors. *J. Cardiovasc. Pharmacology* 38:715-728, 2001
51. Diez J.: A II antagonism prevents cardiomyocyte apoptosis and interstitial fibrosis in hypertensive heart disease. XXth Congress of the Eur. Soc. of Cardiol. Satellite Symposium « Exploring the potential of AII antagonist in cardiovascular management ». Vienna, p 6, 1998
52. Drexler H.: Interrelationship of AT<sub>1</sub>/AT<sub>2</sub> receptors in cardiovascular function and remodeling. XXth Congress of the Eur. Soc. of Cardiol. Satellite Symposium « Exploring the potential of AII antagonist in cardiovascular management ». Vienna, p 8, 1998
53. Atkins R., Briganti E., Lewis J.: Proteinuria reduction and progression to renal failure in patients with type 2 diabetes mellitus and overt nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.* 45:281-287,2005
54. Bakris G., Weir M., Shanifar S.: Preserving renal function in adults with hypertension and diabetes. A consensus approach. *Am. J. Kidney Dis.* 36: 646-661, 2000
55. Barnett A., Bain S., Bouter P.: Angiotensin-receptor blockade versus converting-enzyme inhibition in type 2 diabetes and nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 351:1952-1961, 2004
56. ACE inhibitors in diabetic nephropathy trialist group. Should all patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria receive angiotensin-converting enzyme inhibitors? *Ann. Intern. Med.* 134:370-379, 2001
57. Weinberg M., Kaperonis N., Bakris G.: How high should an ACE inhibitor or angiotensin receptor blocker be dosed in patients with diabetic nephropathy? *Curr. Hypertens. Rep.* 5:418-425,2003
58. Brenner B., Cooper M., de Zeeuw D.: Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 345:861-869,2001
59. Fujihara C., Velho M., Malheiros D., Zatz R.: An extremely high dose of losartan affords superior renoprotection in the remnant model. *Kidney Int.* 67:1913-1924,2005
60. Kvetny J., Gregersen G., Pedersen R.: Randomized placebo-controlled trial of perindopril in normotensive, normoalbuminemic patients with type 1 diabetes mellitus. *Am. J. Med.* 112:110-114,2002
61. Lewis E., Hunsicker L., Clarke W.: Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type diabetes 2. *N. Engl. J. Med.* 345:851-860,2001
62. Parving H., Lehnert H., Brochner-Morgensen J.: The effect of irbesartan on the

- development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 345:870-878,2001
63. Ravid M., Brosh D., Levi Z.: Use of enalapril to attenuate decline in renal function in normotensive, normoalbuminuric patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 128:982-988,1998
  64. Adler S.: Diabetic nephropathy. Linking histology, cell biology, and genetics. *Kidney Int.* 66:2095-2106,2004
  65. Mogensen C.: Progression of nephropathy in long-term diabetes with proteinuria and effect of initial hypertensive treatment. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 36:383-388,1976
  66. Bakris G., Weir M., Shanifar S.: Effects of blood pressure level on progression of diabetic nephropathy. Results from the RENAAL study. *Arch. Intern. Med.* 163:1555-1565,2003
  67. Hollenberg N., Price D., Fisher N.: Glomerular heterodynamics and the renin-angiotensin system in patients with type 2 diabetes mellitus. *Kidney Int.* 63:172-178,2003
  68. Hollenberg N., Stevanovic R., Agarwal A.: Plasma aldosterone concentration in the patient with diabetes mellitus. *Kidney Int.* 65:1435-1439,2004
  69. Mezzano S., Droguett A., Burgos E.: Renin-angiotensin system activation and interstitial inflammation in human diabetic variation. *Kidney Int.* 64:564-570,2003
  70. Andersen N., Mogensen C.: Dual blockade of the renin angiotensin system in diabetic and nondiabetic kidney disease. *Curr. Hypertens. Res.* 6:369-376,2004
  71. Parving H., Smidt U., Andersen A., Svendsen P.: Early aggressive antihypertensive treatment reduces rate of decline in kidney function in diabetic nephropathy. *Lancet I*:1175-1179, 1983
  72. Hama J., Nagata S., Takenaka T. Atrial natriuretic peptide and antihypertensive action due to beta - blockade in essential hypertensive patients. *Angiology* 46: 511-516,1995
  73. Papadopoulos C., Kokkas B., Kotridis P., Karamouzis M., Haldoupi M., Platis A., Dadoush G.: The effect of  $\beta_1$  - blocker /  $\beta_2$  agonist celiprolol on Atrial Natriuretic Peptide plasma levels in hypertensive patients. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 12:345-346,1998
  74. Papadopoulos C., Kokkas B., Anogiannakis G.: Beta blockers and Atrial Natriuretic Peptide (ANP) in hypertension. *Intern. J. Immunopathol. Pharmacol.* 13:107-110,2000 peptide in essential hypertension after treatment with irbesartan. *Blood Pressure* 11:91-94,2002
  75. Kokkas B., Kotridis P., Karamouzis M., Kanonidis I., Sakadamis G., Dadous G., Haritos S., Kyriakou P., Theodossiadis I., Papadopoulos P.C., Papadopoulos C.L.: Plasma atrial natriuretic peptide levels in essential hypertension after treatment with verapamil. *Eur. J. Drug Metabol. Pharmacokin.* 27:45-48,2002

- 76: C.Papadopoulos, B.Kokkas, P.Kotridis, C.Gitsios, G.Sakadamis, J.Kanonidis, M.Kotoula and A.Paradelis: The effect of  $\beta_1$ -blocker bisoprolol on atrial natriuretic peptide plasma levels in hypertensive patients. *Intern. J.Angiology* 4:165-168, 1995





## ΤΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ ΩΣ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ

- 10 Ο ρόλος του ενδοθηλίου στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου
- 11 Οξείδιο του αζώτου ή νιτροξείδιο, καρδιαγγειακό σύστημα και φάρμακα
- 12 Ενδοθηλίνες και αρτηριακή υπέρταση
- 13 Οξειδωτικό στρες και αρτηριακή υπέρταση
- 14 Αθηρωμάτωση και αγγειακός τόνος
- 15 Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επί καρδιακής ανεπάρκειας



R. Furchgot



L. Ignaro



F. Murad



Βραβείο Nobel Ιατρικής το 1998 για την ανακάλυψη των σηματοδοτικών ιδιοτήτων του οξειδίου του αζώτου



## ΔΕΚΑΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΑΚΟΣ ΤΟΝΟΣ

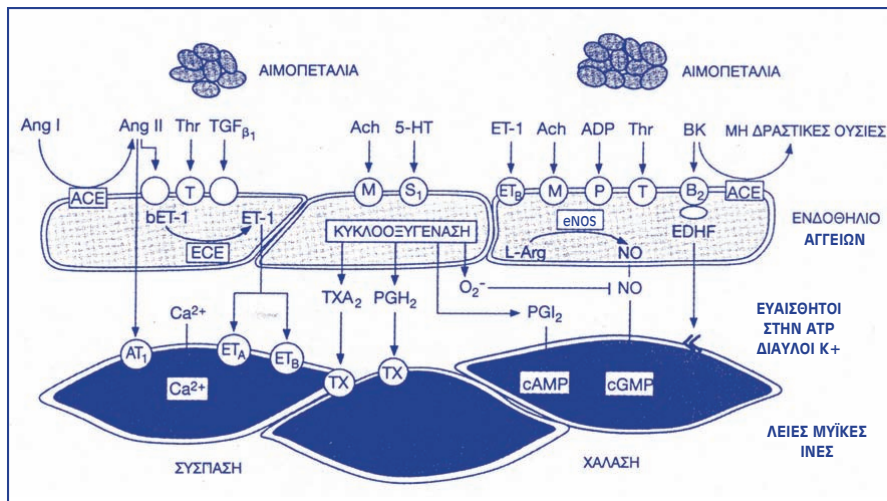
Β. Α. Κόκκας, Π. Κ. Παπαδόπουλος και Κ. Λ. Παπαδόπουλος

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

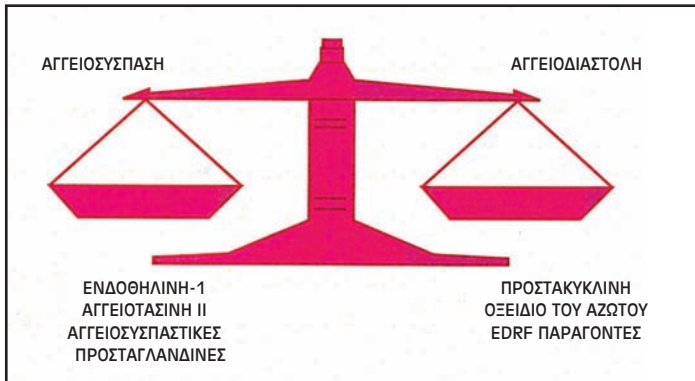
*Το ενδοθήλιο συνθέτει και απελευθερώνει μια σειρά μορίων μέσα από τα οποία συμμετέχει στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, στη συμπεριφορά των αιμοπεταλίων και στον έλεγχο της πήκτικότητας του αίματος, στην ανοσοβιολογική και ενζυματική λειτουργία του οργανισμού, στην εξέλιξη της φλεγμονής και στην ανάπτυξη του αγγειακού τοιχώματος. Ιδιαίτερα όσον αφορά τον αγγειακό τόνο, το ενδοθήλιο συνθέτει τόσο αγγειοδιασταλτικούς όσο και αγγειοσυσπαστικούς παράγοντες. Όταν το ενδοθήλιο είναι φυσιολογικό, υπάρχει μια δυναμική ισορροπία μεταξύ των δύο αυτών ομάδων αγγειοδραστικών ουσιών καθώς και η δυνατότητα εξουδετέρωσης τυχόν καταχρηστικά δρώντων αγγειοσυσπαστικών και προθρομβωτικών παραγόντων. Η ισορροπία αυτή ανατρέπεται υπέρ των αγγειοσυσπαστικών και θρομβογόνων παραγόντων επί δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου.*

#### Εισαγωγή

Το ενδοθήλιο αποτελεί μια λειτουργική επιφάνεια της τάξης των 1.000 m<sup>2</sup> που καλύπτει εκ των έσω το αγγειακό τοίχωμα. Η ενδοθηλιακή στιβάδα δεν περιορίζεται στο ρόλο ενός ημιδιαπερατού φραγμού ή ενός αντιθρομβωτικού μηχανισμού, αλλά συμμετέχει σε πλήθος άλλων λειτουργιών. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η ρύθμιση του αγγειακού τόνου, η συμπεριφορά των αιμοπεταλίων, ο έλεγχος της πήκτικότητας του αίματος, η ανοσοβιολογική και ενζυματική λειτουργία του οργανισμού, η εξέλιξη της φλεγμονής, η ανάπτυξη του αγγειακού



**Εικόνα 10.1: Ενδοθηλιοεξαρτώμενοι αγγειοδραστικοί μηχανισμοί.** Η αγγειοτασίνη I (Ang I) με τη δράση του ACE (Angiotensin Converting Enzyme: Μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης ή MEA) το οποίο ευρίσκεται τόσο στο αίμα όσο και στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μετατρέπεται στη δραστική αγγειοτασίνη II (Ang II). Η αγγειοτασίνη II διεγείρει τους  $AT_1$ -υποδοχείς στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος και προάγει, μεταξύ άλλων, τη σύσπασή τους. Επίσης, η αγγειοτασίνη II διεγείρει το ECE (Endothelin Converting Enzyme: Μετατρεπτικό Ένζυμο της Ενδοθηλίνης) και προάγει τη μετατροπή της μεγάλης ενδοθηλίνης-1 (bET-1: big Endothelin-1) σε ενδοθηλίνη-1 (ET-1: Endothelin-1), η οποία μέσω κυρίως των  $ET_A$  αλλά και των  $ET_B$ -υποδοχέων στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος προκαλεί επίσης τη σύσπασή τους. Το ίδιο συμβαίνει και με την είσοδο του  $Ca^{2+}$  στις λείες μυϊκές ίνες. Ουσίες όπως η ακετυλοχολίνη (ach:acetylcholine) μέσω των M-υποδοχέων και η 5-HT (5-hydroxytryptamine:5-υδροξυτρυπταμίνη) μέσω των  $S_1$ -υποδοχέων προάγουν μέσω της κυκλοοξυγενάσης (COX:Cyclooxygenase) τη σύνθεση των αγγειοσυσπαστικών ουσιών θρομβοξάνη ( $TXA_2$ : Thromboxane) και προσταγλανδίνη  $H_2$  ( $PGH_2$ : Prostaglandin  $H_2$ ), της αντιαιμοπεταλιακής και αγγειοδιασταλτικής προστακυκλίνης ( $PGI_2$ : Prostacyclin), ενώ υπάρχει διαφυγή της οξειδωτικής ρίζας  $O_2^-$  (υπεροξειδικό ανιόν). Η  $PGI_2$  προάγει τη μυϊκή χάλαση διεγείροντας το σχηματισμό της cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη). Ουσίες όπως η ET-1 μέσω των  $ET_B$ -υποδοχέων, η ach μέσω των M-υποδοχέων, η ADP (Adenosine Diphosphate:Διφωσφορική αδενοσίνη) μέσω των P-υποδοχέων, η θρομβίνη (Thr: Thrombin) μέσω των T-υποδοχέων διεγείρουν τη eNOS (endothelial NO Synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO) που από την L-αργινίνη (L-Arg.: L-Arginine) σχηματίζει οξείδιο του αζώτου (NO). Το NO αυξάνει την cGMP (cyclic Guanine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη) τόσο στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων, όπου προάγει τη χάλαση αυτών, όσο και στα αιμοπετάλια όπου, αναστέλλει τη διέγερσή τους. Το υπεροξειδικό ανιόν εξουδετερώνει το NO και το μετατρέπει σε υπεροξυνιτρική ρίζα. Η βραδυκινίνη (BK: Bradykinin) μέσω των  $B_2$ -υποδοχέων προάγει τη σύνθεση του EDHF (Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor:Υπερπολωτικός παράγοντας προερχόμενος από το ενδοθήλιο) ο οποίος περνά στις λείες μυϊκές ίνες και διανοίγει διαύλους  $K^+$  προκαλώντας την υπερπόλωση και τη χάλαση αυτών. Παράλληλα, το ECE διασπά τη βραδυκινίνη σε αδρανή προϊόντα.  
*Clin. Cardiol.* 20(Suppl.II), 1997



**Εικόνα 10.2: Το ενδοθήλιο ως ρυθμιστής του αγγειακού τόνου.** Το ενδοθήλιο συνθέτει και απελευθερώνει αγγειοδραστικές ουσίες. Υπό φυσιολογικές συνθήκες το ενδοθήλιο διατηρεί μια δυναμική ισορροπία μεταξύ των ουσιών αυτών ρυθμίζοντας τον αγγειακό τόνο ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες.

*Fuster V. et al (eds). Atherosclerosis and coronary artery disease, 1996*

τοιχώματος και ο αγγειακός τόνος. Το ενδοθηλιακό κύτταρο ασκεί τις δράσεις αυτές με το να συνθέτει σταθερά και να απελευθερώνει μια σειρά μορίων τα οποία κατευθύνονται και, ανάλογα, ενεργοποιούν ή αδρανοποιούν συγκεκριμένους κυτταρικούς στόχους. Ιδιαίτερα όσον αφορά τον αγγειακό τόνο, το ενδοθήλιο συνθέτει, ενεργοποιεί και αδρανοποιεί ένα ευρύ φάσμα αγγειοδραστικών ουσιών τις οποίες διατηρεί σε μια κατάσταση δυναμικής ισορροπίας, μεταβάλλοντας την τελευταία ανάλογα με τις λειτουργικές ανάγκες (1-10).

### Ρύθμιση του αγγειακού τόνου

Οι μεταβολές της αιματικής ροής και της αρτηριακής πίεσης επηρεάζουν τους ομοιοστατικούς μηχανισμούς του αγγειακού τοιχώματος και προκαλούν προσαρμοστικές μεταβολές του αγγειακού τόνου. Ένα μεγάλο μέρος των ομοιοστατικών μηχανισμών εξαρτάται από τη λειτουργική κατάσταση του ενδοθηλίου. Τα ερεθίσματα που δέχεται το ενδοθήλιο είναι μηχανικά και χυμικά (11).

Η τριβή του αίματος στα ενδοθηλιακά κύτταρα, που είναι ανάλογη με την ταχύτητα ροής του αίματος, ανοίγει διαύλους  $K^+$  και προκαλεί υπερπόλωση, με αποτέλεσμα τη διάνοιξη ιδιαίτερων διαύλων  $Ca^{2+}$  και είσοδο  $Ca^{2+}$ , που αντίθετα με τις λείες μυϊκές ίνες ενεργοποιείται επί υπερπόλωσης. Με τον τρόπο αυτό τελικά προκαλείται έκκριση παρακρινικών αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, που θα αναπτυχθούν παρακάτω, και ρυθμίζεται ο βαθμός αγγειοδιαστολής, προκειμένου να διευκολυνθεί η αναγκαία άρδευση.

Όμοιο αποτέλεσμα προκαλούν διάφοροι αγγειοσυσπαστικοί παράγοντες μέσω της διέγερσης ορισμένων υποδοχέων στο ενδοθηλιακό κύτταρο από δι-

άφορες ενδογενείς ουσίες και κυρίως ουσίες που είναι αυξημένες άμεσα και αντανakλαστικά κατά την κυτταρική κακοποίηση (στρες), τις ισχαιμικές καταστάσεις και τη διέγερση των αιμοπεταλίων, που οδηγεί σε αύξηση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στο ενδοθηλιακό κύτταρο λόγω κινητοποίησης των ενδοκυττάρων αποθεμάτων.

### **1. Αγγειοδιασταλτικές δράσεις**

Το ενδοθήλιο ασκεί αγγειοδιασταλτικές ενέργειες μέσα από τη σύνθεση και απελευθέρωση των παρακάτω παραγόντων (2,3,5-9,13-17) :

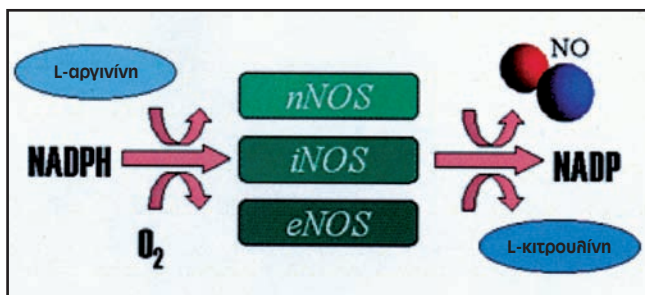
#### **Οξειδίο του αζώτου**

Το οξειδίο του αζώτου (NO: Nitric Oxide) είναι ο κυριότερος αγγειοδιασταλτικός παράγοντας του ενδοθηλίου. Αντιπροσωπεύει τον επονομαζόμενο παλαιότερα EDRF (Endothelium Derived Relaxing Factor: Αγγειοδιασταλτικός παράγοντας του ενδοθηλίου), του οποίου η ακριβής φύση εξακριβώθηκε προ δεκαεπταετίας. Πρόκειται για ένα αέριο το οποίο διαχέεται από το ενδοθήλιο προς τη μυϊκή στιβάδα του αγγειακού τοιχώματος και προάγει τη χάλαση αυτής.

Η ενδοκυττάρια αύξηση των ιόντων αυτού του στοιχείου στο ενδοθηλιακό κύτταρο κινητοποιεί το μηχανισμό που οδηγεί σε μετατροπή της L-αργινίνης σε L-κιτρουλίνη. Το NO που αποτελεί παραπροϊόν της όλης αντίδρασης διαχέεται προς τις λείες μυϊκές ίνες του μέσου αγγειακού χιτώνα, όπου διεγείρει τη διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC: soluble Guanylcyclase) με τελικό σχηματισμό της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP: cyclic Guanosine Monophosphate). Το αποτέλεσμα είναι, μεταξύ άλλων, η ελάττωση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στις λείες μυϊκές ίνες και η τελική χάλαση αυτών. Το NO δρα επίσης ανασταλτικά στη διέγερση των αιμοπεταλίων.

#### **Προστακυκλίνη**

Η διάταση του αγγειακού μυϊκού τοιχώματος, καθώς και η διέγερση ορισμένων υποδοχέων, όπως της ακετυλοχολίνης και της 5-υδροξυτρυπταμίνης, στο ενδοθηλιακό κύτταρο και στις λείες μυϊκές ίνες οδηγεί στη σύνθεση της προστακυκλίνης ( $PGI_2$ : Prostacyclin). Η σύνθεση της  $PGI_2$  αρχίζει με την κινητοποίηση του μεταβολικού καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος. Στην αρχή, με τη δράση της  $PLA_2$  (Phospholipase  $A_2$ : Φωσφολιπάση  $A_2$ ) συντίθεται το αραχιδονικό οξύ από τα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης. Στη συνέχεια, με τη δράση της COX (Cyclooxygenase: Κυκλοοξυγενάση) σχηματίζονται ασταθή ενδοϋπεροξειδία, δηλαδή το ασταθές ενδοϋπεροξειδίο  $PGG_2$  και με την επίδραση της υπεροξειδάσης, που συνυπάρχει στο μόριο της COX, σχηματίζεται το επίσης ασταθές ενδοϋπεροξειδίο  $PGH_2$ . Από το  $PGH_2$ , υπό την επίδραση των



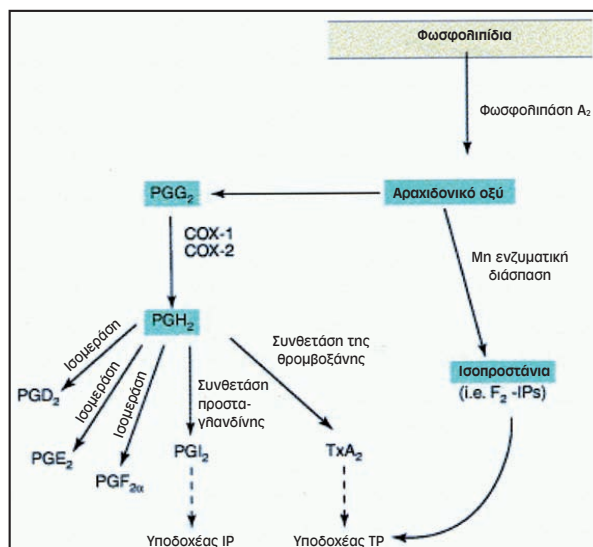
**Εικόνα 10.3: Μηχανισμοί σύνθεσης του NO.** Υπό την επίδραση της NOS (NO Synthase:Συνθετάση του NO) και παρουσία της NADPH (ανηγμένη μορφή του NADP<sup>+</sup>) γίνεται η μετατροπή της L-αργινίνης (L-arg) προς κιτροουβίνη με παραπροϊόν το NO. Όπου nNOS (neuronal NOS:νευρική NOS), iNOS (inducible NOS:επαγόμενη NOS), eNOS (endothelial NOS:ενδοθηλιακή NOS )  
Dash Ph. Medline-Internet,2005

ισομερασών σχηματίζονται οι προσταγλανδίνες PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub> και PGD<sub>2</sub>, υπό την επίδραση της συνθετάσης της προστακυκλίνης η PGI<sub>2</sub> και υπό την επίδραση της συνθετάσης της θρομβοξανής η TXA<sub>2</sub> (Thromboxane:Θρομβοξανή). Τα δύο τελευταία παράγωγα είναι ιδιαίτερα δραστικά αλλά ασταθή. Η PGI<sub>2</sub> διεγείρει ειδικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Οι υποδοχείς αυτοί είναι διαφορετικοί από εκείνους που προάγουν τη σύνθεση του NO, έστω και αν οι αγωνιστές είναι οι ίδιοι. Η PGI<sub>2</sub> διεγείρει την αδενυλοκυκλάση (AC:Adenylcyclase) στις λείες μυϊκές ίνες του μέσου αγγειακού χιτώνα, με αποτέλεσμα την ελάττωση του ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup> και τη χάλαση των τελευταίων. Η PGI<sub>2</sub> είναι επίσης ισχυρός αναστολέας της διέγερσης των αιμοπεταλίων. Η αθηροσκλήρωση, το γήρας, ο διαβήτης, το κάπνισμα και η αύξηση της χοληστερόλης ελαττώνουν την ικανότητα του ενδοθηλίου να συνθέτει την ουσία αυτή.

### Υπερπολωτικοί παράγοντες

Οι σημερινές απόψεις συγκλίνουν στο γεγονός ότι δεν πρόκειται για έναν μεμονωμένο παράγοντα αλλά για περισσότερους του ενός. Η χημική ταυτότητα των παραγόντων αυτών δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί.

Ο κλασικός EDHF ( Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor: Υπερπολωτικός παράγοντας του ενδοθηλίου) αποτελεί μάλλον έναν μεταβολίτη του αραχιδονικού οξέος προερχόμενο από τη δράση της μονοοξυγενάσης του κυτοχρώματος P450 μέσα από το βιοχημικό μονοπάτι της εποξυγενάσης που έχει ως αποτέλεσμα τη γένεση των EETs (epoxyeicosatrienoic acids: εποξυεικοσατριεννοϊκά οξέα), αφού προηγηθεί με διάφορους μηχανισμούς η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup> στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Υπάρχουν, όμως, και ενδείξεις ότι στην ίδια κατηγορία υπερπολωτικών παραγόντων μπορεί να



**Εικόνα 10.4:** Βιοχημική οδός σύνθεσης της προστακυκλίνης, της θρομβοξάνης και των ισοπροστανίων. Με τη δράση της φωσφολιπάσης  $A_2$  στα φωσφολιπίδια σχηματίζεται το αραχιδονικό οξύ και με τη δράση της COX (Cyclooxygenase: Κυκλοοξυγενάση) επ' αυτού σχηματίζεται το ασταθές ενδοϋπεροξειδίο ή προσταγλανδίνη  $PGG_2$  και από αυτό με την επίδραση της υπεροξειδάσης σχηματίζεται το επίσης ασταθές ενδοϋπεροξειδίο ή προσταγλανδίνη  $PGH_2$ . Από την  $PGH_2$ , υπό την επίδραση των ισομερασών ή συνθετασών, σχηματίζονται οι προσταγλανδίνες  $PGE_2$ ,  $PGF_{2a}$  και  $PGD_2$ , υπό την επίδραση της συνθετάσης της προστακυκλίνης η προστακυκλίνη ( $PGI_2$ ) και υπό την επίδραση της συνθετάσης της θρομβοξάνης η θρομβοξάνη ( $TXA_2$ ). Στη συνέχεια, η μεν  $PGI_2$  διασπάται προς την αδρανή 6-keto- $PGF_{1\alpha}$  και η  $TXA_2$  προς την επίσης αδρανή θρομβοξάνη  $TXB_2$ . Η μη ενζυματική διάσπαση του αραχιδονικού οξέος δίνει τα ισοπροστάνια.

*Katzung B. (ed). Basic and Clinical Pharmacology, 1995*

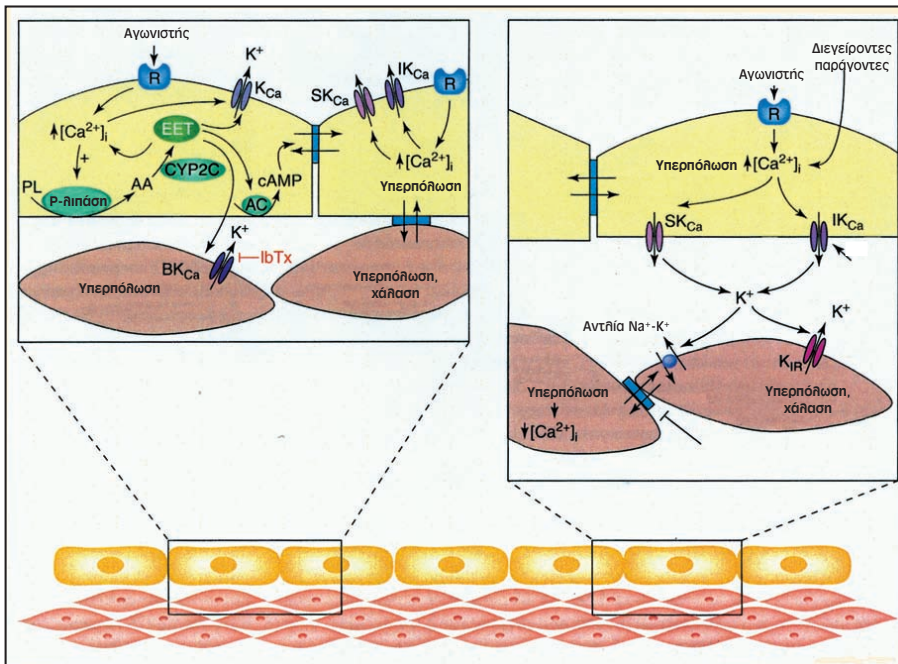
ανήκει και το CNP ( C-type Natriuretic Peptide: Νατριουρητικό πεπτίδιο τύπου C).

Η χάλαση των λείων μυϊκών ινών, την οποία προκαλούν, γίνεται μέσα από μηχανισμούς υπερπόλωσης που οφείλονται στη διάνοιξη των διαύλων του  $K^+$ . Ειδικά για τα αρτηρίδια, υπάρχει η άποψη ότι ο EDRF, ο οποίος συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, προάγει την υπερπόλωση στα κύτταρα αυτά και στη συνέχεια το υπερπολωτικό αυτό κύμα μεταδίδεται στον μυϊκό χιτώνα μέσα από τις συνάψεις που έχουν οι λείες μυϊκές ίνες με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι ασβεστιοεξαρτώμενοι δίαυλοι του  $K^+_{Ca}$  στα ενδοθηλιακά κύτταρα φαίνεται ότι προάγουν τους μηχανισμούς αυτούς (18).

### **Βραδυκίνη**

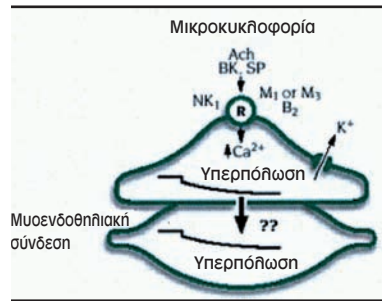
Η βραδυκίνη είναι μια κυρίως τοπικά δρώσα αγγειοδιασταλτική ουσία που συντίθεται και από το ενδοθηλιακό κύτταρο. Η βραδυκίνη σχηματίζεται δι' απο-



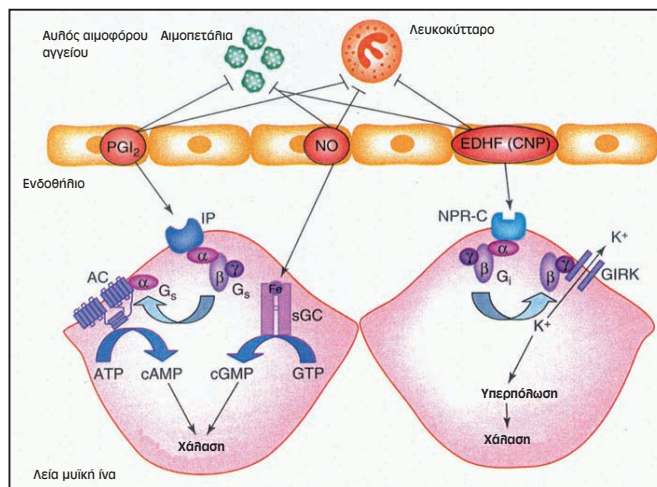


**Εικόνα 10.5: Υπερπολωτικοί μηχανισμοί του ενδοθηλίου. Αριστερά. Τα εποξυεικοσατριενοϊκά οξέα (EETs) μπορούν να δρουν ως ενδοκυττάριοι και εξωκυττάριοι αγγελιοφόροι.** Η διέγερση από τον αγωνιστή του υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη του ενδοθηλιακού κυττάρου προάγει την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  ή  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  στο κύτταρο αυτό. Τα ιόντα αυτά διεγείρουν τη φωσφολιπάση (PL:Phospholipase), η οποία απελευθερώνει το αραχιδονικό οξύ (AA: Arachidonic Acid) από τα μεμβρανικά φωσφολιπίδια. Η κατ' επέκταση διέγερση της εποξυγενάσης του κυτοχρώματος P450 προκαλεί τη σύνθεση των EETs (εποxyeicosatrienoic acids: εποξυεικοσατριενοϊκά οξέα). Τα οξέα αυτά ρυθμίζουν, με τη σειρά τους, το ενδοκυττάριο  $\text{Ca}^{2+}$  στα ενδοθηλιακά κύτταρα, με συνέπεια την ενεργοποίηση των ασβεστιοεξαρτώμενων διαύλων  $\text{K}_{Ca}$  του καλίου στα ίδια κύτταρα, την έξοδο του  $\text{K}^+$  και την υπερπόλωση. Παράλληλα, τα  $\text{Ca}^{2+}$  προάγουν τη σύνθεση της cAMP, καθώς διεγείρουν την αδενυλοκυκλάση (AC:Adenyl Cyclase), ενώ προάγεται η επικοινωνία μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων στο επίπεδο των συνδέσεων. Τα EETs ή/και οι μεταβολίτες τους διαχέονται προς τις πέριξ λείες μυϊκές ίνες και ενεργοποιώντας τους διαύλους μακράς αγωγής  $\text{K}_{Ca}$  του καλίου προκαλούν υπερπόλωση και χάλαση. **Δεξιά. Ο ρόλος των ιόντων  $\text{K}^+$ .** Η διέγερση από τον αγωνιστή του υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη του ενδοθηλιακού κυττάρου, καθώς και διεγέρσεις που δεν εξαρτώνται από τον υποδοχέα, προάγουν την αύξηση του  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  στα κύτταρα αυτά με συνέπεια την ενεργοποίηση των ασβεστιοεξαρτώμενων μικρής και μέσης διάρκειας διαύλων  $\text{SK}_{Ca}$  και  $\text{IK}_{Ca}$  του καλίου στα ίδια κύτταρα, την έξοδο του  $\text{K}^+$  και την υπερπόλωση. Η αθρόα αύξηση  $\text{K}^+$  στον υπενδοθηλιακό χώρο ενεργοποιεί τους διαύλους  $\text{K}_{IR}$  (IR: Inward Rectifying) στις λείες μυϊκές ίνες και μέσω των διαύλων ή/και μέσω της  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPάσης προάγεται η έξοδος του ιόντος αυτού από αυτές, ενώ ακολουθεί η υπερπόλωση και η χάλαση των λείων μυϊκών ινών.

*Trends Pharmacol. Sci. 23, 2002*



**Εικόνα 10.6: Υπερπόλωση των λείων μυϊκών ινών στη μικροκυκλοφορία.** Υπάρχει η άποψη ότι στα μικρά αγγεία πρώτα υπερπολούνται τα ενδοθηλιακά κύτταρα και στη συνέχεια η υπερπόλωση των ενδοθηλιακών κυττάρων μεταδίδεται προς τις λείες μυϊκές ίνες μέσω των μυοενδοθηλιακών συνδέσεων κατά συνέχεια κυττάρων. Όπου Ach (Achetylcholine: Ακετυλχολίνη), BK (Bradykinin: Βραδυκίνη), SP (Substance P: Ουσία P), NK (Υποδοχείς της ουσίας P), M (Μουσακαρικοί υποδοχείς της Ach), B (Υποδοχείς της βραδυκίνης). *Dialogues Cardiovasc. Med.* 3,1998



**Εικόνα 10.7: Αγγειοπροστατευτικοί μηχανισμοί από τρεις κύριους ενδοθηλιακούς παράγοντες, την προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>), το οξείδιο του αζώτου (NO) και το νατριουρητικό πεπτίδιο C-τύπου (CNP:C-type Natriuretic Peptide).** Η PGI<sub>2</sub> διεγείρει μέσω του προστανοειδούς υποδοχέα (IP) και της G<sub>s</sub>-πρωτεΐνης το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylcyclase) που καταλήγει στη σύνθεση της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP:cyclic Adenosine Monophosphate). Το NO διεγείρει απ' ευθείας το σύστημα της διαλυτής γουανυλοκυκλάσης (sGC:soluble Guanylcyclase) και προάγει τη σύνθεση της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP:cyclic Guanosine Monophosphate). Και τα δύο κυκλικά νουκλεοτίδια cAMP και cGMP προκαλούν τη χάλαση του αγγειακού τοιχώματος και αναστέλλουν τη διέγερση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων. Το CNP διεγείρει μέσω των υποδοχέων NPR-C (Natriuretic Peptide Receptor-C) και με την ενδιάμεση μεσολάβηση G-πρωτεϊνών τη διάνοιξη των διαύλων του K<sup>+</sup> προκαλώντας υπερπόλωση στις λείες μυϊκές ίνες και αγγειοδιαστολή. *Trends Pharmacol. Sci.* 26 (2005)

κοπής του μορίου της καλλικρεΐνης με τη δράση των κινινογόνων. Καλλικρεΐνη υπάρχει τόσο στο πλάσμα όσο και στους ιστούς. Το υψηλού μοριακού βάρους (HMW: High Molecular Weight) κινινογόνο δρα στην καλλικρεΐνη του πλάσματος και το αντίστοιχο χαμηλού μοριακού βάρους (LMW: Low Molecular Weight) στην ιστική καλλικρεΐνη.

Η βραδυκινίνη ασκεί τις ενέργειές της μέσω των υποδοχέων  $B_1$  και  $B_2$ . Και οι δύο υποδοχείς ανήκουν στην κατηγορία των συνδεόμενων με  $G_q$ -πρωτεΐνη. Ο υποδοχέας  $B_1$  απαντά στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και παρουσιάζει αυξημένη έκφραση κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Προάγει την αγγειοδιαστολή, την επιστράτευση των λευκοκυττάρων και τον πόνο. Η διέγερση του  $B_2$  υποδοχέα, ο οποίος κυριαρχεί υπό φυσιολογικές συνθήκες, προάγει την αγγειοδιαστολή, την αποβολή του Na και τον πόνο. Ιδιαίτερα στο ενδοθήλιο, η διέγερση αυτή οδηγεί σε σύνθεση των αγγειοδιασταλτικών ουσιών NO και  $PGI_2$ .

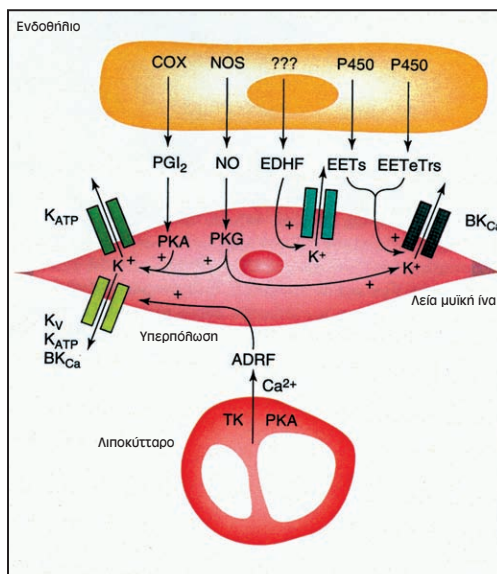
Η βραδυκινίνη διασπάται από το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης (ΜΕΑ). Πρόκειται για το ίδιο ένζυμο που μετατρέπει την αδρανή αγγειοτασίνη I στην ισχυρή αγγειοσυσπαστική αγγειοτασίνη II.

### **Αγγειοδιασταλτικός παράγοντας των λιποκυττάρων**

Παράλληλα, τα λιποκύτταρα τα οποία ευρίσκονται στον λιπώδη ιστό που περιβάλλει τα αγγεία συνθέτουν κατά ασβεστιοεξαρτώμενο τρόπο τον αγγειοδιασταλτικό παράγοντα ADRF (Adipocyte-Derived Relaxing Factor: Αγγειοδιασταλτικός παράγοντας των λιποκυττάρων) ο οποίος ανοίγοντας τους διαύλους του  $K^+$  προάγει την υπερπόλωση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος, με συνέπεια τη χάλαση των τελευταίων και την αγγειοδιαστολή. Κατά την παχυσαρκία, διαταράσσεται η σύνθεση του παραπάνω παράγοντα με αποτέλεσμα να προάγονται οι περιφερικές αντιστάσεις και τα υπερτασικά φαινόμενα (19).

### **Ισοπροστάνια**

Τα ισοπροστάνια αποτελούν μια νέα κατηγορία μεταβολιτών του αραχιδονικού οξέος τα οποία συντίθενται όταν οι κυτταρικές μεμβράνες δέχονται επίθεση από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Η αυξημένη συγκέντρωσή τους στο πλάσμα χρησιμεύει ως δείκτης πολλών μεταβολικών διαταραχών και καρδιαγγειακών παθήσεων στις οποίες το οξειδωτικό στρες είναι το προέχον χαρακτηριστικό. Μεταξύ των διαταραχών αυτών περιλαμβάνονται η υπερχοληστερολαιμία και η αθηρωμάτωση, ο μετισταθμικός αγγειακός τραυματισμός στο επίπεδο της καρδιάς και των νεφρών και η πνευμονική υπέρταση. Πιθανόν να υπάρχει και ενζυματικός ρυθμιστικός μηχανισμός σύνθεσης των ισοπροστανίων. Η  $PLA_2$  (Phospholipase  $A_2$ ; Φωσφολιπάση  $A_2$ ) στο ενδοθηλιακό κύτταρο έχει καθοριστικό ρόλο στις διεργασίες αυτές (20).



**Εικόνα 10.8:** Διπλή ρύθμιση του αρτηριακού τόνου από το ενδοθήλιο και τον λιπώδη ιστό του έξω αγγειακού χιτώνα. Οι παράγοντες που απελευθερώνονται από το ενδοθήλιο, όπως η προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>), το οξείδιο του αζώτου (NO), ο υπερπολωτικός παράγοντας (EDHF: Endothelium Detived Hyperpolarized Factor)), τα εποξυεικοσατριεννοϊκά οξέα (EETs) και τα εποξυεικοσατετραενοϊκά οξέα (EETeTrs) καθώς και ο παράγοντας ADRF (Adipocyte Derived Relaxing Factor) που προέρχεται από τον λιπώδη ιστό του έξω αγγειακού χιτώνα, προάγουν τη χάλαση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Στο σχεδιάγραμμα αναπαριστώνται οι μηχανισμοί με τους οποίους ασκούνται οι αγγειοδιασταλτικές αυτές ενέργειες (βλέπε κείμενο). Όπου COX (Κυκλοοξυγενάση), NOS (Συνθετάση του NO), P450 (Κυτόχρωμα P450), PKA (Πρωτεϊνική κινάση A), PKG (Πρωτεϊνική κινάση G), K<sub>V</sub> (δίαυλοι K<sup>+</sup> εξαρτώμενοι από το δυναμικό), K<sub>ATP</sub> (δίαυλοι K<sup>+</sup> εξαρτώμενοι από την ATP), BK<sub>Ca</sub> (large conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup>- channels: ευρείας αγωγιμότητας ασβεστιοεξαρτώμενοι διάυλοι K<sup>+</sup>).

*Trends Pharmacol. Sci. 25:647-653,2004*

Τα ισοπροστάνια αποτελούν μια ομάδα ισχυρών αγγειοδραστικών ουσιών, από τα οποία τα περισσότερα προάγουν την αγγειοσύσπαση και ορισμένα από αυτά την αγγειοδιαστολή. Αγγειοδιαστολή σε ορισμένα αγγεία προκαλούν κυρίως τα ισοπροστάνια που έχουν στο μόριό τους E-δακτύλιο. Ο μοριακός αυτός αγγειοδιασταλτικός μηχανισμός δεν έχει διευκρινισθεί μέχρι σήμερα.

## 2. Αγγειοσυσπαστικές δράσεις

Το ενδοθήλιο έχει επίσης αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες τις οποίες ασκεί μέσα από τη σύνθεση και την απελευθέρωση ή την ενζυματική μετατροπή των εξής ουσιών (2,5,21,22) :

### **Ενδοθηλίνας**

Υπάρχουν τρία είδη ενδοθηλινών και από αυτές η ενδοθηλίνη-1 έχει τη μεγαλύτερη σημασία για το καρδιαγγειακό σύστημα. Το κυριότερο παθοφυσιολογικό ερέθισμα για τη σύνθεση και την απελευθέρωση των ενδοθηλινών είναι η αγγειοτασίνη II. Τη βιοσύνθεση της ενδοθηλίνης προάγουν επίσης η θρομβίνη, οι ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου που αθροίζονται κατά την ισχαιμία και ο παράγοντας TGF (Transforming Growth Factor: Αυξητικός μετατρεπτικός παράγοντας) που προέρχεται από τα αιμοπετάλια, όταν αυτά συσσωρεύονται. Ανασταλτικά στη σύνθεση των ενδοθηλινών δρουν η PGI<sub>2</sub>, το NO και ο ANF (Atrial Natriuretic Factor: Κολπικός Αγγειοδιασταλτικός Παράγοντας). Οι ενδοθηλίνας δρουν διεγείροντας τους ET<sub>A</sub> και ET<sub>B</sub> υποδοχείς και ειδικά μέσω των πρώτων συσπούν τις λείες μυϊκές ίνες αυξάνοντας το ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup> σε αυτές, κινητοποιώντας το μέσα από το σχηματισμό της IP<sub>3</sub> (Inositol Triphosphate: τριφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη) αλλά και προκαλώντας την είσοδό του μέσα από την διάνοιξη διαύλων στην κυτταρική μεμβράνη. Αυτά συμβαίνουν σε παθολογικές καταστάσεις· όταν τα ποσά των ενδοθηλινών είναι μικρά, μπορούν να προκαλέσουν αγγειοδιαστολή διεγείροντας την απελευθέρωση NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσα από τους ET<sub>B</sub> υποδοχείς.

### **Θρομβοξάνη**

Το ενδοθηλιακό κύτταρο φαίνεται ότι έχει την ικανότητα να συνθέτει και θρομβοξάνη (TXA<sub>2</sub>) που εκτός από το ότι προάγει τη διέγερση και συγκόλληση των αιμοπεταλίων, είναι συγχρόνως και ισχυρός αγγειοσυσπαστικός παράγοντας. Συντίθεται από τη μεταβολική οδό του αραχιδονικού οξέος, το οποίο υπάρχει στα ζωικής προέλευσης λίπη, υπό την επίδραση της συνθετάσης της θρομβοξάνης, και διασπάται ταχύτατα προς την αδρανή θρομβοξάνη TXB<sub>2</sub>. Ο μεταβολισμός του εικοσιπεντανοϊκού οξέος, το οποίο υπάρχει στα ψάρια, δίνει ως τελικό προϊόν την επίσης αδρανή θρομβοξάνη TXA<sub>3</sub>.

### **Αγγειοτασίνη II**

Το ενδοθηλιακό κύτταρο επίσης συνθέτει και απελευθερώνει αγγειοτασίνη I και πιθανόν αγγειοτασίνη II. Ούτως ή άλλως, όμως, το ενδοθηλιακό κύτταρο διαθέτει το ένζυμο MEA που, όπως ήδη αναφέρθηκε, μετατρέπει την αδρανή αγγειοτασίνη I στην ισχυρή αγγειοσυσπαστική αγγειοτασίνη II, ενώ παράλληλα μεταβολίζει και αδρανοποιεί την αγγειοδιασταλτική βραδυκινίνη. Η αγγειοτασίνη II προάγει, μεταξύ άλλων, τη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών μέσω των AT<sub>1</sub> υποδοχέων, ενώ η διέγερση των AT<sub>2</sub> υποδοχέων έχει αγγειοδιασταλτικό χαρακτήρα.

### **Ισοπροστάνια**

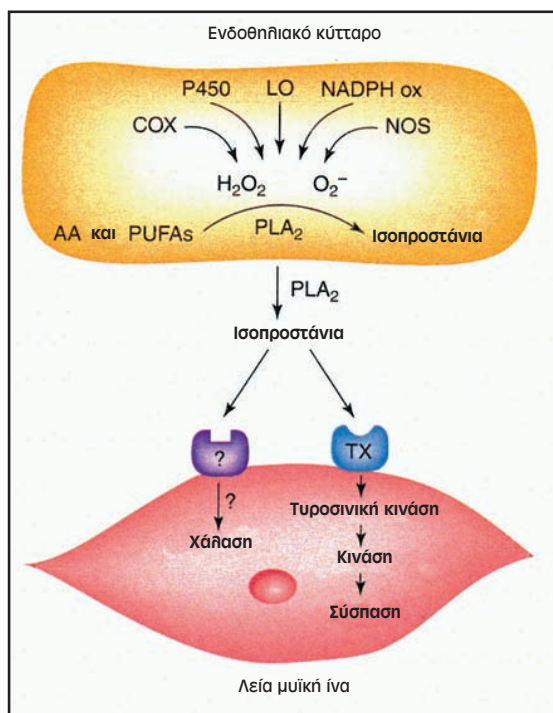
Τα ισοπροστάνια, στα οποία έχει γίνει αναφορά, θεωρούνται ότι αποτελούν μέρος των αγγειοσυσπαστικών ουσιών που καλύπτονται από τον γενικό όρο EDCFs (Endothelium Derived Contracting Factors: Αγγειοσυσπαστικοί παράγοντες προερχόμενοι από το ενδοθήλιο), παρόλο που κάποια από τα ισοπροστάνια, όπως αυτά που έχουν στο μόριό τους E-δακτύλιο, έχουν αγγειοδιασταλτική δράση σε ορισμένα αγγεία. Εντούτοις ο μοριακός αυτός αγγειοδιασταλτικός μηχανισμός δεν έχει διευκρινισθεί.

Η αγγειοσυσπαστική δράση των ισοπροστανίων μεθοδεύεται με τη διέγερση των υποδοχών TX της θρομβοζάνης. Η διέγερση των τελευταίων οδηγεί σε ενεργοποίηση της τυροσινικής κινάσης. Ακολουθεί η διέγερση των Rho-Rhoκινασών οι οποίες με τη σειρά τους καταστέλλουν τη δράση της φωσφατάσης της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης. Ως γνωστόν, η φωσφατάση αυτή οδηγεί στην πλήρη φωσφορυλίωση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης και σε αδρανοποίηση του μηχανισμού μυϊκής σύσπασης. Η καταστολή της δράσης της φωσφατάσης αυτής προάγει τη μυϊκή σύσπαση. Η αγγειοσυσπαστική αυτή δράση εξαρτάται από το  $Ca^{2+}$ , δεν είναι όμως γνωστό αν με το μηχανισμό αυτό αυξάνεται μόνο η ευαισθησία στο  $Ca^{2+}$ . Το πιθανότερο είναι ότι η εξάρτηση από τα ιόντα αυτά περιλαμβάνει και τη σύνθεση των προστανίων από το ενδοθηλιακό κύτταρο (20).

### **Αιμοδυναμικά ερεθίσματα**

Τα κυριότερα αιμοδυναμικά ερεθίσματα τα οποία ασκούνται στην επιφάνεια του ενδοθηλίου είναι η διατμητική τάση (wall shear stress) η οποία αναπτύσσεται από ένα κολλώδες ρούφηγμα (viscous drag) του αγγειακού τοιχώματος από το ρεύμα του κυκλοφορούντος αίματος και το κυκλικό τέντωμα (cyclic strain) του τοιχώματος αυτού, που οφείλεται στις κατά ώσεις μεταβολές της αρτηριακής πίεσης (23).

Τα μηχανικά αυτά ερεθίσματα στο ενδοθήλιο και οι απαντήσεις μέσω της απελευθέρωσης αγγειοδραστικών ουσιών φαίνεται ότι πραγματοποιούνται μέσω πολύπλοκων δραστηριοποιούμενων βιοχημικών δικτύων. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα φαίνεται ότι λειτουργεί ένας μηχανοϋποδοχέας (mechanoreceptor) ευαίσθητος στις μεταβολές τάσης της αυλικής επιφάνειας. Ο υποδοχέας αυτός αντιπροσωπεύει μηχανοευαίσθητους διαύλους ιόντων (SAIC: Stress Activated Anion Channels) οι οποίοι θα πρέπει κυρίως να ευαισθητοποιούνται από τις μεταβολές της σκελετικής δομής των κυττάρων. Τοπικά σημεία προσκόλλησης, κυστίδια (caveolae) και κυτταρικές επαφές αποτελούν επίσης σημεία που περικλείουν σηματοδοτούντα μόρια όπως οι ιντεγκρίνες. Η τάση που δημιουργείται από τα αιμοδυναμικά αυτά ερεθίσματα προκαλεί μια ανακατανομή των συνε-

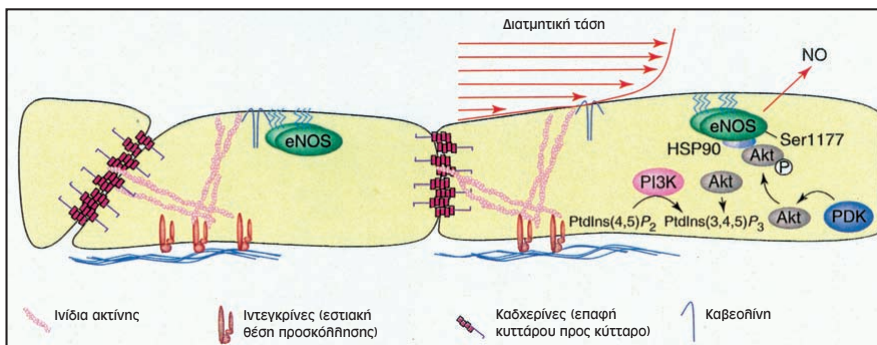


**Εικόνα 10.9: Προτεινόμενη σηματοδότηση από το ενδοθήλιο προς τις λείες μυϊκές ίνες μέσω της απελευθέρωσης ισοπροστανίων.** Πολλά ένζυμα όπως η COX (Cyclooxygenase: Κυκλοοξυγενάση), η LO (Lipoxygenase:Λιποοξυγενάση), το κυττόχρωμα P450, η NOS (NO Synthetase:Συνθετάση του NO) και η NADPH (ανηγμένη μορφή του NADP<sup>+</sup>) προάγουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα τη σύνθεση ελεύθερων ριζών οξυγόνου ( $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ ). Οι ρίζες αυτές διεγείρουν το μεταβολισμό του AA (Arachidonic Acid: Αραχιδονικό οξύ) και των PUFAs (Polyunsaturated Fatty Acids: Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα) τα οποία παράγουν ισοπροστάνια. Η PLA<sub>2</sub> (Phospholipase A<sub>2</sub>: Φωσφολιπάση A<sub>2</sub>) μπορεί και απελευθερώνει τόσο AA και PUFAs όσο και ισοπροστάνια. Τα ισοπροστάνια απελευθερώνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η αγγειοσυσπαστική δράση των ισοπροστανίων προάγεται από τη διέγερση των υποδοχέων TX της θρομβοξάνης η οποία οδηγεί σε ενεργοποίηση της τυροσινικής κινάσης και μέσω αυτής στη διέγερση των Rho-Rho-κινασών που με τη σειρά τους οδηγούν στην πλήρη φωσφορυλίωση της φωσφατάσης της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης. Η τελευταία, όταν είναι ελεύθερη, οδηγεί σε αδρανοποίηση το μηχανισμό της μυϊκής σύσπασης. Ο μοριακός αγγειοδιασταλτικός μηχανισμός των ισοπροστανίων δεν έχει διευκρινισθεί. *Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*

κτικών αυτών δυνάμεων, η οποία μετατρέπεται σε χημικό σήμα που μπορεί να μεταφέρεται και προς τον πυρήνα.

Τα μηχανικά αυτά ερεθίσματα προάγουν μέσω του σήματος που αναπτύσσεται τη σύνθεση και απελευθέρωση αγγειοδραστικών ουσιών όπως είναι το NO, η PGI<sub>2</sub>, ο EDHF, η ενδοθηλίνη και οι οξειδωτικές ρίζες.

Ενώ το NO που συντίθεται από το ενδοθηλιακό κύτταρο υπό την επίδραση ενδογενών αγωνιστών είναι 15-20 φορές περισσότερο από αυτό που συντίθε-



**Εικόνα 10.10: Μοντέλο ενεργοποίησης της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO (eNOS) στα ενδοθηλιακά κύτταρα που διεγείρονται από τη διατμητική τάση (shear stress).** Η eNOS ευρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη σε γεινίαση με την καβεολίνη σε ειδικούς θύλακες (caveolae). Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η καβεολίνη ασκεί ανασταλτική δράση με αποτέλεσμα να συντίθενται μικρές ποσότητες NO. Μεταβολές της διατμητικής τάσης προκαλούν αναδιαρθρώσεις στον κυτταρικό σκελετό και κινητοποιούν ένα μηχανο-χημικό σήμα στα κυστίδια, στις κυτταρικές επαφές και στις εστιακές θέσεις προσκόλλησης των ιντεγκρινών. Με την επακολουθούσα ενεργοποίηση των ιντεγκρινών και της φωσφατιδυλοϊνσιτολ-3-κινάσης (PI3K:Phosphatidylinositol-3-kinase) σχηματίζεται η 3,4,5 τριφωσφορική φωσφατιδυλοϊνσιτόλη {PtdIns(3,4,5,P<sub>3</sub>)}. Η τελευταία επιστρατεύει την ανενεργό Akt σερινοκινάση η οποία έρχεται στην κυτταρική μεμβράνη όπου φωσφορυλιώνεται και ενεργοποιείται από τη φωσφοϊνσιτιδοεξαρτώμενη κινάση (PDK: Phosphoinoside-Dependent Kinase). Η ενεργός πλέον Akt συνδέεται με την πρωτεΐνη θερμικής καταπληξίας 90 (HSP90:Heat Shock Protein 90), που με τη σειρά της είναι συνδεδεμένη με το σηματοδοτούν σύμπλοκο της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO (eNOS: endothelium NO Synthase) και φωσφορυλιώνει τη σερίνη 1177 στο τμήμα αναγωγής της eNOS. Με το μηχανισμό αυτό αυξάνει η δραστηριότητα της eNOS σε καταστάσεις συγκεντρώσεων ηρεμίας του Ca<sup>2+</sup>.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24:24-29,2003

ται υπό φυσιολογικές συνθήκες και απελευθερώνεται με τη μορφή βραχύβιου κύματος, στην περίπτωση της διατμητικής τάσης το ποσό του NO είναι διπλάσιο και η απελευθέρωσή του διαρκεί όσο διαρκεί και το ερέθισμα. Τα μηχανικά ερεθίσματα προάγουν την ενεργοποίηση των ιντεγκρινών και της φωσφατιδυλοϊνσιτολ-3-κινάσης (PI3K:Phosphatidylinositol-3-kinase) η οποία σχηματίζει την 3,4,5 τριφωσφορική φωσφατιδυλοϊνσιτόλη {PtdIns(3,4,5,P<sub>3</sub>)}. Η τελευταία επιστρατεύει την ανενεργό Akt σερινοκινάση η οποία έρχεται στην κυτταρική μεμβράνη όπου φωσφορυλιώνεται και ενεργοποιείται από τη φωσφοϊνσιτιδοεξαρτώμενη κινάση (PDK: Phosphoinoside-Dependent Kinase). Η ενεργός, πλέον, Akt συνδέεται με την πρωτεΐνη θερμικής καταπληξίας 90 (HSP90:Heat Shock Protein 90) που με τη σειρά της είναι συνδεδεμένη με το ενεργοποιούν σύμπλοκο της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO (eNOS: endothelium NO Synthase) και φωσφορυλιώνει τη σερίνη 1177 στο τμήμα αναγωγής της eNOS. Με το μηχανισμό αυτό αυξάνει η δραστηριότητα της eNOS σε καταστάσεις συγκεντρώσεων ηρεμίας του Ca<sup>2+</sup>. Παράλληλα, τα μηχανικά ερεθίσματα από τη διατμητική τάση επιτείνουν την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την eNOS και ισχυρο-



ποιούν την αντίστοιχη μεταγραφή παρατείνοντας τη σταθερότητα του mRNA. Σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με τη διατμητική τάση, η κυκλική διάταση του αγγειακού τοιχώματος δεν επηρεάζει την έκφραση της eNOS, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το ενδοθηλιακό κύτταρο είναι σε θέση να ξεχωρίζει τα μηχανικά ερεθίσματα.

Επίσης, και σε αντίθεση με τα παραπάνω, η κυκλική διάταση του αγγειακού τοιχώματος επηρεάζει θετικά και σαφώς ισχυρότερα από τη διατμητική τάση τη σύνθεση της PGI<sub>2</sub>. Αυτό οφείλεται στο ότι το μηχανικό αυτό ερέθισμα αυξάνει το ελεύθερο ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup> στο ενδοθηλιακό κύτταρο, γεγονός που οδηγεί στη διέγερση της κυκλοοξυγενάσης-1 (COX-1: Cyclooxygenase-1), ενζύμου που ανοίγει το βιοχημικό μονοπάτι που οδηγεί στη σύνθεση της PGI<sub>2</sub>, μονοπάτι που με τη σειρά του είναι το κυρίαρχο στο είδος αυτό των κυττάρων.

Παράλληλα, η κατά ώσεις διάταση του αγγειακού τοιχώματος αυξάνει μέσω της διέγερσης του κυττοχρώματος P450 τη σύνθεση και απελευθέρωση ενός από τους υπερπολωτικούς παράγοντες EDHF που είναι τα EETs, στους οποίους έχει γίνει ήδη αναφορά. Η σημασία του παράγοντα EDHF που εξουδετερώνεται από το παραγόμενο NO είναι μικρή υπό φυσιολογικές συνθήκες. Σε συνθήκες, όμως, δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου, όπως συμβαίνει σε καρδιαγγειακές παθήσεις, το απελευθερούμενο NO είναι μειωμένο είτε γιατί περιορίζεται η σύνθεσή του είτε γιατί εξουδετερώνεται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Στις καταστάσεις αυτές, ο EDHF ασκεί πλέον κυρίαρχο αγγειοδιασταλτικό ρόλο.

Η σύνθεση ελεύθερων οξειδωτικών ριζών γίνεται υπό φυσιολογικές συνθήκες και από το αγγειακό τοίχωμα. Τόσο η διατμητική τάση όσο και η κυκλική διάταση του αγγειακού τοιχώματος προάγουν εκτός από τη σύνθεση του NO και τη σύνθεση οξειδωτικών ριζών και κυρίως του οξειδωτικού ανιόντος (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Παρόλο που η σύνθεση του O<sub>2</sub><sup>-</sup> καταλύεται από διάφορα ένζυμα όπως η eNOS, η COX, η PLA<sub>2</sub> και η NADPH (ανηγμένη μορφή του NADP<sup>+</sup>), η τελευταία φαίνεται να έχει βασικό ρόλο καθώς τα μηχανικά αυτά ερεθίσματα αυξάνουν τη γονιδιακή έκφραση της p22<sup>phox</sup> που αποτελεί υπομονάδα της οξειδάσης αυτής. Οι οξειδωτικές αυτές ρίζες αφενός προάγουν την αγγειακή σύσπαση, αφετέρου διεγείρουν μεταγραφικούς παράγοντες όπως οι NF-κB, Elk-1, STAT-1 και AP-1, οι οποίοι, με τη σειρά τους, προάγουν την έκφραση γονιδίων τα οποία είναι ευαίσθητα σε οξειδοαναγωγικές μεταβολές. Το αποτέλεσμα είναι ο πολλαπλασιασμός και η μετανάστευση κυτταρικών στοιχείων του αγγειακού τοιχώματος, η αγγειογένεση και η επιβίωση ή η απόπτωση των κυττάρων αυτών.

Επίσης, η διατμητική τάση καθώς και η κυκλική διάταση του αγγειακού τοιχώματος προάγουν τη σύνθεση της ενδοθηλίνης-1. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, παρατηρείται μια παροδική αναβάθμιση της γονιδιακής έκφρασης αυτής της αγγειοσυσπαστικής ουσίας που ακολουθείται από μια σταθερή καταστολή. Ωστόσο, υπό συνθήκες αυξημένης ενδοαγγειακής πίεσης, όπως συμβαίνει

στην υπέρταση, η σύνθεση της ενδοθηλίνης-1 φαίνεται ότι επιτείνεται.

### Επίδραση στους μηχανισμούς θρόμβωσης και φλεγμονής

Το ενδοθήλιο ελέγχει τη διέγερση και συγκόλληση των αιμοπεταλίων, ενώ επηρεάζει τόσο θετικά όσο και αρνητικά τους μηχανισμούς θρόμβωσης. Η λειτουργία του αποσκοπεί στη δυναμική ισορροπία μεταξύ θρομβωτικών, αντιθρομβωτικών και θρομβολυτικών μηχανισμών (4-9,12,23,24).

Το ενδοθήλιο δρά ανασταλτικά στους μηχανισμούς θρόμβωσης. Η ανατομική συνέχεια του ενδοθηλίου είναι ουσιώδης για τη λειτουργία αυτή και το αρνητικό φορτίο των κυττάρων αυτών που οφείλεται στην παρουσία των πρωτεογλυκανών και κυρίως της ηπαράνης φαίνεται ότι συμβάλλει επίσης στην αναστολή των μηχανισμών θρόμβωσης. Η ανασταλτική του δράση όσον αφορά τη διέγερση και τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων ασκείται κυρίως μέσω της  $PGI_2$  αλλά και του NO. Το ενδοθήλιο συνθέτει μόρια που ομοιάζουν με την ηπαρίνη και είναι γλυκοζαμινογλυκάνες, καθώς, επίσης, και τη θρομβομοδουλίνη. Τα πρώτα αντιδρούν με την αντιθρομβίνη III και προκαλούν την ενδοκύττωση των μορίων της θρομβίνης. Η δεύτερη δρά μέσα από τη διέγερση της πρωτεΐνης C.

Παράλληλα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι σε θέση να συνθέτουν θρομβογόνους παράγοντες ιδιαίτερα όταν διεγείρονται από τις κυτταροκίνες και άλλους φλεγμονώδεις παράγοντες. Η αγγειοτασίνη II, που η σχέση της με το ενδοθηλιακό κύτταρο αναλύθηκε επαρκώς, διεγείρει την έκκριση του χημειοτακτικού παράγοντα PAF (Platelet Activating Factor: Παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων). Ο PAF είναι ένα φωσφολιπίδιο που διεγείρει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων. Συντίθεται από ορισμένα κύτταρα όπως τα λευκοκύτταρα, τα αιμοπετάλια, οι ινοβλάστες και ορισμένα νεφρικά κύτταρα. Συντίθεται και απελευθερώνεται από τα παραπάνω κύτταρα σε απάντηση ερεθισμάτων και δεν αποθηκεύεται, αλλά μεταβολίζεται (24).

Ο PAF, όμως, συντίθεται και από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, εδώ όμως φαίνεται ότι δεν απελευθερώνεται, αλλά δρα μέσα από τα κύτταρα αυτά. Η ουσία αυτή ασκεί προφλεγμονώδεις ενέργειες. Προάγει την αγγειοδιαστολή και συσπώντας τα ενδοθηλιακά κύτταρα αυξάνει τη διαβατότητα των αγγείων σε υγρά και έμμορφα στοιχεία του αίματος. Ο PAF αποτελεί χημειοτακτικό παράγοντα για τα ηωσινόφιλα, τα ουδετερόφιλα και τα μονοπύρρηνα λευκοκύτταρα του αίματος. Προάγει την έκφραση των πρωτεϊνών εκείνων του εσωτερικού τοιχώματος των αγγείων που αναγνωρίζουν και συνδέονται με τα ουδετερόφιλα. Προκαλεί, κατά συνέπεια την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο αγγειακό τοίχωμα και τη διαπίδυσή τους στον μεσοκυττάριο ιστό. Η ενεργοποίηση πάλι των φαγοκυττάρων έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση και την απελευθέρωση των ισχυρών φλεγμονογόνων κυτταροκινών, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγο-

νται ο TNF-α ( Tumour Necrosis Factor: Νεκρωτικός των όγκων παράγοντας-α) και η ιντερλευκίνη-1β (24,25).

Το ενδοθήλιο συνθέτει παράλληλα τον ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (tPA: tissue Plasminogen Activator) καθώς και τον αναστολέα του (PAI-I: Plasminogen Activator Inhibitor-I), ενώ μέσω της φιβρινονεκτίνης και της θρομβοσπονδίνης δεσμεύει το πλασμινογόνο στην επιφάνειά του.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συμμετέχουν στο μεταβολισμό των λιπιδίων διαθέτοντας το ένζυμο λιποπρωτεϊνική λιπάση που διασπά τα τριγλυκερίδια καθώς και υποδοχείς για την LDL και την οξειδωθείσα μορφή της oxLDL (4,26).

### **Ενδοθήλιο και δομή του αγγειακού τοιχώματος**

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα επηρεάζουν και έμμεσα τον αγγειακό τόνο μέσω της επίδρασης την οποία ασκούν στη δομή του αγγειακού τοιχώματος. Οι δράσεις αυτές διακρίνονται με τη σειρά τους σε άμεσες και σε έμμεσες. Οι δράσεις αυτές πραγματοποιούνται μέσα από τη σύνθεση και απελευθέρωση διαφόρων παραγόντων.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, μεταξύ άλλων, συνθέτουν και απελευθερώνουν αυξητικούς παράγοντες καθώς και αναστολείς αυτών (3,6,20,27).

Οι κυριότεροι αυξητικοί παράγοντες που συντίθενται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι ο PDGF (Platelet Derived Growth Factor: Αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων) και ο EGF ( Epidermal Growth Factor:Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας ). Η καταστροφή του ενδοθηλίου ευνοεί την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο αγγειακό τοίχωμα και την απελευθέρωση από αυτά του PDGF.

Επίσης, είναι γνωστός ο ρόλος της αγγειοτασίνης II σε σχέση με την υπερπλασία του αγγειακού μυϊκού τοιχώματος, καθώς και η σχέση της τελευταίας με το ενδοθηλιακό κύτταρο. Συγκεκριμένα, η αγγειοτασίνη II διεγείρει τη μετανάστευση, τον πολλαπλασιασμό και την υπερτροφία κυτταρικών στοιχείων του αγγειακού τοιχώματος όπως είναι οι λείες μυϊκές ίνες και οι ινοβλάστες. Το ίδιο κάνει και στις πρωτεΐνες στρώματος. Την ενέργεια αυτή ασκεί μέσα από την αυξημένη έκφραση πρωτοογκογονιδίων, τη διέγερση της παραγωγής αυξητικών παραγόντων αλλά και έμμεσα μέσα από τα αιμοδυναμικά φαινόμενα που προκαλεί.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν και αντιαυξητικούς παράγοντες. Συνθέτουν το NO, τις θειικές ηπαράνες και τον TGF-β που είναι ισχυροί αναστολείς της μετανάστευσης και του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών ινών. Επίσης το NO αναστέλλει την προσκόλληση των μονοκυττάρων που αφενός είναι βασικοί παράγοντες για την ανάπτυξη της αθηρωσκλήρυνσης, αφετέρου απελευθερώνουν αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες για τις οποίες έγινε ήδη λόγος. Υπό φυσιολογικές συνθήκες οι παράγοντες αυτοί υπερισχύουν.

Με την πάροδο της ηλικίας, το αγγειακό τοίχωμα παρουσιάζει σκληρότητα και ακαμψία και αυξημένη έκφραση της iNOS. Η φλεγμονή η οποία συνυπάρχει με την εξελισσόμενη αθηρωμάτωση και η παρουσία οξειδωτικών ριζών ανταγωνίζονται τις προστατευτικές δράσεις του ενδοθηλίου και το οδηγούν σε δυσλειτουργία (28).

### **Φάρμακα που επηρεάζουν τη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου**

Στα προηγούμενα κεφάλαια αναφέρθηκαν οι ουσίες που συντίθενται από το ενδοθήλιο, καθώς, επίσης, και οι λειτουργίες που διέπονται από αυτές. Οι περισσότερες από τις ουσίες αυτές αποτελούν στόχους φαρμακολογικών παρεμβάσεων από τις οποίες άλλες έχουν καθιερωθεί από μακρού χρόνου στην κλινική πράξη άλλες εφαρμόζονται δοκιμαστικά και, τέλος, άλλες αποτελούν πεδίο έρευνας. Η φαρμακολογική παρέμβαση μπορεί να αφορά τη βιοχημική οδό σύνθεσης ή τους τόπους δράσης των ουσιών αυτών. Παράλληλα, υπάρχουν φάρμακα που μιμούνται και επιτείνουν τη δράση πολλών από τις ενδογενείς αυτές ουσίες.

Στις γραμμές που ακολουθούν, παρουσιάζονται ορισμένα παραδείγματα.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα φαρμακολογικής παρέμβασης αποτελεί η αναστολή της δράσης του ΜΕΑ. Τα φάρμακα που αναστέλλουν τη δράση του ενζύμου αυτού εμποδίζουν τη μετατροπή της ανενεργού αγγειοτασίνης I προς την ενεργό αγγειοτασίνη II. Υπολογίζεται ότι η ιστική προέλευσης αγγειοτασίνη II αντιπροσωπεύει το 75% του συνόλου της ενδογενούς αυτής ουσίας και το ενδοθήλιο έχει σημαντικότερο ρόλο στην παραγωγή του ενζύμου αυτού. Στην κλινική πράξη τα φάρμακα αυτά χρησιμοποιούνται στην αγωγή της αρτηριακής υπέρτασης και της καρδιακής ανεπάρκειας.

Ο αποκλεισμός των διαύλων του  $Ca^{2+}$  με τα αντίστοιχα φάρμακα δρα ανασχετικά στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Αποκλειστές των L-διαύλων του  $Ca^{2+}$  όπως η νιφεδιπίνη ελαττώνουν την αγγειακή φλεγμονή και βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία σε πολλές καρδιαγγειακές παθήσεις, ενώ παράλληλα επιβραδύνουν την εξέλιξη της αθηρωματώδους διεργασίας. Οι μοριακοί μηχανισμοί δεν είναι επαρκώς κατανοητοί, καθώς είναι γνωστό ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα δεν διαθέτουν τους παραπάνω διαύλους του  $Ca^{2+}$ . Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του φαρμάκου αυτού ίσως να συμβάλλουν στις παραπάνω δράσεις (30).

Χαρακτηριστικό, επίσης, παράδειγμα χορήγησης ουσιών που επίσης παράγονται από το ενδοθήλιο αποτελεί ο rt-PA παράγοντας (recombinant tissue Plasminogen Activator), ο οποίος είναι προϊόν ανασυνδυασμένου DNA, ενεργοποιεί το πλασμινογόνο και χρησιμοποιείται στις θρομβολύσεις.

Τέλος, τα νιτρώδη και νιτρικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη στηθάγ-

χη μιμούνται το ενδοθήλιο με το να αποδίδουν NO στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και να προκαλούν τη χάλαση των τελευταίων. Ο μηχανισμός απόδοσης του NO είναι πολύπλοκος, απαιτεί την παρουσία γλουταθειόνης και την κατανάλωση σουλφυδρικών ομάδων, γεγονός που οδηγεί στα γνωστά φαινόμενα παροδικής ανοχής.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η προστακυκλίνη αναστέλλει τόσο όλες τις μορφές ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων όσο και την εξέλιξη της αγγειακής αθηρωμάτωσης. Η προστακυκλίνη συντίθεται από το ενδοθήλιο και από τις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος. Η αστάθεια, όμως, του μορίου της περιορίζει τις δυνατότητες χορήγησης στην κλινική πράξη. Έτσι, οι προσπάθειες στρέφονται στην ανεύρεση εκείνων των παραγώγων που θα αυξήσουν στο επιθυμητό όριο την ενδογενή παραγωγή της. Ο στόχος, όμως, αυτός προϋποθέτει την όσο το δυνατόν καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών σύνθεσης της προστακυκλίνης αλλά και τον έλεγχο μεγάλου αριθμού ουσιών πρώτα *in vitro* και ύστερα *in vivo* ως προς την ικανότητα τους να διεγείρουν την σύνθεσή της (17).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Skidgel R., Erdos E.: Histamine, bradykinin and their antagonists. In: Brunton L. et al (eds) "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw -Hill, New York pp 629-651, 2006
2. Baker D., VanLenten B., Fogelman A., Edwards P.,Kean C. and Berliner J.: LDL scavenger and beta VLDL receptors on aortic endothelial cells. *Arteriosclerosis* 4:357-364,1984
3. Campbell W. And Halushka P.: Lipid derived autocoids. In: Hardman J. et al (eds) "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw -Hill, New York pp 669-686,2001
4. Cannan C., McGoon M.,Holmes D. and Lerman A.: Altered coronary endothelial function in a patient with asymptomatic left ventricular dysfunction. *Int. J.Cardiol.* 53:147-151,1996
5. Clavell A. and Burnett J.: The role of endothelin in congestive heart failure. . In: Luscher T. (ed) «The endothelium in cardiovascular disease». Springer-Verlag, Berlin pp 33-42,1995
6. Luscher T. and Noll G.: The endothelium as a regulator of vascular tone and growth. In: Luscher T. (ed) « The endothelium in cardiovascular disease ». Springer-Verlag, Berlin pp 1-24,1995
7. Schulz R. and Triggle R.: Role of NO in vascular smooth muscle and cardiac function. *Trends Pharmacol.Sci.*15:255-259,1994
8. Zilla P., Oppel U. and Deutsch M.: The endothelium. A key to the future. *J. Cardiovasc. Surg.* 8:32-60,1993
9. Diaz-Velez C., Garcia-Castineiras S.,Mendoza-Ramos E. and Hernadez Lopez E.: Increased malondialdeylde in peripheral blood of patients with congestive heart failure. *Am.Heart J.* 131:146-152,1996
10. Λευκός Ν.: Ενδοθήλιο και καρδιαγγειακές παθήσεις. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 2000
11. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Το ενδοθήλιο παράγοντας αγγειορύθμισης. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 11:311-315,1994
12. DiCorleto P. and Hassid A.: Growth factor production by endothelial cells. In: Ryan U. (ed) «Endothelial cells», CRC Press, Boca Raton pp 51-62,1988
13. Douglas S., Meek T. and Ohlstein E.: Novel receptor antagonists welcome a new era in endothelin biology. *Trends Pharmacol. Sci.* 15:313-316,1994
14. Drexler H., Kurz S.,Jeserich M., Munzel T.,Hornig B.: Effect of chronic angiotensin converting enzyme inhibition on endothelial function in patients with chronic heart failure. *Am.J.Cardiol.* 76:13E-18E,1995
15. Busse R., Edwards G., Feletou M., Fleming I.: EDHF. Bringing the concepts together. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:374-379,2002
16. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ., Σακαντάμης Γ.: Ενδοθήλιο και αγγειακός τόνος. *Καρδιολογική Επιθεώρηση* 29:1-5,1988

17. Kokkas B., Boeynaems J.M.: Blood vessel wall and prostacyclin biosynthesis. *Sci. Ann. Fac. Med. Thessaloniki* 17 :171-178, 1988
18. Selemidis S., Cocks t.: Endothelium-dependent hyperpolarization as a remote antiatherogenic mechanism. *Trends Pharmacol. Sci* 23:213-220,2002
19. Gollasch M., Dubrovskaja G.: Paracrine role for periadventitial adipose tissue in the regulation of arterial tone. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:647-653,2004
20. Janssen L.: Are endothelium-derived hyperpolarizing and contracting factors isoprostanes? *Trends Pharmacol. Sci.* 23:59-61,2002
21. DzauV.,Packer M.,Lily L.,Swartz S., Hollenberg N. and Williams G.: Prostaglandins in severe congestive heart failure. *N.England J. Med.* 310:347-352,1984
22. Eder J.: Tumour necrosis factor  $\alpha$  and interleukin 1 signalling. *Trends Pharmacol.Sci.* 18:319-322,1997
23. Busse R., Fleming I.: Regulation of endothelium-derived vasoactive autacoid production by hemodynamic forces. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:24-29,2003
24. Elkayant U.,Cohen G.,Gogia H., Mehran A.,Johnson J. and Handraratna P.: Renal vasodilatory effect on endothelium stimulation in patients with chronic congestive heart failure.*J.Amer.Coll.Cardiol.* 28:176-182,1996
25. Garland C.,Plane F.,Kemp B. and Cocks T.: Endothelium dependent hyperpolarization. A role in the control of vascular tone. *Trends Pharmacol.Sci.* 16:23-30,1995
26. Griendling K. and Wayne A.: Cellular biology of blood vessels. In: Wayne A. et al (eds). «Hurst's.The heart, arteries and veins ».McGraw-Hill, New York pp 125-141,1998
27. Jackson E. And Garrison J.: Renin and angiotensin. In: Hardman J. et al (eds) "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill, New York pp 809-842,2001
28. Kahn T. and Katz S.: Specific assessment of synthetic activity of the L-arginine-nitric oxide metabolic pathway at rest and during exercise in patients with heart failure and normal subjects.*Circulation (abstract)* 94:1-426,1996
29. Krause D., Purdy R., Pearce J., Duckles S.: Vascular neuroeffector mechanisms. The next 30 years. *Trends Pharmacol. Sci* 23:541-542,2002
30. Yamaqishi S., Nakamura K., Takenada K., Matsui T., Inoue H.: Pleiotropic effects of nifedipine on atherosclerosis. *Curr. Pharm. Des.* 12:1543-1547,2006





## ΕΝΔΕΚΑΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### **ΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ Ή ΝΙΤΡΟΞΕΙΔΙΟ, ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΑ**

Β. Α. Κόκκας και Κ. Λ. Παπαδόπουλος

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Το οξειδίο του αζώτου ή νιτροξειδίο (NO) είναι ένας ταχύς μεταβιβαστής που υπό ορισμένες συνθήκες μπορεί να αποβεί μια τοξική ελεύθερη ρίζα. Το NO υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι σε θέση να πυροδοτεί σήματα που μεθοδεύουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών απαντήσεων. Τα κυριότερα από αυτά είναι η αγγειοδιαστολή που εξαρτάται από το ενδοθήλιο, η ρύθμιση της νευρομεταβίβασης και η ανοσολογική απάντηση. Μείωση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής παρατηρείται σε πολλές διαταραχές του καρδιαγγειακού συστήματος, μεταξύ των οποίων οι σπουδαιότερες είναι η αρτηριακή υπέρταση, ο διαβήτης και η υπερχολεστερολαιμία. Τα φάρμακα που μπορούν να μιμηθούν ή να επηρεάσουν τις δράσεις του NO διακρίνονται σε εκείνα που αποδίδουν NO, σε εκείνα που επηρεάζουν τη σύνθεσή του και σε εκείνα που επηρεάζουν βιοχημικές οδούς που πυροδοτούνται από το NO.*

#### **Εισαγωγή**

Το οξειδίο του αζώτου ή νιτροξειδίο (NO) αποδεικνύεται με την πάροδο του χρόνου ότι είναι μία πολυδύναμη βιολογική μεταβιβαστική ουσία για την οποία καθημερινά αποκαλύπτονται νέοι βιοχημικοί ρόλοι, συμμετοχή σε όλο και περισσότερες φυσιολογικές λειτουργίες αλλά και δυνατότητες θεραπευτικών εφαρμογών. Το NO διαμεσολαβεί στη διεκπεραίωση σημάτων που καταλήγουν σε ιδιαίτερης σημασίας κυτταρικές λειτουργίες. Οι κυριότερες από αυτές είναι η αγγειοδιαστολή, η ρύθμιση της νευρομεταβίβασης, η ανοσοβιολογική ή

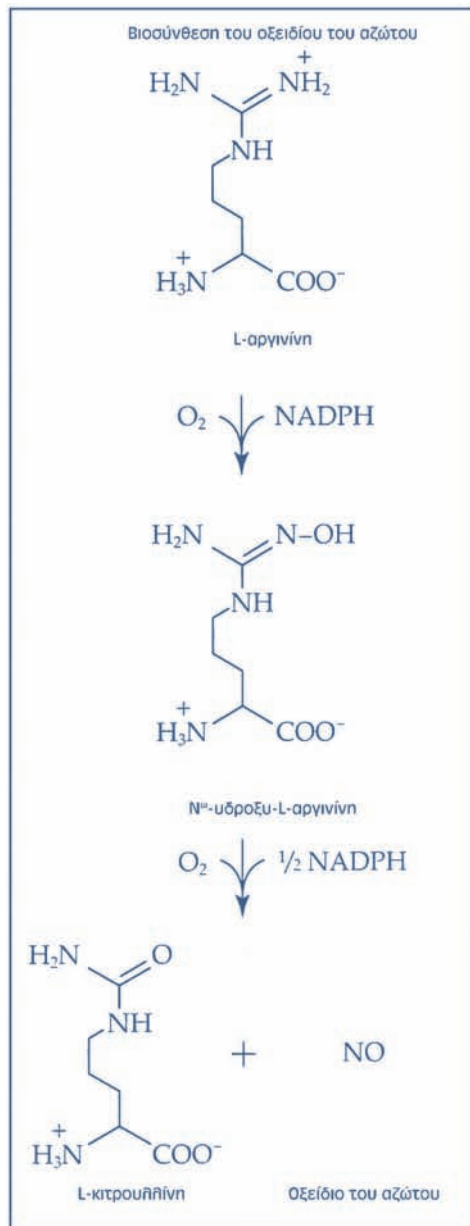
ανοσιακή απάντηση, η λειτουργία των μιτοχονδρίων και η γονιδιακή έκφραση. Νεότερα, όμως, δεδομένα αποδεικνύουν ότι το NO ασκεί και άλλες ενέργειες όπως αυτές που έχουν σχέση με τη συσταλτικότητα και την ανάπτυξη των σκελετικών μυών, τον έλεγχο του συνόλου του ισοζυγίου νατρίου και ύδατος του σώματος, τη σεξουαλική λειτουργία του άρρενος και την εξέλιξη του πυλωρικού σφιγκτήρα (1,2).

### **Βιοσύνθεση του οξειδίου του αζώτου**

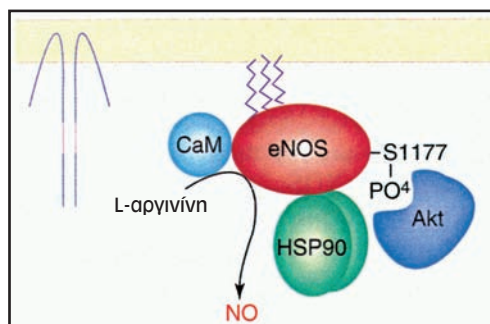
Στα κύτταρα, η συνθετάση του NO (NOS: NO Synthase) καταλύει τη μετατροπή της L- αργινίνης σε κιτρουλλίνη και NO παρουσία μοριακού οξυγόνου και με ενδιάμεσο προϊόν την N-υδροξυ- L- αργινίνη. Ουσίες όπως η τετραϋδροβιοπτερίνη, το φωσφορικό νικοτιδαμινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) και η φλαβίνη δρουν ως οξειδοαναγωγικοί συμπαράγοντες της όλης αντίδρασης. Ειδικότερα η τετραϋδροβιοπτερίνη μετατρέπει τα ηλεκτρόνια της αίμης στο μόριο της NOS σε κατάσταση υψηλής στροφορμής και επιταχύνει τη σύνδεση της αναγωγής του οξυγόνου με τη μετατροπή της αργινίνης σε κιτρουλλίνη. Το παραγόμενο NO ασκεί φυσιολογική δράση και μεθοδεύει βιολογικές απαντήσεις. Η οξειδωσή του από το υπεροξειδικό ανιόν προς την υπεροξινιτρική ρίζα ONOO<sup>-</sup> οδηγεί τόσο σε φυσιολογικά όσο και σε παθολογικά αποτελέσματα. Η ιστική υπεροξειδική δισμουτάση προστατεύει το ενδογενές NO από τους οξειδωτικούς παράγοντες. Αντίθετα, η ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη, μια ενδογενής ουσία η οποία ανταγωνίζεται τη συνθετάση του NO, αναστέλλει τη σύνθεση του τελευταίου (3-5).

### **Είδη συνθετασών του NO**

Υπάρχουν δύο είδη NOS: η δομική ή καταστατική ή θεμελιώδης (cNOS: constitutive NOS) και η επαγόμενη (iNOS: inducible NOS). Η cNOS είναι συνεχούς λειτουργίας και συνθέτει NO σε μικρές ποσότητες για την κάλυψη βασικών δραστηριοτήτων του κυττάρου. Αντίθετα, η διέγερση της iNOS οδηγεί στη σύνθεση πολλαπλάσιας ποσότητας NO με σκοπό την κάλυψη καταστάσεων ανάγκης. Η cNOS αντιπροσωπεύει περίπου το 95% της συνολικής NOS στον νευρικό ιστό (nNOS) και στα ενδοθηλιακά κύτταρα (eNOS). Η cNOS είναι ασβεστιοεξαρτώμενη και η ενεργοποίησή της εξαρτάται από το σχηματισμό του συμπλόκου Ca<sup>2+</sup>-καλμοδουλίνη. Η iNOS ευρίσκεται κυρίως στα μακροφάγα και τις λείες μυϊκές ίνες, ενώ στα άλλα κύτταρα απαντά σε μικρές ποσότητες. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η iNOS παραμένει μεταγραφικά σιωπηλή στους περισσότερους μη διεγερμένους ιστούς. Τα επίπεδα της iNOS που είναι ασβεστιοανεξάρτητη αυξάνονται ύστερα από την επίδραση στην κυτταρική μεμβράνη των κυτταροκινών ιντερλευκίνη-1β (IL-1β: Interleukin-1β) και του νεκρωτικού



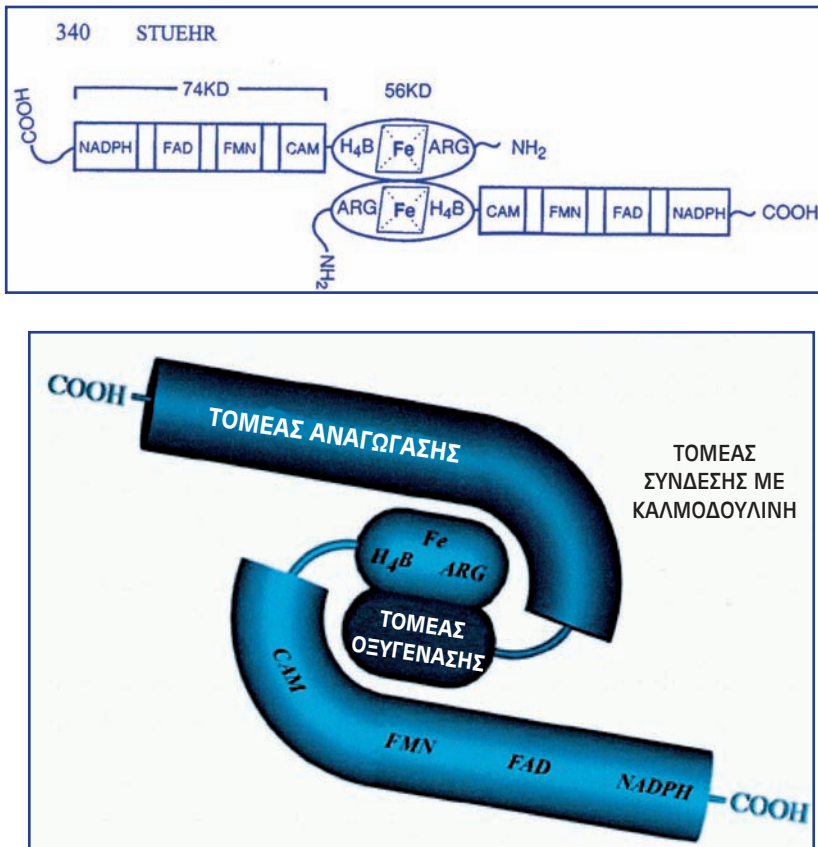
**Εικόνα 11.1: Βιοσύνθεση του οξειδίου του αζώτου.** Το οξείδιο του αζώτου (NO) συντίθεται από την L-αργινίνη σε δύο στάδια. Και τα δύο στάδια απαιτούν την παρουσία των NADPH,  $O_2$ ,  $Ca^{2+}$ , και η όλη αντίδραση επιταχύνεται από την τετραϋδροβιοπτερίνη.  
*Trends Pharmacol. Sci.* 20,1997



**Εικόνα 11.2: Ενεργοποίηση και απενεργοποίηση της eNOS (endothelial NO Synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO).** Η eNOS κατασκηνεί σε θυλάκους της κυτταρικής μεμβράνης απενεργοποιημένη σε σύμπλοκο με την καβεολίνη. Η ενεργοποίηση της eNOS από τα διάφορα ερεθίσματα έχει ως αποτέλεσμα να απαγκιστρώνεται η eNOS από την καβεολίνη (μωβ γραμμές) και να συνδέεται με την CaM (Calmodulin:Καλμοδουλίνη) και την HSP90 (Heat Shock Protein 90: Πρωτεΐνη θερμικής καταπληξίας 90), από τις οποίες και ενεργοποιείται. Αντίθετα, η σερίνο-θρεονινοκινάση Akt ή πρωτεϊνική κινάση Β την φωσφορυλιώνει στη θέση Ser 1177 και την αδρανοποιεί. *Trends Pharmacol. Sci.* 24,2003

των όγκων παράγοντα-α (TNF-α: Tumor Necrosis Factor-α) αλλά και διαφόρων βλαπτικών παραγόντων όπως είναι η ενδοτοξίνη και οι λιποπολυσακχαρίδες. Το αποτέλεσμα είναι, όπως ήδη αναφέρθηκε, η παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων NO. Αυτό συμβαίνει ιδιαίτερα σε φλεγμονώδεις διαδικασίες και στη σηψαιμική καταπληξία. Αντίθετα, ενδογενείς ουσίες όπως τα κορτικοστεροειδή, η δεξαμεθαζόνη, τα οιστρογόνα και ο μετατρέπτικός αυξητικός παράγοντας-β (TFG-β: Transforming Growth Factor-β) δρουν ανασταλτικά στην ενεργοποίηση της iNOS (1,2,6-9).

Υπάρχουν ενδείξεις ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες, στα κύτταρα που έχουν τόσο την cNOS όσο και την iNOS, το ίδιο το συντιθέμενο NO αναστέλλει τη σύνθεση νέου NO, όταν αυτό τείνει να ξεπεράσει ένα επίπεδο. Η ανασταλτική δράση του NO εκδηλώνεται στο επίπεδο της γονιδιακής μεταγραφής της iNOS. Δύο μηχανισμοί έχουν μέχρι σήμερα εξακριβωθεί. Ο πρώτος μηχανισμός αφορά σε ανασταλτική δράση του NO στον μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ (Nuclear Factor-κΒ) μέσω επαγωγής και σταθεροποίησης του IκΒ παράγοντα. Ο τελευταίος δρά ανασταλτικά στον παράγοντα NF-κΒ. Ο δεύτερος μηχανισμός αφορά στην αναστολή σύνδεσης του παράγοντα NF-κΒ με το αντίστοιχο στοιχείο ανταπόκρισης στην περιοχή του προαγωγέα του γονιδίου της iNOS. Στις φλεγμονώδεις, όμως, καταστάσεις η ανασταλτική αυτή δράση ανατρέπεται. Οι παράγοντες που διεγείρουν τη σύνθεση της iNOS και αφθονούν στις φλεγμονές και οι οποίοι αναφέρθηκαν προηγουμένως έχουν τη δυνατότητα να καταστέλλουν την cNOS και να ελαττώνουν τη σύνθεση του NO. Το αποτέλεσμα είναι να αίρεται η ανασταλτική δράση του NO στον παράγοντα NF-κΒ και να αφήνεται

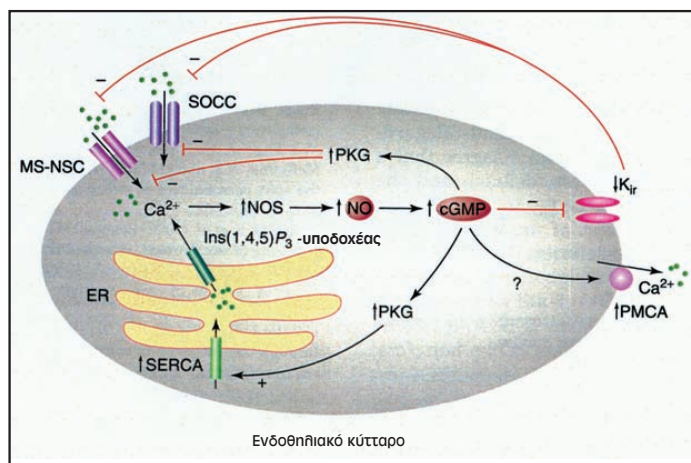


Εικόνα 11.3: Δομή του μορίου της iNOS (inducible NO Synthase: επαγόμενη συνθεάση του NO). Πρόκειται για διμερές δύο ίδιων μονάδων. Κάθε μονάδα αποτελείται από τρία τμήματα. Έναν τομέα αναγωγής της τάξης των 74 kDa που περιέχει τα στοιχεία FAD και FMN και χρησιμεύει στο να μεταφέρει ηλεκτρόνια από τη NADPH (ανηγμένη μορφή του NADP<sup>+</sup>) στο τμήμα της οξυγενάσης της απέναντι μονάδας. Έναν τομέα σύνδεσης με την καλμοδουλίνη (CAM: Calmodulin) που είναι απαραίτητος για την ενεργότητα όλων των ισόμορφων της NOS. Ερευνά τις μεταβολές του κυτταροπλασματικού Ca<sup>2+</sup> και η ακριβής λειτουργία του διαφέρει ελαφρά στα διάφορα ισόμορφα της NOS. Έναν τομέα οξυγενάσης της τάξης των 56 kDa. Περιέχει τη θέση σύνδεσης με την τετραϋδροβιοπτερίνη (H<sub>4</sub>B: tetrahydrobiopterin), με την αίμη (Fe) και την L-αργινίνη (ARG: L-Arginine). Ο τομέας αυτός καταλύει τη μετατροπή της L-αργινίνης σε κιτρουλλίνη και NO. *An. Rev. Pharmacol., 1997 και Dash P. Medline-Internet, 2005*

ελεύθερη η δράση της iNOS. Η αντίδραση του οργανισμού έρχεται από τους ενδογενείς παράγοντες που δρουν ανασταλτικά στην iNOS (2).

### Τι συμβαίνει στο ενδοθηλιακό κύτταρο

Όπως ήδη αναφέρθηκε, χαμηλά επίπεδα NO συντίθενται από την cNOS και



**Εικόνα 11.4:** Σχηματική παράσταση των μηχανισμών με τους οποίους το NO και η cGMP μπορούν να ελαττώνουν τη συγκέντρωση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πρόκειται για μηχανισμό εξισορρόπησης. Η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  μπορεί να προέλθει από το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER: Endoplasmic Reticulum) με τη διέγερση της  $\text{ins}(1,4,5)\text{P}_3$  (1,4,5 Inositol Triphosphate: 1,4,5 Τριφωσφορική ινοσιτόλη) και από τον εξωκυττάριο χώρο μέσω των διαύλων SOCCs (Store-Operated  $\text{Ca}^{2+}$  Channels: Δίαυλοι που ανοίγουν από την κένωση των ενδοκυττάριων αποθηκών του  $\text{Ca}^{2+}$ ) ή/και των διαύλων MS-NSCs (Mechanosensitive  $\text{Ca}^{2+}$  permeable nonselective cation channels: Μηχανοευαίσθητων διαπερατών αλλά μη εκλεκτικών στο  $\text{Ca}^{2+}$  διαύλων των κατιόντων). Η αύξηση του  $\text{Ca}^{2+}$  διεγείρει την eNOS (endothelial NO synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO) που οδηγεί στη σύνθεση οξειδίου του αζώτου (NO) και cGMP (cyclic Guanyl Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη). Τα αυξημένα επίπεδα της cGMP ελαττώνουν τα επίπεδα του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  με μηχανισμό ανάδρασης (feed back). Αυτό γίνεται μέσω πολλαπλών μηχανισμών όπως είναι η αναστολή εισόδου εξωκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  που μεθοδεύεται από την ενεργοποίηση της PKG (Protein Kinase G: Πρωτεϊνική κινάση G) η οποία συγχρόνως ενεργοποιεί και την πρωτεϊνική αντλία SERCA ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase:  $\text{Ca}^{2+}$ -ΑΤΡάση) που με τη σειρά της προάγει την επαναπρόληψη του  $\text{Ca}^{2+}$  από το ER. Επίσης, η cGMP αδρανοποιεί άμεσα τους διαύλους του  $\text{K}^+$  (inward-rectifying  $\text{K}^+$  channels: Προς τα έσω ανορθωτικοί διάυλοι του  $\text{K}^+$ ) και με τον τρόπο αυτό περιορίζει τη δύναμη προσέλκυσης του  $\text{Ca}^{2+}$  από τον εξωκυττάριο χώρο, ενώ συγχρόνως διεγείρει την αντλία PMCA (Plasma Membrane  $\text{Ca}^{2+}$  pump: Αντλία  $\text{Ca}^{2+}$  κυτταρικής μεμβράνης) που προάγει την έξοδο του  $\text{Ca}^{2+}$  προς τον εξωκυττάριο χώρο. Όπου (+) διέγερση, (-) αναστολή.

*Trends Pharmacol. Sci. 24,2003*

συμμετέχουν σε φυσιολογικές λειτουργίες, ενώ υψηλά επίπεδα NO συντίθενται από την iNOS και έχουν ρόλο σε παθολογικές διαδικασίες. Ειδικότερα στο ενδοθηλιακό κύτταρο, όπου πρώτα διαπιστώθηκε η σύνθεση του NO και οι μηχανισμοί είναι καλύτερα μελετημένοι, τα πράγματα έχουν ως εξής (1,10-12):

Η eNOS (endothelial NOS) είναι ένα μεταλλοένζυμο ικανό να δεσμεύει ψευδάργυρο (Zn), έχει υψηλή συγγένεια προς αυτόν και πιθανόν το μέταλλο αυτό να είναι το βασικό στοιχείο που συγκρατεί το διμερές της eNOS ενωμένο. Παρόλο που η eNOS είναι καταστατικό ένζυμο, η γονιδιακή της έκφραση ρυθμίζεται από διάφορα ερεθίσματα όπως είναι η υποξία, η διατμητική τάση (Shear stress)

και τα επίπεδα των οιστρογόνων. Προαγωγέας στο επίπεδο του DNA φαίνεται ότι είναι ο μεταγραφικός παράγοντας AP-1 (Activator Protein-1:Ενεργοποιός πρωτεΐνη-1) (1,3,7).

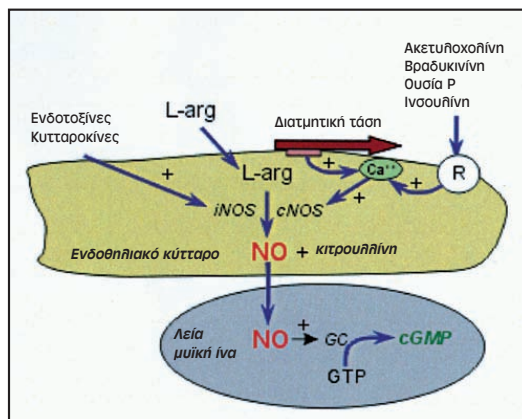
Υπάρχει η άποψη ότι η διέγερση της eNOS από τους αγωνιστές είναι ασβεστιοεξαρτώμενη και διαρκεί επί ολίγον, ενώ η διέγερση από την τάση διατμήσεως είναι ασβεστιοανεξάρτητη και διαρκεί επί μακρόν. Πιθανόν υπάρχει διαμεσολάβηση από μια τυροσινική κινάση που φωσφορυλιώνει κάποια ρυθμιστική πρωτεΐνη που συνδέεται με τη eNOS (3). Κατ' άλλη άποψη υπάρχει είσοδος  $Ca^{2+}$  από διαύλους που ενεργοποιούνται από την υπερπόλωση που προκαλεί η δι-άτμηση (12).

Η τριβή του αίματος στο ενδοθήλιο προκαλεί αύξηση του  $Ca^{2+}$  εντός του κυττάρου αυτού. Αυτό οφείλεται στην είσοδο του ιόντος αυτού μέσα από διαύλους που ανοίγουν με την τριβή του αίματος και την προκαλούμενη αποπόλωση. Αλλά και η διέγερση ορισμένων υποδοχέων στο ενδοθηλιακό κύτταρο από διάφορες ενδογενείς ουσίες και κυρίως ουσίες που είναι αυξημένες άμεσα και αντανακλαστικά κατά το στρες, τις ισχαιμικές καταστάσεις και τη διέγερση των αιμοπεταλίων, οδηγεί σε αύξηση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στο ενδοθηλιακό κύτταρο λόγω κινητοποίησης των ενδοκυττάρων αποθεμάτων μέσα από τους μηχανισμούς διέγερσης της φωσφολιπάσης C (PLC) οι οποίοι έχουν αναπτυχθεί σε άλλα κεφάλαια και οι οποίοι εν συντομία έχουν ως εξής (10):

Υποδοχείς που συνδέονται με την πρωτεΐνη  $G_q$  μεταφέρουν διεγερτικό μήνυμα προς την PLC στην κυτταρική μεμβράνη. Το αποτέλεσμα είναι η υδρόλυση της διφωσφορικής φωσφατιδυλινοϊσιτόλης ( $PIP_2$ ) προς την τριφωσφορική ινοσιτόλη ( $IP_3$ ) και τη διακυλογλυκερόλη (DAG). Οι δύο αυτοί δεύτεροι αγγε-λιαφόροι περνούν στο κυτταρόπλασμα και η μεν  $IP_3$  διεγείρει τους υποδοχείς της στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και απελευθερώνει  $Ca^{2+}$ , η δε διακυλογλυκερόλη διεγείρει την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) (10).

Η αύξηση του  $Ca^{2+}$  διεγείρει το σχηματισμό συμπλόκου " $Ca^{2+}$ -καλμοδουλίνη" το οποίο με τη σειρά του διεγείρει την eNOS. Το αποτέλεσμα είναι η μετατροπή της L- αργινίνης προς κιτρουλλίνη με παραπροϊόν το NO. Μία δομική πρωτεΐνη, η καβεολίνη, σχηματίζει σύμπλοκο με την eNOS και την αδρανοποιεί. Το σύμπλοκο αυτό διασπάται από το σύμπλοκο " $Ca^{2+}$ -καλμοδουλίνη" και η eNOS επανενεργοποιείται (1,10,11).

Η PKC έχει δράση κοντά στη μεμβράνη και φωσφορυλιώνει υπόλοιπα σε-ρίνης/θρεονίνης. Στα μακροφάγα έχει διαπιστωθεί ότι έχει τη δυνατότητα να διεγείρει με φωσφορυλίωση την παραχθείσα iNOS, ενώ συγχρόνως μέσω της διέγερσης της βιοχημικής οδού που μεθοδεύεται από την MAP (Mitogen Activated Protein: Πρωτεΐνη ενεργοποιούμενη από το μιτογόνο) ενεργοποιεί τη μεταγραφή γονιδίων που έχουν σχέση με τη σύνθεση της iNOS. Το παραγό-μενο NO δρα ανασταλτικά στη δράση της PKC (13).



**Εικόνα 11.5: Μηχανισμοί σύνθεσης και αγγειοδιαστολής από το NO.** Η διατμητική τάση και η διέγερση υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη του ενδοθηλιακού κυττάρου από ενδογενείς ουσίες όπως η ακετυλοχολίνη, η βραδυκινίνη, η ουσία P και η ινσουλίνη, προάγουν την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup> το οποίο διεγείρει το σχηματισμό συμπλόκου "Ca<sup>2+</sup>-καλμοδουλίνης", το οποίο με τη σειρά του διεγείρει τη NOS (NO Synthase: Σύνθετάση του NO). Το αποτέλεσμα είναι η μετατροπή της L-αργινίνης (L-arg) προς κίτρουλλίνη με παραπροϊόν το NO. Το παραγόμενο από το ενδοθήλιο NO διαχέεται προς τις λείες μυϊκές ίνες του μέσου αγγειακού χιτώνα όπου διεγείρει τη διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC: soluble Guanylcyclase). Αυτή καταλύει τη μετατροπή της GTP (Guanine Triphosphate: Τριφωσφορική γουανοσίνη) προς cGMP (cyclic Guanine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη), η οποία προάγει τη μυϊκή χάλαση. Όπου R (Receptor: Υποδοχέας).

*Br. J. Anaesthesia 93,2005*

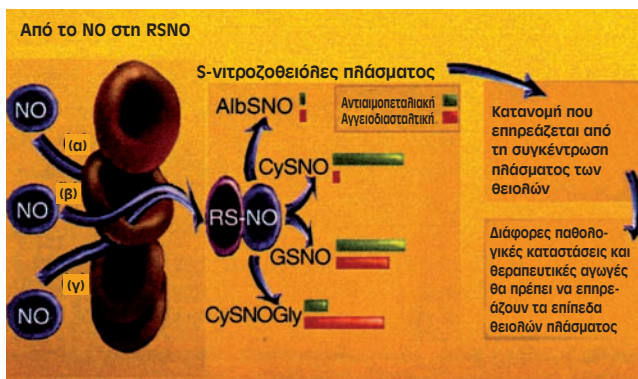
Η άποψη ότι η eNOS είναι ένα στατικό ένζυμο το οποίο παράγει NO σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις δεν ευσταθεί σήμερα. Η διατμητική τάση και τοπικά δρώσες ενδογενείς ουσίες είναι σε θέση να πολλαπλασιάζουν και την ποσότητα και το βαθμό ενεργότητας του ενζύμου αυτού. Παράλληλα, το συντιθέμενο NO και η cGMP (cyclic Guanosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη), της οποίας η σύνθεση διεγείρεται από το NO, ασκούν έναν μηχανισμό ανάκρουσης (feedback) στην περαιτέρω σύνθεση του NO προστατεύοντας το κύτταρο από τις βλαβερές συνέπειες της υπερβολικής του αύξησης (14,15).

### **Μεταφορά του NO δια της αιματικής ροής**

Υπάρχουν ισχυρά δεδομένα που καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η αιμοσφαιρίνη, εκτός από τη μεταφορά του οξυγόνου και του διοξειδίου του άνθρακα, είναι σε θέση να μεταφέρει και το οξείδιο του αζώτου (NO) σε διάφορα σημεία του σώματος (16,17).

Η αιμοσφαιρίνη έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζει τη βιοδιαθεσιμότητα του NO αντιδρώντας με αυτό και σχηματίζοντας αρχικά σιδηρούχο νιτρο-





**Εικόνα 11.6: Από το οξείδιο του αζώτου στις S-νιτροζοθειόλες.** Η αιμοσφαιρίνη έχει τη δυνατότητα να αδρανοποιήσει το οξείδιο του αζώτου (NO), τόσο το απελευθερούμενο όσο και το χορηγούμενο με φάρμακα. (α) Μετατροπή και αδρανοποίηση του NO προς RSNOs (S-Nitrosothiols: S-Nιτροζοθειόλες) από την αιμοσφαιρίνη. (β) Διαφυγή από την αδρανοποίηση και επιβίωση του NO στην ελεύθερη ερυθροκυττάρων ζώνη, γεγονός που εμποδίζει την είσοδό του στο ερυθρό αιμοσφαίριο και την αδρανοποίησή του από την αιμοσφαιρίνη. (γ) Διαφυγή από την αδρανοποίηση από την αιμοσφαιρίνη αλλά μετατροπή του NO προς RSNOs μέσω άλλων βιοχημικών δρόμων. Οι RSNOs ασκούν αγγειοδιασταλτικές και αντιαιμοπεταλιακές δράσεις διαφόρου βαθμού. Όπου AlbSNO (S-nitrosalbumin: S-νιτροζολευκωματίνη), CySNO (S-nitrosocysteine: S-νιτροζοκυστεΐνη), CySNOgly (S-nitrosocysteinylglycine: S-νιτροζοκυστεΐνογλυκίνη), GSNO (S-nitrosogluthathione: S-νιτροζογλουταθειόνη).

*Trends Pharmacol. Sci.* 25,2004

ζυλαιοσφαιρίνη και στη συνέχεια S-νιτροζοθειόλες. Αυτό επιτυγχάνεται με τη νιτροζύλιωση ενός υπολοίπου κυστεΐνης στη θέση 93 στη β-αλυσίδα του μορίου της αιμοσφαιρίνης με τελικό σχηματισμό S-νιτροζυλαιοσφαιρίνης (SNO-HB: S-nitrosohaemoglobin). Οι σχηματιζόμενες, τελικά, S-νιτροζοθειόλες μεταφέρουν και στη συνέχεια απελευθερώνουν το NO εξωκυττάρια με μηχανισμό ρυθμιζόμενο αλλοστερικά. Υπάρχει, επίσης, η σκέψη ότι οι νιτροζοθειόλες έχουν πολλές από τις βιολογικές δράσεις του NO και πιθανόν δρουν ως μια μορφή αποθήκευσης και μεταφοράς του τελευταίου, καθώς έχει εντοπισθεί η παρουσία τους στο κυκλοφορούν αίμα.

Οι μηχανισμοί αυτοί δεν λειτουργούν χωρίς φραγμούς. Η ύπαρξη μιας ελεύθερης ζώνης από ερυθροκύτταρα "erythrocyte free zone" στην περιφέρεια του αγγειακού αυλού και οι φραγμοί διάχυσης που απαντούν στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων και στις υπομεμβρανικές ενδοκυττάρια πρωτεΐνες στρώματος ελαχιστοποιούν τις αλληλεπιδράσεις του NO με την αιμοσφαιρίνη και εξασφαλίζουν ότι το διαχεόμενο δια του τοιχώματος NO επαρκεί για τη διέγερση της sGC και την τοπική προαγωγή της αγγειοδιαστολής.

### Μοριακοί μηχανισμοί δράσης του οξειδίου του αζώτου

Το παραγόμενο από το ενδοθήλιο NO, που έχει χρόνο υποδιπλασιασμού ( $t_{1/2}$ )

5-10 λεπτά, διαχέεται προς τις λείες μυϊκές ίνες του μέσου αγγειακού χιτώνα όπου διεγείρει τη διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC:soluble Guanylcyclase).

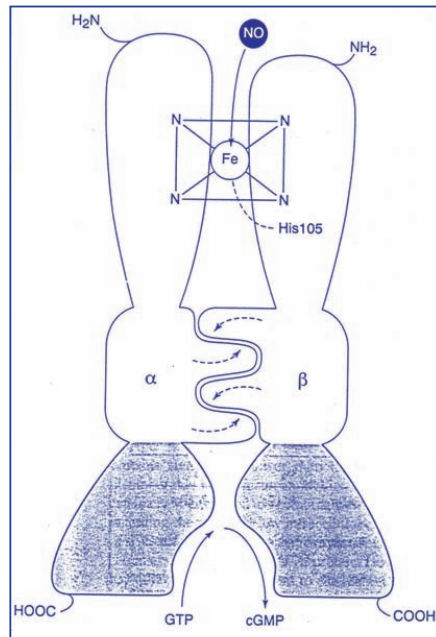
### **Δομή και ενεργοποίηση της διαλυτής γουανυλοκυκλάσης**

Η sGC είναι μια ετεροδιμερής πρωτεΐνη που αποτελείται από δύο υπομονάδες, την α και τη β, και υπάρχει σε πολλά ισόμορφα. Κάθε υπομονάδα αποτελείται από τρεις τουλάχιστον τομείς και δύο πέρατα. Η περιοχή του N-πέρατος συνιστά έναν τομέα που συνδέεται με αίμη. Στο κέντρο υπάρχει ένας τομέας διμερισμού. Ο τομέας διμερισμού είναι εκείνος που μεσολαβεί για το σχηματισμό του διμερούς που είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη της καταλυτικής ενεργότητας. Το C-πέρας συνιστά τον καταλυτικό τομέα. Η αίμη που περιέχεται στο μόριο της sGC συνδέεται με την ενζυμική πρωτεΐνη μέσω ενός αξονικού ιμιδαζολικού συνδέσμου. Το NO συνδέεται με την αίμη και με τη σύνδεση αυτή ενεργοποιείται η καταλυτική ομάδα (18).

Γνωρίζουμε ότι ο σίδηρος της αίμης μπορεί να συνδεθεί με έξι προσφύματα. Τέσσερις θέσεις σύνδεσης πληρούνται από τέσσερα άτομα αζώτου (N) των πορφυρινικών δακτυλίων, ενώ οι άλλες δύο θέσεις είναι κάθετες στο επίπεδο του δακτυλίου αυτού. Η σύνδεση του σιδήρου με το άζωτο του ιμιδαζολικού δακτυλίου της ιστιδίνης (His105) που αποτελεί το πέμπτο πρόσφυμα δίνει ένα σταθερό πεντασυντονισμένο σύμπλοκο. Η ιστιδίνη αυτή χαρακτηρίζεται ως εγγύς, ενώ η ιστιδίνη που είναι τοποθετημένη από την άλλη πλευρά του επιπέδου της αίμης, χωρίς όμως να συνδέεται με αυτήν, χαρακτηρίζεται ως άπω (18,19).

Η αίμη αποτελεί, όπως ήδη αναφέρθηκε, τον ενδοκυττάριο υποδοχέα για το NO. Επισημαίνεται, επίσης, η παρουσία πλην του σιδήρου της αίμης και του χαλκού στο μόριο του ενζύμου με πιθανό ρόλο συμπαράγοντα. Το ίδιο σημείο αποτελεί σημείο σύνδεσης για το μονοξείδιο του άνθρακα, πλην όμως η συγγενειά του προς το σημείο αυτό υπολείπεται κατά πολύ εκείνης του NO (18,20).

Η σύνδεση του NO με το σίδηρο της αίμης καταλήγει στο σχηματισμό ενός πεντασυντονισμένου συμπλόκου νιτροζυλιωμένης αίμης που διασπά το δεσμό της αξονικής ιστιδίνης και ενεργοποιεί το ένζυμο. Θεωρείται πιθανότερο ότι αυτή η δομική αλλαγή του ενζύμου στον αξονικό σύνδεσμο εκθέτει την καταλυτική θέση του ενζύμου στην τριφωσφορική γουανοσίνη (GTP: Guanosine Triphosphate). Στην πραγματικότητα, η σύνδεση του NO με την αίμη γίνεται σε δύο στάδια. Πρώτα το NO συνδέεται με την αίμη και σχηματίζει ένα εξασυντονισμένο σύμπλοκο "hexacoordinate complex", το οποίο στη συνέχεια μεταπίπτει σε ένα πεντασυντονισμένο σύμπλοκο νιτροζυλιωμένης αίμης "pentacoordinate nitrosyl-haem complex" με δύο τρόπους. Στο 25% περίπου της αίμης η μετατροπή αυτή γίνεται τάχιστα, ενώ για το υπόλοιπο η μετατροπή εξελίσσεται με βραδύτερο ρυθμό και φαίνεται να εξαρτάται από την αλληλεπίδραση του NO με κάποια άγνωστη θέση του ενζύμου που δεν έχει σχέση με την αίμη. Δεν είναι



**Εικόνα 11.7: Μοριακή δομή της διαλυτής γουανυλοκυκλάσης.** Η διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC:soluble Guanylyl cyclase) είναι μια ετεροδιμερής πρωτεΐνη που αποτελείται από δύο υπομονάδες, την α και τη β. Κάθε υπομονάδα αντικρίζει την άλλη και αποτελείται από μια αλληλουχία αμινοξέων που καταλήγει από τη μία μεριά σε ένα N-πέρασ και από την άλλη σε ένα C-πέρασ. Κάθε υπομονάδα αποτελείται από τρεις τουλάχιστον τομείς. Η περιοχή του N-πέρατος συνιστά έναν τομέα που συνδέεται με αίμη. Στο κέντρο υπάρχει ένας τομέας διμερισμού. Ο τομέας διμερισμού είναι εκείνος που μεσολαβεί για το σχηματισμό του διμερούς που είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη της καταλυτικής ενεργότητας. Το C-πέρασ συνιστά τον καταλυτικό τομέα. Η αίμη που περιέχεται στο μόριο της sGC συνδέεται με την ενζυμική πρωτεΐνη μέσω ενός αζονικού ιμιδαζολικού συνδέσμου. Το NO συνδέεται με την αίμη και με τη σύνδεση αυτή ενεργοποιείται η καταλυτική ομάδα.

*Trends Pharmacol. Sci, 18, 1997*

γνωστό αν στην όλη αυτή διαδικασία οι ομάδες θειόλης που περιέχει το ένζυμο παίζουν κάποιο ρόλο (18).

### **Ο ρόλος της κυκλικής γουανυλοκυκλάσης και της πρωτεϊνικής κινάσης G**

Η ενεργοποίηση της sGC καταλύει τη μετατροπή της GTP προς την cGMP, στην οποία έχει γίνει ήδη αναφορά. Η μετατροπή αυτή εξαρτάται από την παρουσία δισθενών κατιόντων όπως το  $Mg^{2+}$  και το  $Mn^{2+}$ . Το κυκλικό αυτό νουκλεοτίδιο διεγείρει την πρωτεϊνική κινάση G (PKG: Protein Kinase G) και προάγει τη χαλωση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος μέσω των φωσφορυλιώσεων που η τελευταία προκαλεί. Στη συνέχεια, η cGMP διασπάται από τις φωσφοδιεστεράσες I και III. Επίσης, όταν ανέλθει η συγκέντρωση της cGMP στο

κυτταρόπλασμα, τότε αποκτά τη δυνατότητα να εξέρχεται του κυττάρου και αυτός είναι ένας ακόμη αντιρροπιστικός μηχανισμός (10,11,18,21).

Η PKG φωσφορυλιώνει ορισμένα από τα υποστρώματα που φωσφορυλιώνει και η πρωτεϊνική κινάση A (PKA: Protein Kinase A) και ορισμένα άλλα υποστρώματα, προς τα οποία παρουσιάζει μόνο αυτή εξειδίκευση. Η PKG υφίσταται σε δύο ομόλογες μορφές, εκ των οποίων η PKGI ευρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και η PKGII σχετίζεται με την κυτταρική μεμβράνη, όπου μπορεί να ενσωματωθεί από τις πρωτεΐνες προσορμισμού (PKG-Anchoring Proteins) με τον ίδιο τρόπο που αυτό συμβαίνει στην PKA. Σε αντίθεση με την PKA, η PKG ασκεί τη δράση της χωρίς να αποδεσμεύεται από την cGMP (22).

Οι μηχανισμοί με τους οποίους επιτυγχάνεται η χάλαση των λείων μυϊκών ινών από τη δράση Ένα μέρος των μηχανισμών αφορά την ελάττωση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στις λείες μυϊκές ίνες. Οι λόγοι είναι αφενός η αναστολή της εισόδου του εξωκυττάρου  $Ca^{2+}$  ως αποτέλεσμα της φωσφορυλίωσης των διαιύλων του ιόντος αυτού στην κυτταρική μεμβράνη, αφετέρου η αναστολή της εξόδου του  $Ca^{2+}$  προς το κυτταρόπλασμα από το ενδοπλασματικό δίκτυο λόγω της φωσφορυλίωσης των υποδοχέων της  $IP_3$  στη μεμβράνη του δικτύου αυτού. Ένα άλλο μέρος των μηχανισμών αφορά τις φωσφορυλίωσεις, διεγερτικές ή ανασταλτικές, καθώς και τις αποφωσφορυλίωσεις οι οποίες γίνονται στις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στο μηχανισμό σύσπασης. Παρατηρείται εξασθένηση της διέγερσης που ασκεί το σύμπλοκο " $Ca^{2+}$ -καλμοδουλίνη" στην ελαφρά άλυσσο της μυοσίνης. Υπάρχει και η άποψη ότι η cGMP είναι σε θέση να κινητοποιεί μηχανισμούς που αποφωσφορυλιώνουν την ελαφρά άλυσσο της μυοσίνης και καθιστούν αδύνατη την ένωση της μυοσίνης και της ακτίνης και κατά συνέπεια τη μυϊκή σύσπαση. Σε ορισμένα είδη κυττάρων, όπως είναι τα καρδιακά, πιθανόν η cGMP να διεγείρει μηχανισμούς που ενεργοποιούν τη φωσφολαμβάνη ή φωσφοληπτίνη, πρωτεΐνη που εμποδίζει την επανείσοδο των  $Ca^{2+}$  στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, ώστε αυτό να απελευθερώνεται αθρόα κατά την επόμενη φάση της συστολής (10,11,18,20,21,23-25).

### **Εξισορροπητικοί μηχανισμοί**

Παρόλο που το NO δρα ελαττώνοντας το ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$ , σύμφωνα με αναφορές διεγείρει τους υποδοχείς της ρυανοδίνης στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και προάγει την απελευθέρωση του  $Ca^{2+}$ . Πιθανόν αυτός να είναι ένας αντιρροπιστικός μηχανισμός που εξασφαλίζει ισορροπίες, όταν η πτώση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  ξεπεράσει ορισμένα όρια. Αυτό γίνεται είτε μέσω της βιοχημικής οδού cGMP|PKG||cADPR (cyclic ADP Ribose) είτε με απ' ευθείας νιτροζυλίωση των θειολών που ρυθμίζουν τους υποδοχείς της ρυανοδίνης. Ως γνωστόν, η cADPR διεγείρει ή συμμετέχει στη διέγερση των υποδοχέων της ρυανοδίνης και προάγει την απελευθέρωση του  $Ca^{2+}$  (23).

Το NO και τα  $Ca^{2+}$  συνεργάζονται για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιό-

στασης. Δύο από τα ένζυμα που καταλύουν την αντίδραση σύνθεσης του NO, δηλαδή η eNOS και η nNOS, είναι ασβεστιοεξαρτώμενα. Αντίθετα, η cGMP η οποία είναι προϊόν αντίδρασης που καταλύεται από το NO ελαττώνει τα  $Ca^{2+}$ . Ρυθμιστικό ρόλο φαίνεται ότι ασκεί το NO μέσω της cGMP στους διαύλους του  $Ca^{2+}$  της κυτταρικής μεμβράνης που ανοίγουν με την κένωση των ενδοκυττάρων αποθηκών του στοιχείου αυτού (SOCCs: Store Operated  $Ca^{2+}$  Channels). Χαμηλές συγκεντρώσεις της cGMP ανοίγουν τους διαύλους αυτούς, ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις τους κλείνουν. Ως εκ τούτου, υπάρχει μια αμφίδρομη διασταυρούμενη συνομιλία (cross-talk) μεταξύ των δύο αυτών δεύτερων αγγελιαφόρων και η πλήρης εξακρίβωση των βιοχημικών οδών θα δώσει στόχους για φαρμακολογικές παρεμβάσεις (23).

### **Υπερπολωτικές δράσεις του οξειδίου του αζώτου**

Υπάρχουν, όμως, και απόψεις σύμφωνα με τις οποίες το NO μπορεί να προκαλέσει χάλαση των λείων μυϊκών ινών και μέσα από μηχανισμό υπερπόλωσης της κυτταρικής μεμβράνης, κάτι που από τη βιβλιογραφία αποδιδόταν μέχρι τώρα μόνο στον υπερπολωτικό παράγοντα EDHF ( Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor). Με βάση τις απόψεις αυτές, το NO διεγείρει την sGC και διασπά την GTP προς cGMP. Η τελευταία διεγείρει μία κινάση που εξαρτάται από αυτήν και φωσφορυλιώνει έναν τύπο διαύλου του  $K^+$ . Ο τελευταίος ενεργοποιείται και ανοίγει με αποτέλεσμα να εξέρχεται  $K^+$  προς τον εξωκυττάριο χώρο. Ακολουθεί υπερπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης και αδρανοποίηση των δυναμικοευαίσθητων διαύλων (POC: Potential Operating Channels) του  $Ca^{2+}$  με αποτέλεσμα την ελάττωση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$ , και τη χάλαση της λείας μυϊκής ίνας (3).

Με την ευκαιρία αυτή θα πρέπει να αναφερθεί ότι πρόσφατα αποκαλύφθηκε η ταυτότητα του παράγοντα EDHF στον οποίο έχει γίνει αναφορά σε προηγούμενο κεφάλαιο. Πρόκειται για προϊόν μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος που καταλύεται με τη δράση της εποξυγενάσης του κυττοχρώματος P450, και μάλιστα του ισοενζύμου CYP2C. Το προϊόν αυτό απαρτίζεται από τέσσερα στερεοϊσομερή του εποξυεικοσατριενικού οξέος (EETs: epoxyeicosatrienoic acids) και απελευθερώνεται από το ενδοθήλιο ύστερα από τη δράση αγωνιστών όπως η ακετυλχολίνη και η βραδυκινίνη. Τα EETs προκαλούν χάλαση των λείων μυϊκών ινών, γιατί ανοίγουν ασβεστιοεξαρτώμενους διαύλους  $K^+$  με αποτέλεσμα την υπερπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης λόγω της εξόδου του ιόντος αυτού. Παράλληλα, οι EETs έχουν και αντιφλεγμονώδεις ενέργειες με την ανταγωνιστική τους δράση έναντι ορισμένων κυτταροκινών που, μεταξύ άλλων, προάγουν τη σύνθεση των προσφυτικών ή προσκολλητικών μορίων των κυττάρων (CAMs: Cell Adhesion Molecules). Οι κυτταροκίνες αυτές προάγουν και τη σύνθεση της iNOS (26-28).

## Ρυθμιστικός ρόλος του οξειδίου του αζώτου σε φυσιολογικές λειτουργίες

Το NO στις διάφορες μορφές του και αναλόγως των συνθηκών μπορεί να συμπεριφέρεται από ταχέως δρων αγγελιαφόρος έως επαγωγέας μεταβιβαστής κυτταροτοξικότητας. Υπό φυσιολογικές συνθήκες τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αντίστοιχα νευρικά είναι οι κατ'εξοχήν δότες NO. Στο κεφάλαιο, όμως, αυτό η προσοχή εστιάζεται στα κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος.

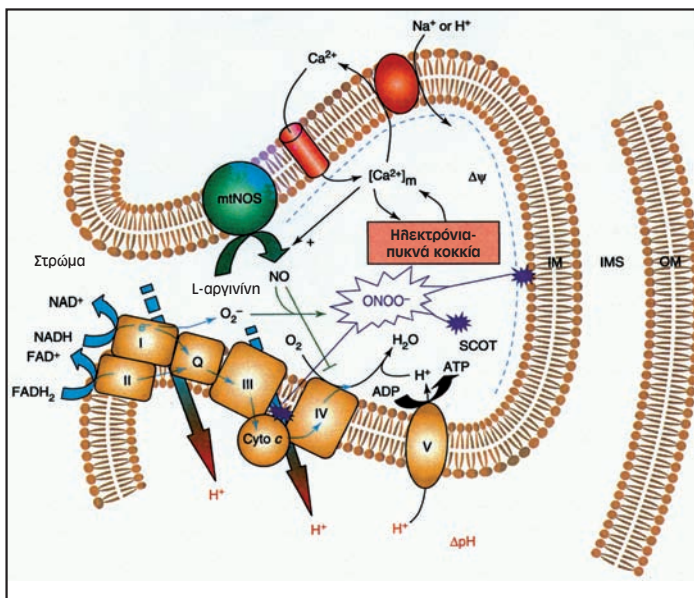
### Μιτοχόνδρια

Οξειδίο του αζώτου παράγεται και στα μιτοχόνδρια από τη mtNOS στην οποία τα  $Mg^{2+}$  ασκούν ανασταλτική δράση. Η δράση του ενζύμου αυτού είναι ασβεστοεξαρτώμενη και το παραγόμενο NO ελαττώνει τη μιτοχονδριακή κατανάλωση οξυγόνου και το διαμεμβρανικό δυναμικό μέσα από μια αντιστρεπτή αντίδραση με το κυττόχρωμα-c. Το κυττόχρωμα αυτό ευρίσκεται στο πέρασ της αναπνευστικής αλύσου και αποτελεί το σημείο όπου το οξυγόνο ανάγεται προς νερό. Το NO αναστέλλει με τους παραπάνω μηχανισμούς την πρόσληψη του  $Ca^{2+}$ . Ως εκ τούτου, η mtNOS δρα έμμεσα ως μηχανισμός ανάσχεσης στην υπερβολική πρόσληψη του ιόντος αυτού από τα μιτοχόνδρια (29).

Από τα ηλεκτρόνια που ρέουν στην αναπνευστική αλυσίδα, ένα 2-5% διαφεύγει προς τα έξω. Τα ηλεκτρόνια αυτά είναι υπεύθυνα για το τμήμα του οξυγόνου που μετατρέπεται σε υπεροξειδικό ανιόν και σε υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η αντίδραση του παραγόμενου NO με το υπεροξειδικό ανιόν οδηγεί ένα ποσοστό 15% στη σύνθεση της ρίζας του υπεροξυνιτρώδους με όλες τις γνωστές συνέπειες, ενώ το υπόλοιπο μετατρέπεται σε υπεροξειδίο του υδρογόνου. Το NO προάγει, επίσης, τη νιτροζυλίωση πρωτεϊνών της έσω μιτοχονδριακής μεμβράνης και του μεσοδιαμεμβρανικού διαστήματος, όπου το χαμηλό pH και το λιπόφιλο περιβάλλον ευνοούν ανάλογες αντιδράσεις. Πιστεύεται ότι η S-νιτροζυλίωση της κασπάσης-3 και του πρωτεϊνικού συμπλέγματος I στις περιοχές αυτές έχει σπουδαία σημασία στη ρύθμιση από τα μιτοχόνδρια του σήματος που διαμεσολαβείται από το NO (29).

### Αγγειακές λειτουργίες

Ο ρόλος του NO στη χάλαση του αγγειακού τοιχώματος που εξαρτάται από το ενδοθήλιο είναι ιδιαίτερα σημαντικός και αναπτύχθηκε επαρκώς. Παράλληλα, το NO αναστέλλει και άλλες παθολογικές εξεργασίες που έχουν σχέση με την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Μεταξύ αυτών αναφέρονται η ανασταλτική του δράση στη διέγερση των αιμοπεταλίων με ανάλογους μηχανισμούς. Ανασταλτική, επίσης, είναι η δράση του στην προσκόλληση και χημειοταξία των μονοκυττάρων και γενικά στην ανοσοβιολογική κυτταρική ενεργοποίηση



**Εικόνα 11.8: Σύνθεση NO από τα μιτοχόνδρια.** Τα μιτοχόνδρια παρουσιάζουν μια εξωτερική μεμβράνη (OM: Outer Membrane), ένα ενδιάμεσο διάστημα (IMS: Intermembrane Space) και μια εσωτερική μεμβράνη (IM: Inner Membrane). Η μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα ευρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη και αποτελείται από τα σύμπλοκα I-IV, το συνένζυμο Q και την ATP συνθετάση (ή σύμπλεγμα V). Η κυττοχρωμική c οξειδάση είναι το μόνο μέλος της αλυσίδας το οποίο ευρίσκεται στο ενδιάμεσο διάστημα. Τα σύμπλοκα αυτά της αναπνευστικής αλυσίδας είναι λειτουργικά διατεταγμένα με μια ηλεκτροχημική ιεραρχική σειρά που βασίζεται στα οξειδοαναγωγικά δυναμικά τους. Τα ηλεκτρόνια ( $e^-$ ) εισέρχονται στην αναπνευστική αλυσίδα (μπλε βέλη) μέσω οξειδώσεως είτε της NADH στο σύμπλεγμα I είτε της FADH στο σύμπλεγμα II και πορεύονται προς το σύμπλεγμα IV μετατρέποντας το  $O_2$  σε  $H_2O$ , ενώ ένα πολύ μικρό ποσοστό μετατρέπεται σε υπεροξειδικό ανιόν ( $O_2^-$ ) από άλλα συμπλέγματα της αναπνευστικής αλυσίδας. Τα πρωτόνια ( $H^+$ ) συζεύγνυνται με τη ροή των ηλεκτρονίων και περνούν μέσα από το στρώμα προς το ενδιάμεσο διάστημα (κόκκινα βέλη). Δεδομένου ότι η εσωτερική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη από τα πρωτόνια, και τα πρωτόνια μπορούν να ξαναμπούν στο στρώμα μόνο με το μηχανισμό της συνθετάσης της ATP, η παρουσία των πρωτονίων στο χώρο αυτό δημιουργεί ένα διαμεμβρανικό δυναμικό ( $\Delta\psi$ : αρνητικό εσωτερικά) και ένα ηλεκτροχημικό ρεύμα ( $\Delta pH$ : αλκαλικό εσωτερικά) κατά μήκος της μεμβράνης. Το  $\Delta\psi$  αποτελεί την κινητήρια δύναμη που φέρνει μεγάλες ποσότητες  $Ca^{2+}$  στα μιτοχόνδρια. Παρόλα αυτά η συγκέντρωση του μιτοχονδριακού  $[Ca^{2+}]_m$  διατηρείται χαμηλή με διάφορους μηχανισμούς. Τα μιτοχόνδρια κατακρανίζουν το  $Ca^{2+}$  ώστε να δημιουργήσουν δεξαμενές μη ιονισμένου ασβεστίου, όπως και για να τροφοδοτήσουν τα πυκνά κοκκία του στρώματος που είναι πλούσια σε άλατα ασβεστίου. Τα  $Ca^{2+}$ , εγκαταλείπουν επίσης τα μιτοχόνδρια, όταν το  $\Delta\psi$  πέσει, και αυτό γίνεται με ανταλλαγή με άλλα κατιόντα όπως το  $H^+$  και το  $Na^+$ . Τα μιτοχόνδρια παράγουν NO και η σύνθεση αυτή πραγματοποιείται από την ασβεστοεξαρτώμενη mtNOS η οποία είναι συνδεδεμένη με την εσωτερική μεμβράνη. Το συντιθέμενο NO ανταγωνίζεται το  $O_2$  για τις θέσεις σύνδεσης με το σύμπλεγμα IV και ρυθμίζει τη μιτοχονδριακή αναπνοή και τις συνέπειές της όπως το  $\Delta\psi$ , το  $\Delta pH$  και η κατακράτηση  $Ca^{2+}$ . Επίσης, το συντιθέμενο NO αντιδρά με το υπεροξειδικό ανιόν και σχηματίζει τη ρίζα του υπεροξεινιτρώδους ( $ONOO^-$ ) μέσα στα μιτοχόνδρια. Το τελευταίο απελευθερώνει το c-κυττόχρωμα, προκαλεί την υπεροξειδωση των μεμβρανικών λιπιδίων του οργανυλλίου αυτού, καθώς και διαφόρων ενζύμων εντός αυτού (μωβ).

*Trends Pharmacol. Sci.* 26,2005

και διήθηση. Τέλος, ανασταλτικά δρα στην αύξηση του μεγέθους και του αριθμού των λείων μυϊκών ινών της μέσης στιβάδας (7,30,31).

Σε περιπτώσεις χρόνιου τραυματισμού του ενδοθηλίου, η eNOS ασκεί προστατευτικό ρόλο αποτρέποντας την εξέλιξη προς αθηροσκλήρωση. Αυτό το επιτυγχάνει επιβραδύνοντας την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων και/ή συντηρώντας την παραγωγή του NO από το ενδοθήλιο. Επίσης, η eNOS αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος μέσα από μηχανισμούς πλειορύθμισης του παράγοντα p21 και με διακοπή του κυτταρικού κύκλου σε φάση  $G_0/G_1$ . Οι ενέργειες αυτές αναπτύσσονται ανεξάρτητα από τη δράση του παράγοντα p53 που, ως γνωστόν, είναι βασικός αποπτωτικός παράγοντας (1,10).

Ανταγωνιστικές όμως είναι και οι αλληλεπιδράσεις του NO με δύο από τις ισχυρότερες ενδογενείς αγγειοσυσπαστικές ουσίες, την αγγειοτασίνη II και την ενδοθηλίνη-1 (ET-1) (5,32-35).

Η αγγειοτασίνη II προάγει επίσης τα αποπτωτικά φαινόμενα και την αναδι-αμόρφωση του αγγειακού τοιχώματος, ενώ το NO ανταγωνίζεται τις ενέργειες αυτές και επιπλέον δρα ανασταλτικά τόσο στο MEA (Μετατρεπτικό Ενζυμο της Αγγειοτασίνης) όσο και στο επίπεδο των  $AT_1$ - υποδοχέων της ουσίας αυτής, τους οποίους και καθιστά υπολειπόμενους. Παράλληλα, η αγγειοτασίνη II διεγείρει μέσω των  $AT_2$ - υποδοχέων τη σύνθεση και στη συνέχεια την απελευθέρωση του NO και αυξάνει τη γονιδιακή έκφραση των NOS με σκοπό τη χαλιναγώγηση των διεγερτικών της δράσεων. Η ίδια, όμως, ουσία τροποποιώντας την οξειδοαναγωγική κατάσταση των αγγείων προάγει τον καταβολισμό του NO.

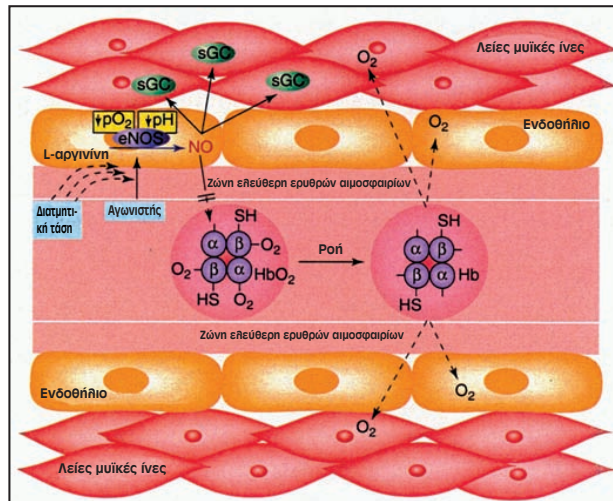
Η ET-1, πάλι, δρα ανασταλτικά στην ενεργοποίηση και τη λειτουργικότητα της iNOS, ενώ παράλληλα δρα ανασταλτικά και στο επίπεδο της γονιδιακής έκφρασης του ενζύμου αυτού. Συγχρόνως, όμως, το NO παρεμποδίζει μέσω της cGMP που σχηματίζει την επαγωγή της σύνθεσης της ET-1 από τη θρομβίνη.

### ***Ρόλος στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και στην απόπτωση***

Το NO παρουσιάζει ανασταλτική δράση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η ενέργεια αυτή οφείλεται σε ανασταλτική δράση σε ένζυμα που είναι απαραίτητα για τη σύνθεση των πολυαμινών εκείνων που με τη σειρά τους είναι απαραίτητες για τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου. Την ενέργεια αυτή ασκούν τόσο το NO όσο και άλλα παραπροϊόντα της βιοχημικής οδού που ξεκινά από την L-αργινίνη, όταν η τελευταία διεγερθεί από τη NOS (1,36-39).

Οι ενέργειες αυτές του NO έχουν μεγάλη σημασία για τη δομή και τη λειτουργία του αγγειακού τοιχώματος. Το NO προστατεύει το τοίχωμα αυτό από τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών με παράλληλη αύξηση της θεμέλιας ουσί-





**Εικόνα 11.9:** Φυσιολογική ρύθμιση του αγγειακού τόνου και της αιματικής ροής από το οξείδιο του αζώτου που συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Κυκλοφορούσες ενδογενείς ουσίες που δρουν ως αγωνιστές και η διαμητική τάση (shear stress) καθώς και μεταβολές του ιστικού pH και της pO<sub>2</sub> διεγείρουν την eNOS (endothelial NO Synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO), η οποία καταλύει τη μετατροπή της L- αργινίνης σε L- κιτρουλλίνη και NO. Το συντιθέμενο NO διεγείρει τη sGC (soluble Guanylcyclase: διαλυτή γουανυλοκυκλάση), η οποία καταλύει τη μετατροπή της GTP (Guanosine Triphosphate: Τριφωσφορική γουανοσίνη) προς cGMP (cyclic Guanosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη). Ο σχηματισμός της cGMP έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση του ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup> στις λείες μυϊκές ίνες και την τελική χάλαση αυτών. Η ύπαρξη μιας ελεύθερης ζώνης από ερυθροκύτταρα και οι φραγμοί διάχυσης που απαντούν στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων και στις ενδοκυττάρους πρωτεΐνες στρώματος ελαχιστοποιούν τις αλληλεπιδράσεις του NO με την αιμοσφαιρίνη (Hb) και εξασφαλίζουν ότι το διαχεόμενο δια του τοιχώματος NO επαρκεί για τη διέγερση της sGC. Εντούτοις, φαίνεται ότι ένα μικρό ποσό NO μεταφέρεται δια της Hb και σε άλλα σημεία του κυκλοφορικού συστήματος. Όπου α (α-Globin: α-σφαιρίνη), β (β-Globin: β-σφαιρίνη), οxyhaemoglobin (οξυαιμοσφαιρίνη). *Trends Pharmacol. Sci* 23, 2002

ας. Παρόμοιες καταστάσεις παρατηρούνται όταν το ενδοθήλιο δυσλειτουργεί και οφείλονται στη δράση αυξητικών παραγόντων που συντίθενται από το ίδιο και τα προσκολλώμενα αιμοπετάλια, ενώ παράλληλα το NO όχι μόνο αδρανοποιείται από τις οξειδωτικές ρίζες των μονοκυττάρων μετατρέπόμενο σε υπεροξυνιτρική ρίζα αλλά με τη μορφή αυτή επιτείνει το πρόβλημα.

Ο διπλός χαρακτήρας του NO εμφανίζεται και με την ικανότητα την οποία διαθέτει άλλοτε μεν να προστατεύει το κύτταρο από την απόπτωση άλλοτε δε να το οδηγεί σε αυτήν. Η κυτταρική απόπτωση είναι λεπτός και εν πολλοίς άγνωστος στις λεπτομέρειες μηχανισμός που αποσκοπεί στο να απομακρύνει χωρίς φλεγμονώδη φαινόμενα κύτταρα τα οποία ή δεν χρειάζονται πλέον στον οργανισμό ή έχουν υποστεί βλάβες που δεν είναι δυνατόν να αποκατασταθούν.

Ο μηχανισμός που κρύβεται πίσω από τη διαφορετική δράση του NO όσον αφορά την απόπτωση είναι άγνωστος. Ρόλο φαίνεται να παίζουν η επίδραση του NO στη βιοχημική οδό της cGMP, στη ρύθμιση της γονιδιακής μεταγραφής, στις απ' ευθείας βλάβες στο DNA ή στις επιδράσεις στα οξειδωτικά μονοπάτια (36,39-43).

Στην πλειονότητα των περιπτώσεων το NO ή τα προϊόντα οξειδωσής του δρουν διεγερτικά στο μηχανισμό της απόπτωσης με την πρόκληση μη ειδικών τραυματισμών στις κυτταρικές μεμβράνες και το DNA. Ο μηχανισμός που δεν είναι ακριβώς γνωστός μπορεί να γίνεται με τη μεσολάβηση της cGMP που ενεργοποιεί διάφορες πρωτεϊνικές κινάσες ή να είναι ανεξάρτητος από αυτήν (39,42).

Σε ορισμένες, όμως, περιπτώσεις το NO δρα ανασταλτικά στην απόπτωση. Ο μηχανισμός με τον οποίο το NO δρα ανασταλτικά στην κυτταρική απόπτωση οφείλεται είτε στο ότι αδρανοποιεί τις ενεργές κασπάσες, κομβικά ένζυμα στην όλη διαδικασία της απόπτωσης, με S-νιτροζυλίωση είτε γιατί αναστέλλει την ενεργοποίησή τους μέσα από βιοχημικές οδούς που εξαρτώνται από τη cGMP. Ένας άλλος προτεινόμενος μηχανισμός είναι η καταστολή της μιτοχονδριακής αναπνοής από το NO που καταλήγει σε ελάττωση της ενδοκυττάριας τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP: Adenosine Triphosphate). Με το μηχανισμό αυτό προλαμβάνεται η κατάτμηση του DNA, η συμπύκνωση της χρωματίνης και η εκτόπιση της φωσφατιδυλσερίνης προς την κυτταρική μεμβράνη η οποία και προσελκύει τα φαγοκύτταρα. Ουσίες, πάλι, που διεγείρουν την απελευθέρωση του NO, μπορούν επίσης να απελευθερώσουν αποπτωτικούς παράγοντες από τα μιτοχόνδρια (1,39,40).

Έχει παρατηρηθεί ότι, όταν η δράση του NO στο μηχανισμό της απόπτωσης είναι ανασταλτική, η δράση αυτή συνοδεύεται πολλάκις από διέγερση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (1,40).

Παράγοντες που θα επηρεάσουν το τι θα συμβεί τελικά φαίνεται να είναι η τοπική συγκέντρωση του NO, πιθανόν η χημική μορφή με την οποία απελευθερώνεται αυτό, το βιολογικό περιβάλλον από πλευράς οξειδοαναγωγικής κατάστασης, ο τύπος του κυττάρου, η βιοχημική οδός που θα ακολουθήσει ο αποπτωτικός μηχανισμός, το αν ο μηχανισμός αυτός είναι διεγερμένος και η παρουσία άλλων παραγόντων που είτε είναι άγνωστοι είτε υπάρχουν υποψίες για τη συμμετοχή τους στις διαδικασίες αυτές (1,36, 40,41).

Η αναστολή της αποπτωτικής διαδικασίας από το NO μπορεί να έχει δύο συνέπειες. Στην πρώτη περίπτωση δίνεται η δυνατότητα στο προβληματικό κύτταρο να αναλάβει και να επιβιώσει. Στη δεύτερη περίπτωση, όταν το αίτιο που προσέβαλε το κύτταρο είναι θανατηφόρο, αντί για απόπτωση θα υπάρξει νέκρωση με όλα τα επακόλουθα φλεγμονώδη φαινόμενα (40,41).

## Οξειδίο του αζώτου και παθολογικές καταστάσεις

### Οξειδωτικές ρίζες και NO

Το NO από μόνο του είναι μια πολύ δραστική ελεύθερη ρίζα. Η βιολογική δράση αυτού καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από την οξειδοαναγωγική κατάσταση των ιστών και από την ποσότητά του. Οι ενέργειες που το NO ασκεί στα μιτοχόνδρια φαίνεται ότι παίζουν καθοριστική σημασία στο να αλλάξει το τελευταίο συμπεριφορά και αντί να προάγει φυσιολογικές λειτουργίες να αποκτά παθολογικό ρόλο (1).

Το NO, όταν ευρίσκεται σε φυσιολογική ποσότητα, αναστέλλει τη δράση της οξειδάσης του κυττοχρώματος C κατά τρόπο αντιστρέψιμο και με το μηχανισμό αυτό ελαττώνει την κατανάλωση του οξυγόνου, χωρίς να επηρεάζει τη σύνθεση της ATP. Η μακροχρόνια, όμως, έκθεση στο NO μπορεί να προκαλέσει μη αναστρέψιμη αναστολή του μιτοχονδριακού συμπλέγματος-I, πιθανώς λόγω της S- νιτροζυλίωσης θειολών βασικής σημασίας στο ενζυμικό αυτό σύμπλεγμα, νιτροζυλίωσης που το NO προκαλεί (1).

Το NO προκαλεί αρχικά αναστολή της δραστηριότητας ορισμένων ενζύμων του κύκλου του Krebs και της αλύσσου μεταφοράς ηλεκτρονίων των μιτοχονδρίων. Στη συνέχεια, ελαττώνεται η γλυκόλυση και η παραγωγή ουσιών όπως το ακετυλοσυνένζυμο A και τα ισοδύναμα ανηγμένα NADH και FADH. Υπό την επίδραση του NO και πιθανότατα και του υπεροξεινιτρώδους, ακολουθούν διασπάσεις των δεσμών του DNA με συνέπεια την ενεργοποίηση της PARS (poly-ADP ribose- polymerase:πολύ-ADP ριβοζο-πολυμεράση). Η ενεργοποίηση των τελευταίων οδηγεί σε αυξημένη κατανάλωση των NAD<sup>+</sup> (Nicotinamide Adenine Dinucleotide: Νικοτινάμικο αδενινοδινουκλεοσίδιο) με επακόλουθο τη μειωμένη μεταφορά ηλεκτρονίων και τη μειωμένη σύνθεση της ATP, με συνέπεια σοβαρές διαταραχές του οξειδωτικού μεταβολισμού των κυττάρων οι οποίες θα αναπτυχθούν στα επιμέρους κεφάλαια (6).

Σημαντικό, επίσης, ρόλο για τη σωστή λειτουργία του αγγειακού τοιχώματος παίζει το ισοζύγιο μεταξύ NO και οξυγόνου. Οι ρίζες οξυγόνου ασκούν διεγερτικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των αγγειακών κυττάρων και προάγουν την αθηροσκληρήνωση προκαλώντας την οξειδωση των λιποπρωτεϊνών και αυξάνοντας τη δραστηριότητα των λευκοκυττάρων, των χημειοκινινών και των μορίων προσκόλλησης. Όπως ήδη αναφέρθηκε, το NO δρα ανασταλτικά στους μηχανισμούς αυτούς (40).

Όταν υπάρχει αυξημένη παραγωγή NO ή όταν οι συνθήκες το ευνοούν, το NO μπορεί να αντιδράσει με το υπεροξειδικό ανιόν (O<sup>2-</sup>) και να σχηματίσει τη ρίζα του υπεροξεινιτρώδους (ONOO<sup>-</sup>), καθώς και άλλα οξειδία περισσότερο βλαβερά. Το υπεροξεινιτρώδες σε όξινο περιβάλλον αποικοδομείται ταχέως προς προϊόν με ιδιότητες ανάλογες της ρίζας του υδροξυλίου (OH<sup>·</sup>), προκαλώ-

ντας υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών και μη αντιστρεπτές βλάβες στα κύτταρα (6).

Καταστάσεις, επίσης, που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες ή την οξειδωτική κακοποίηση δρουν ανασταλτικά στην προστατευτική λειτουργία του ενδοθηλίου. Στις περιπτώσεις αυτές, το σχηματιζόμενο υπεροξυνιτρώδες αδειάζει τις ενδοκυττάρια αποθήκες του  $Ca^{2+}$  στα ενδοθηλιακά κύτταρα και το επακόλουθο είναι η υποβάθμιση όλων των προστατευτικών λειτουργιών του ενδοθηλίου (23).

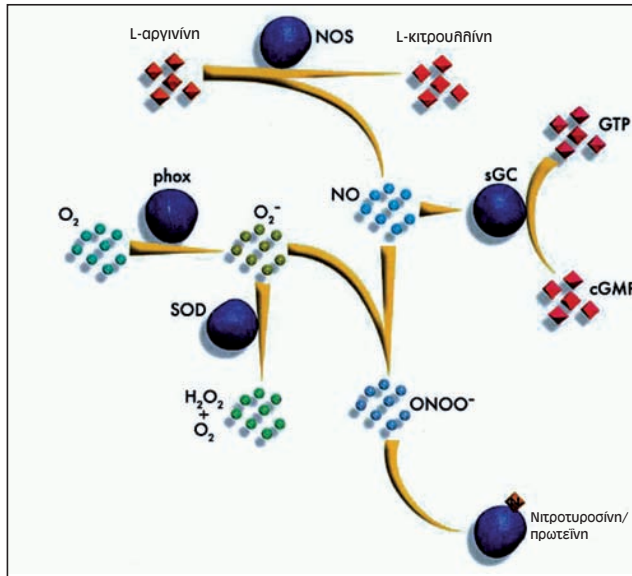
Η αντίδραση του υπεροξεινιτρώδους με κυτταρικούς στόχους, όπως διάφορες θειόλες, και ο σχηματισμός νιτροζυλιωμένων προϊόντων συμβάλλει στην τοξικότητα της ρίζας αυτής. Ένα από τα προϊόντα αυτά είναι η νιτροζυλιωμένη τυροσίνη. Είναι γνωστό ότι η τυροσίνη έχει σπουδαίο ρόλο στη μετάδοση των κυτταρικών σημάτων. Η φωσφορυλίωσή τους είναι ουσιώδους σημασίας για τη μετάδοση του σήματος στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης, το ίδιο αμινοξύ συμμετέχει στην κυτταρική απάντηση σε σήματα που εκπορεύονται από αυξητικούς παράγοντες, κυτταροκίνες και ιονοφορείς ασβεστίου. Με τη νιτροζυλιωμένη μορφή αδυνατεί να εκπληρώσει τις λειτουργίες αυτές (20).

### ***Το οξείδιο του αζώτου στις παθήσεις του καρδιαγγειακού συστήματος***

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη των καρδιαγγειακών παθήσεων και των νεφροπαθειών. Συγχρόνως, πολλές παθοφυσιολογικές καταστάσεις που άπτονται του καρδιαγγειακού συστήματος επηρεάζουν δυσμενώς τη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου.

Σήμερα είναι γνωστό ότι άτομα που πάσχουν από καρδιαγγειακά νοσήματα ή έχουν προδιαθεσικούς παράγοντες, όπως υπέρταση, σακχαρώδη διαβήτη και υπερχοληστερολαιμία, έχουν ελαττωμένη αγγειοδιασταλτική εφεδρεία που εξαρτάται από το NO λόγω ελαττωμένης σύνθεσης του τελευταίου. Το αυτό συμβαίνει και κατά την εμμηνόπαυση λόγω ανεπάρκειας οιστρογόνων αλλά και κατά το γήρας που ούτως ή άλλως είναι συνυφασμένο με τις καταστάσεις αυτές. Τέλος, η χρόνια ακινητοποίηση του σώματος και η έλλειψη φυσικής άσκησης ελαττώνουν τη γονιδιακή έκφραση της NOS (1,5,31,43).

Τα προβλήματα αυτά αρχίζουν πολύ νωρίς. Σύμφωνα με αναφορές, ο σχηματισμός ενός ετεροτριμερούς συμπλόκου πρωτεογλυκάνης θειικής ηπαράνης- LDL ( Low Density Lipoprotein) -  $Ca^{2+}$  στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και το υποενδοενδοθηλιακό στρώμα θεωρείται ως το πρώτο σημάδι αρτηριοσκλήρυνσης που εμφανίζεται με τη μορφή λιπιδών ραβδώσεων, οι οποίες, όμως, δεν οδηγούν υποχρεωτικά και σε αθηροσκλήρωση. Συνήθως, όμως, η οξειδωση ή η ακετυλίωση των LDL είναι θέμα χρόνου και παρουσίας ελεύθερων οξειδωτικών ριζών. Επιπλέον, συνυπάρχει υπερβολική παγίδευση  $Ca^{2+}$  κοντά στους μη ειδικούς  $Na^+ / Ca^{2+}$ -διαύλους που μπορεί να οδηγήσει



**Εικόνα 11.10:** Σχηματισμός της ρίζας του υπεροξεινιτρώδους και νιτροζυλίωση των πρωτεϊνών. Στα κύτταρα, η NOS (NO Synthase: Συνθετάση του NO) καταλύει τη μετατροπή της L-αργινίνης σε κιτρουλλίνη και NO παρουσία μοριακού οξυγόνου. Το παραγόμενο από τα ενδοθηλιακά κύτταρα NO διαχέεται προς τις λείες μυϊκές ίνες του μέσου αγγειακού χιτώνα, όπου διεγείρει τη sGC (soluble Guanylcyclase: διαλυτή γουανυλοκυκλάση). Από το σχηματισμό της cGMP (cyclic Guanyl Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη) προάγεται η μυϊκή χάλαση. Το O<sub>2</sub><sup>-</sup> (υπεροξειδικό ανιόν) που συντίθεται από την phox που αποτελεί μονάδα της οξειδάσης της NADPH αντιδρά με το NO και σχηματίζει την υπεροξεινιτρική ρίζα ONOO<sup>-</sup>. Προστατευτικά δρα η SOD (Superoxide Dismutase: Υπεροξειδική δισμουτάση) που μετατρέπει το O<sub>2</sub><sup>-</sup> σε οξυγόνο (O<sub>2</sub>) και νερό (H<sub>2</sub>O). Η ρίζα προάγει, μεταξύ άλλων, τις νιτροζυλίωσεις διαφόρων πρωτεϊνών. *Serol. Corpor. Family, Medline-Internet 2005*

σε ελαττωμένη είσοδο Ca<sup>2+</sup> στο ενδοθηλιακό κύτταρο, με αποτέλεσμα ελαττωμένη παραγωγή NO και αύξηση του αγγειακού τόνου. Με την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης και την επιδείνωση της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου επέρχεται προοδευτικά περαιτέρω ελάττωση παραγωγής αγγειοδιασταλτικών ουσιών, μεταξύ των οποίων και του NO (3,7).

Επί καρδιακής ανεπάρκειας ελαττώνεται η τριβή του αίματος στο ενδοθήλιο του αρτηριακού σκέλους των αγγείων με επακόλουθο την ελαττωμένη είσοδο Ca<sup>2+</sup> στα κύτταρα αυτά και την ελάττωση της σύνθεσης του NO. Στο φλεβικό σκέλος υπάρχει διάταση των ενδοθηλιακών κυττάρων, γεγονός που ευνοεί την παραγωγή οξειδωτικών ριζών που αντιδρούν και εξουδετερώνουν το NO ή παράγουν το υπεροξεινιτρώδες. (43) Αντίθετα, στη σηπτική καταπληξία υπάρχει αυξημένη παραγωγή NO λόγω ενεργοποίησης της iNOS η οποία συμβάλλει με τους άλλους γνωστούς παράγοντες στην εμφάνιση των βαρέων υποτασικών φαινομένων (45,46).

### Νεφροί

Η λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη λειτουργία των νεφρών.

Το NO έχει πολύπλοκο ρυθμιστικό ρόλο που αποσκοπεί στη διατήρηση των αιμοδυναμικών συνθηκών και στο ρυθμό σπειραματικής διήθησης. Υπάρχουν ενδείξεις ότι το NO περιορίζει την αγγειοσυσπαστική ενέργεια της αγγειοτασίνης II στους νεφρούς και προστατεύει το ρυθμό σπειραματικής διήθησης, όταν αυτή ελαττώνεται εξαιτίας της αύξησης των νεφρικών επιπέδων της παραπάνω αγγειοσυσπαστικής ουσίας. Υπάρχουν, επίσης, ενδείξεις ότι το NO δρα ανασταλτικά στα συστήματα μεταφοράς που προάγουν τη σωληναριακή επαναρόφηση του  $\text{Na}^+$  (32-34). Πειραματική αναστολή της σύνθεσης NO οδήγησε σε ελάττωση της νεφρικής αιματικής ροής και του ρυθμού διήθησης. (47,48).

Υπάρχει η άποψη ότι η συσσώρευση ενδογενών αναστολέων του NO πιθανόν να είναι η αιτία της μειωμένης αγγειοδιαστολής από NO σε καταστάσεις όπως η νεφρική ανεπάρκεια, παρόλο που η αυξημένη σύνθεση της αγγειοτασίνης προάγει τη σύνθεση του NO.

Η ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (ADMA) είναι ένας ενδογενής συναγωνιστικός ανταγωνιστής της eNOS ο οποίος κυκλοφορεί στο αίμα του ανθρώπου και απεκκρίνεται αναλλοίωτος από τους νεφρούς. Η αναστολή που προκαλεί στη δράση της eNOS έχει ως αποτέλεσμα να ελαττώνεται η μετατροπή της L-αργινίνης σε κιτρουλλίνη και NO. Διάφορες παρατηρήσεις έχουν δείξει ότι υπάρχουν αυξημένα επίπεδα της ADMA στο αίμα σε ασθενείς με αγγειοπάθειες και ιδιαίτερα σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια και σε νεαρά άτομα με υπερχοληστερολαιμία (5,48).

### Εγκέφαλος

Το NO παίζει βασικό ρόλο στις βλάβες που προκαλούνται στον εγκέφαλο ύστερα από ισχαιμικά επεισόδια και επεισόδια ισχαιμίας-επαναιμάτωσης.

Είναι γνωστό ότι το NO είναι, εκτός των άλλων, και νευρομεταβιβαστική ουσία. Μάλιστα έχει προταθεί από πολλούς τα νεύρα που απελευθερώνουν NO να ονομάζονται νιτροξειδεργικά νεύρα. Στο νευρικό σύστημα, και σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με τους άλλους νευρομεταβιβαστές, το NO δεν αποθηκεύεται και δεν απελευθερώνεται μόνο από τις νευρικές απολήξεις αλλά και από το σώμα του νευρικού κυττάρου και από το νευράξονα. Έχει διαπιστωθεί ότι, όταν τραυματίζεται ένα νεύρο, προάγεται η σύνθεση της nNOS ακόμη και σε νεύρα που υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν την εκφράζουν. Υπάρχει, επίσης, η άποψη ότι μαζί με το NO απελευθερώνονται και άλλες ουσίες με ίδιες ενέργειες, όπως συμβαίνει και στο ενδοθήλιο όπου εκτός από το NO απελευθερώνονται και άλλοι αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες. Το NO συμμετέχει σε διάφορα φαι-

νόμμενα που ποικίλλουν από την οξεία ρύθμιση της νευρωνικής λειτουργίας έως τη μακρόχρονη ρύθμιση της αποτελεσματικότητας της νευρικής σύναψης. Οι επιδράσεις του μπορεί να κυμαίνονται από τη ρύθμιση του αυτόνομου νευρικού και του ενδοκρινικού συστήματος μέχρι και τη συμπεριφορά του ατόμου (1,4,36).

Ειδικότερα όσον αφορά τη σχέση του NO και των υποδοχέων NMDA (N-Methyl-D-Aspartate) με τη διαμεσολαβούμενη από αυτούς μεταβίβαση, έχει διαπιστωθεί ότι το NO έχει πολλαπλούς ρόλους τόσο ως ενδοκυττάριο όσο και ως εξωνευρωνικό μεταβιβαστικό μόριο το οποίο επηρεάζει τους μηχανισμούς που εκπορεύονται από τους υποδοχείς αυτούς. Το πώς και πόσο θα επηρεασθούν οι υποδοχείς αυτοί εξαρτάται από την υπάρχουσα οξειδοαναγωγική ισορροπία. Οι υποδοχείς NMDA διαφέρουν ως προς την οξειδοαναγωγική συμπεριφορά από νευρώνα σε νευρώνα και αυτό οφείλεται στο ότι συντίθενται από διαφορετικές υποομάδες (4,37,38).

Τα ιόντα του NO είναι επίσης σε θέση να επηρεάζουν αρνητικά την υπερδιέγερση των υποδοχέων NMDA. Αγγειοδιασταλτικά φάρμακα που αποδίδουν NO, όπως το νιτροπρωσικό νάτριο και η νιτρογλυκερίνη, προστατεύουν τους νευρώνες από τη διεγερτική τοξική δράση που επάγεται από τους υποδοχείς NMDA. Αυτό συμβαίνει γιατί τα φάρμακα αυτά περιέχουν NO<sup>+</sup> το οποίο διαθέτοντας ένα λιγότερο ηλεκτρόνιο από το NO αντιδρά ευκολότερα με τις ομάδεςθειόλης και η αντίδραση αυτή, που ονομάζεται N-νιτροζυλίωση, επιταχύνεται ακόμη περισσότερο παρουσία μετάλλων. Η απόδοση του NO<sup>+</sup> δημιουργεί παράγωγα του τύπου R-SNO και όταν υπάρχουν γειτονικές ομάδεςθειόλης δημιουργούνται δισουλφιδικοί δεσμοί. Ως εκ τούτου, η δράση του NO οφείλεται στο γεγονός ότι είναι σε θέση να σχηματίζει S-νιτροζοπαράγωγα στο σύμπλοκο του υποδοχέα NMDA λόγω της απ' ευθείας αντίδρασής του με ομάδεςθειόλης και όχι λόγω σχηματισμού της cGMP. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η μετατροπή της τρισδιάστατης δομής του υποδοχέα που οδηγεί σε κλείσιμο των διαύλων του και αναστολή της υπερβολικής διέγερσης. Αλλά και το NO είναι σε θέση να δέχεται ένα ηλεκτρόνιο και να σχηματίζει NO<sup>-</sup> που επίσης τροποποιεί τις απαιτήσεις στο επίπεδο των NMDA. Η νιτροζυλίωση των υποδοχέων είναι ένα φαινόμενο που ευρίσκεται υπό μελέτη και φαίνεται ότι επηρεάζει τη συμπεριφορά πολλών υποδοχέων νευρομεταβιβαστικών ουσιών (4,36-38).

Οι υποδοχείς NMDA παίζουν καθοριστικό ρόλο στην πλαστικότητα των νευρώνων και η συνεχής διέγερσή τους μετά το εγκεφαλικό επεισόδιο οδηγεί το κύτταρο σε θάνατο λόγω της υπερβολικής αύξησης του κυτταροπλασματικού Ca<sup>2+</sup> και της αυξημένης παραγωγής οξειδωτικών ριζών από τα μιτοχόνδρια. Η υπερβολική αύξηση των Ca<sup>2+</sup> στα νευρικά κύτταρα διεγείρει, επίσης, την αυξημένη απελευθέρωση νευρομεταβιβαστικών ουσιών από αυτά, οι οποίες διεγείροντας αντίστοιχους υποδοχείς στα νευρικά κύτταρα ενεργοποιούν τα

ενδοκυττάρια συστήματα των δεύτερων αγγελιαφόρων που εξαρτώνται από αυτούς. Μεταξύ των συστημάτων αυτών είναι και εκείνο της nNOS (36,49-51).

Στα εγκεφαλικά επεισόδια, λόγω της ισχαιμίας που επακολουθεί, υπάρχει όντως αυξημένη σύνθεση NO από τα νευρικά κύτταρα. Ο μηχανισμός αυτός συνεισφέρει στα τοπικά τοξικά φαινόμενα που ακολουθούν και που οδηγούν στον τραυματισμό των νευρώνων. Η υπερβολική σύνθεση του NO προάγει τον κυτταρικό θάνατο μέσω της σχηματιζόμενης υπεροξυνιτρώδους ρίζας ύστερα από την αντίδραση του NO με άλλες οξειδωτικές ρίζες που παράγονται από την αυξημένη δραστηριότητα των μιτοχονδρίων. Το υπεροξυνιτρώδες προκαλεί διάσπαση των δεσμών του DNA με συνέπεια την ενεργοποίηση της PARS και αρνητικές συνέπειες σε πολλές βιοχημικές οδούς που θα αναπτυχθούν στη συνέχεια. Άλλος μηχανισμός κυτταρικού θανάτου που μεθοδεύεται από το NO πραγματοποιείται είτε από την ενεργοποίηση της ριβοζυλίωσης της διφωσφορικής αδενοσίνης (ADP: Adenosine Diphosphate) είτε λόγω του σχηματισμού συμπλόκων με σίδηρο ή θειικές ενώσεις (36,49-51).

### Φλεγμονή

Η φλεγμονή, και μάλιστα η χρόνια, είναι συνδεδεμένη με όλα τα συστήματα. Ως γνωστόν, η ενεργοποίηση των μακροφάγων των ιστών και των σιτευτικών κυττάρων στην αρχική τραυματική εστία έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση και την απελευθέρωση, μεταξύ άλλων, και των ισχυρών φλεγμονογόνων κυτταροκινών στις οποίες συγκαταλέγονται ο TNF-α και η ιντερλευκίνη-1.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ορισμένες κυτταροκίνες προάγουν μέσα από τον πυρηνικό μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ τη γονιδιακή έκφραση των CAMs, της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2), της iNOS και άλλων φλεγμονογόνων πρωτεϊνών. Ο NF-κΒ ευρίσκεται ενωμένος στο κυτταρόπλασμα με μια ανασταλτική πρωτεΐνη, την IκΒ, με τη μορφή αδρανούς συμπλόκου. Οι κυτταροκίνες αυτές ενεργοποιούν τις IκΒ κινάσες που φωσφορυλιώνουν την IκΒ στα σημεία Ser32 και Ser36, με αποτέλεσμα η πρωτεΐνη IκΒ να αποσπάται από τον NF-κΒ και στη συνέχεια διασπάται στο πρωτεοσωμάτιο. Τότε από τον παράγοντα NF-κΒ αποσπώνται οι υπομονάδες p65 και p50, από τις οποίες αποτελείται, και έρχονται στον πυρήνα όπου συνδέονται με γονίδια στόχους που κωδικοποιούν τις παραπάνω πρωτεΐνες της φλεγμονής και προάγουν την έκφρασή τους (27).

Το NO είναι από μακρού χρόνου γνωστό ως ρυθμιστής της ανοσιακής απόκρισης. Η σύνθεσή του εμφανίζεται αυξημένη σε παθήσεις που απειλούν το ανοσοβιολογικό σύστημα. Το NO, πάλι, με τη σειρά του μπορεί να έχει θετικό ή αρνητικό ρόλο στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ και τη γονιδιακή έκφραση φλεγμονογόνων πρωτεϊνών (1).

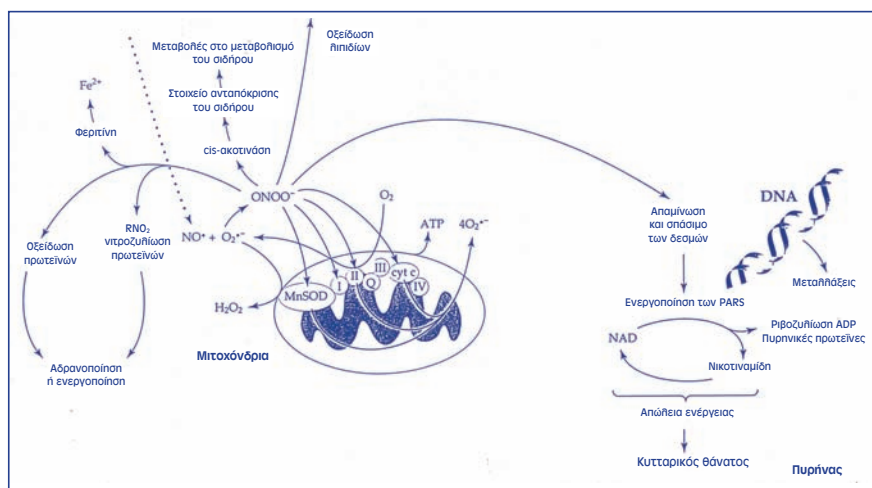
Όπως ήδη ελέχθη, οι φλεγμονογόνες αυτές κυτταροκίνες προάγουν τη γονιδιακή έκφραση της iNOS σε μια ποικιλία κυττάρων όπως τα μακροφάγα, τα καρδιακά μυϊκά κύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα, τα αστροκύτταρα και τα κύτ-



ταρα του έσω πετάλου του βωμανίου ελύτρου. Το συντιθέμενο NO δρα ανασταλτικά στην ενεργοποίηση των σιτευτικών κυττάρων πιθανόν με μηχανισμό δέσμευσης του υπεροξειδικού ανιόντος και με τον τρόπο αυτό επηρεάζει έμμεσα τη διαδικασία εξαγγείωσης των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων. Τα τελευταία οδηγούνται προς την εστία της ιστικής βλάβης κάτω από την επίδραση του χημειοτακτικού ρεύματος που προκαλούν τα σιτευτικά κύτταρα με την απελευθέρωση των χημειοκινινών. Παράλληλα, το NO δρα ανασταλτικά και στη γονιδιακή έκφραση του προφλεγμονώδους μορίου προσκόλλησης P-σελεκτίνη εμποδίζοντας με τον τρόπο αυτό την προσκόλληση και εξαγγείωση κυτταρικών στοιχείων του αίματος. Το ίδιο, όμως, το NO αντιδρά με το υπεροξειδικό ανιόν, που παράγεται και από τα ενεργοποιημένα και διηθούντα τους ιστούς ουδετερόφιλα, και σχηματίζει τη ρίζα του υπεροξεινιτρώδους. Το αυτό συμβαίνει και σε συνθήκες οξειδωτικού στρες όπως οι καταστάσεις ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και ενδοτοξικής καταπληξίας. Οι στόχοι του υπεροξεινιτρώδους μπορεί να είναι τα διπλανά κύτταρα ή και το ίδιο το κύτταρο που παράγει το NO. Το υπεροξεινιτρώδες αλλά και τα προϊόντα αποδομής του, στα οποία έγινε ήδη αναφορά, είναι τοξικά για το ενδοθηλιακό κύτταρο αλλά και για κάθε άλλο κύτταρο διότι προκαλούν διάσπαση των δεσμών στο DNA με συνέπεια την ενεργοποίηση των PARS (51-53).

Η ενεργοποίηση των PARS οδηγεί σε αυξημένη κατανάλωση των  $\text{NAD}^+$  που είναι απαραίτητες για τη γλυκόλυση και την προμήθεια των ATP, που με τη σειρά τους είναι απαραίτητες για τις περισσότερες κυτταρικές λειτουργίες, ενώ παράλληλα χρησιμεύουν ως πρόδρομες ουσίες για τη σύνθεση της NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate), η οποία αποτελεί την ανηγμένη μορφή του  $\text{NADP}^+$ . Η τελευταία είναι απαραίτητη για τον κύκλο των πεντοζών, για αναγωγικές βιοχημικές οδούς και για τη διατήρηση των αποθεμάτων της αναχθείσης γλουταθειόνης. Η αναστολή όλων αυτών των βιοχημικών οδών οδηγεί σε κυτταρική δυσλειτουργία και θάνατο του κυττάρου (51-53).

Κατά τη σηπτική καταπληξία αλλά και σε χρόνιες φλεγμονές, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, υπάρχει αυξημένη ενεργοποίηση του γονιδίου της iNOS. Το ίδιο παρατηρείται και στη διαδικασία απόρριψης καρδιακών μοσχευμάτων. Στην περίπτωση της σηπτικής καταπληξίας, το NO παίζει σημαντικό ρόλο στα υποτασικά φαινόμενα που παρατηρούνται. Εδώ, όμως, συμβάλλουν και άλλοι παράγοντες, μεταξύ των οποίων και οι μικροβιακές πολυσακχαρίδες. Στην περίπτωση της απόρριψης καρδιακών μοσχευμάτων, η ενεργοποίηση της iNOS είναι κατ' αρχάς επιθυμητή λόγω της προστασίας που παρέχει από τους μικροοργανισμούς και της αγγειοδιαστολής που δεν επιβαρύνει την καρδιακή λειτουργία. Η χρόνια, όμως, ενεργοποίηση της iNOS οδηγεί σε ανεπιθύμητες καταστάσεις όπως η σύνθεση οξειδωτικών ριζών, η κυτταρική βλάβη και η ελάττωση της καρδιακής συσταλτικότητας (1,45).



**Εικόνα 11.11: Κυτταρικές βλάβες που προκαλούνται από τη ρίζα του υπεροξεινιτρώδους.** Καταγράφονται οι βλάβες σε επίπεδα κυτταροπλάσματος και πυρήνα που προκαλούνται από τη ρίζα του υπεροξεινιτρώδους (ONOO<sup>-</sup>).

*Trends Pharmacol. Sci.* 18,1997

Οι σχέσεις του NO με τη φλεγμονογόνο κυτταροκίνη TNF- $\alpha$  περνούν και μέσα από τις αλληλεπιδράσεις του με τα σφιγγολιπίδια σε σχέση με τη βιοχημική οδό που ενεργοποιείται από τη φλεγμονογόνο κυτταροκίνη TNF- $\alpha$ . Ο ρόλος του NO όσον αφορά την πυροδότηση που εκπορεύεται από τον TNF- $\alpha$  ποικίλλει και εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις του πρώτου. Όταν το NO συντίθεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις από την iNOS, της οποίας η γονιδιακή έκφραση διεγείρεται από τον μεταγραφικό παράγοντα NF- $\kappa$ B, το NO συμβάλλει στην ανάπτυξη της φλεγμονής και στην επίταση των αποπτωτικών φαινομένων. Μεταξύ των προτεινόμενων μηχανισμών περιλαμβάνονται οι αυξημένες συγκεντρώσεις της κεραμίδης συνεπεία διέγερσης των Smases (Sphingomyelinases: Σφιγγομυελινάσες) και της πρωτεοσωματικής διάσπασης της κεραμάσης. Αντίθετα, όταν το NO συντίθεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις ως αποτέλεσμα της διέγερσης της eNOS που εξαρτάται από τη nSmase και από την PI3K-Akt (Phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt:Φωσφατιδυλινοσιτολο-3-Κινάση Akt), τότε ρυθμίζει τη σύνθεση της κεραμίδης κατά ανασταλτικό τρόπο και ελαττώνει την απόπτωση (54).

### Φάρμακα που σχετίζονται με το οξείδιο του αζώτου

Τα φάρμακα τα οποία έχουν σχέση με το NO ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες. Άλλα από αυτά χρησιμοποιούνται από μακρού χρόνου στην κλινική πράξη, άλλα ευρίσκονται σε διάφορες φάσεις εργαστηριακών και κλινικών δοκιμασιών και άλλα είναι σε φάσεις σύνθεσης (55).

### **Φάρμακα που αποδίδουν NO - Χορήγηση εξωγενούς NO**

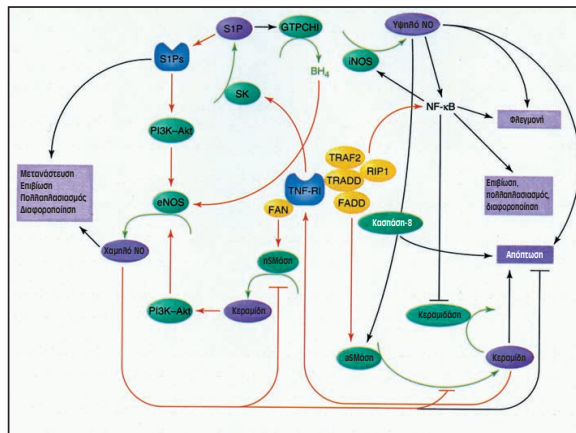
Η χρησιμοποίηση φαρμάκων που αποδίδουν NO θα πρέπει να λαμβάνει υπ' όψιν της ότι στις περιπτώσεις αυτές υπεισέρχονται και άλλοι παράγοντες, όπως η ποικιλία των μορφών με τις οποίες χορηγείται το κάθε φάρμακο, ο διαφορετικός βαθμός απελευθέρωσης του NO από τα παράγωγα αυτά και η πιθανότητα τα προϊόντα αυτά να απελευθερώνουν και άλλες ρίζες (1,6).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα παλαιάς χρήσης φαρμάκων χορηγών του NO αποτελούν τα νιτρώδη και τα νιτρικά φάρμακα. Τα φάρμακα αυτά χρησιμοποιούνται εδώ και έναν αιώνα στην αντιμετώπιση της στηθάγχης. Χορηγούμενα αποδίδουν το NO στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος. Ο μηχανισμός με τον οποίο αποδίδουν το NO δεν είναι απόλυτα γνωστός. Η αγγειακή γλουταθειονινο-5-τρανσφεράση φαίνεται ότι αποτελεί μόνο τμήμα του όλου ενζυμικού συστήματος μέσω του οποίου γίνεται η απόδοση του NO. Με την απόδοση του NO τα φάρμακα αυτά προκαλούν χάλαση του αγγειακού τοιχώματος και κατά συνέπεια αγγειοδιαστολή και ελαττώνουν με τον τρόπο αυτό τόσο την ποσότητα αίματος που επιστρέφει από την περιφέρεια προς την καρδιά όσο και τις περιφερικές αντιστάσεις. Με το μηχανισμό αυτό η καρδιά καταναλώνει λιγότερο έργο και αυτό είναι πολύ σημαντικό όταν υπάρχει στεφανιαία ανεπάρκεια. Χορηγούνται σε διάφορες μορφές, όπως σε υπογλώσσια δισκία, δισκία βραδείας απελευθέρωσης, δερματικά αυτοκόλλητα. Παρουσιάζουν το μειονέκτημα της εμφάνισης ανοχής η οποία πιθανόν να οφείλεται εν μέρει στην εξάντληση των ομάδων θειόλης που πιστεύεται ότι παίζουν βασικό ρόλο στην απόδοση του NO στους ιστούς. Οι μηχανισμοί ασφαλώς είναι πολύπλοκοι και η απευαισθητοποίηση του ενζύμου στόχου που είναι η sGC πιθανόν περιλαμβάνεται σε αυτούς (25,49,56-58).

Εκτενής, επίσης, αναφορά έγινε στο γεγονός ότι τα φάρμακα αυτά αποδίδοντας NO<sup>+</sup> προκαλούν νιτροζυλίωση των υποδοχέων NMDA και πιθανόν και άλλων υποδοχέων και με το μηχανισμό αυτό αναστέλλουν την υπερβολική διέγερσή τους (4).

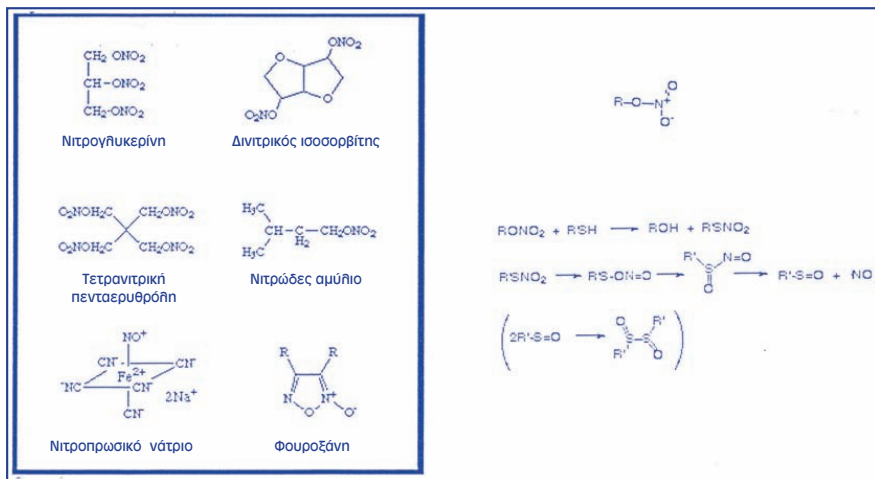
Βεβαίως, η δυνατότητα χρησιμοποίησης φαρμάκων δοτών του NO δεν περιορίζεται μόνο στις παθήσεις του καρδιαγγειακού συστήματος. Υπάρχουν φάρμακα όπως το ακετυλοσαλικυλικό οξύ που εκτός της αντιαίμοπεταλιακής τους ενέργειας έχουν τις γνωστές αναλγητικές και αντιφλεγμονώδεις ενέργειες αλλά συγχρόνως και ανεπιθύμητες ενέργειες από το πεπτικό και τους νεφρούς. Η χρησιμοποίηση σαλικυλικών με απόδοση NO προάγει, μεταξύ άλλων, την καλή αιμάτωση του γαστρικού βλεννογόνου.

Στον γαστρεντερικό σωλήνα, το NO ασκεί κυτταροπροστατευτικές ενέργειες προασπίζοντας την ακεραιότητα του γαστρικού βλεννογόνου. Το NO δρα κατά παρόμοιο τρόπο με τις προσταγλανδίνες (PGs: Prostaglandins) διεγείροντας την έκκριση της βλέννας και διατηρώντας την καλή αιμάτωση της περιοχής. Οι



**Εικόνα 11.12:** Αλληλεπιδράσεις οξειδίου του αζώτου με τα σφιγγολιπίδια σε σχέση με τη βιοχημική οδό που ενεργοποιείται από τη φλεγμονογόνο κυτταροκίνη TNF- $\alpha$ . Ο ρόλος του NO ( $\mu\omega\beta$ ) όσον αφορά τη σηματοδότηση που εκπορεύεται από τον υποδοχέα (TNFRI) του TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ : Νεκρωτικός των όγκων παράγοντας- $\alpha$ ) ποικίλλει και εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις του αερίου αυτού. Η διέγερση του TNFRI καταλήγει στην επιστράτευση πολλών προσαρμοστικών πρωτεϊνών. Ανάμεσα σε αυτές περιλαμβάνονται η πρωτεΐνη FAN η οποία διεγείρει τη nSmase (neutral Sphingomyelinase: ουδέτερη σφιγγομυελινάση) και η πρωτεΐνη TRADD (TNF-Receptor-Associated Death Domain protein: Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με τον τομέα θανάτου του υποδοχέα του TNF) η οποία προάγει είτε τη φλεγμονή και την επιβίωση είτε την απόπτωση. Αυτό εξαρτάται από το κατά πόσο συναθροίζεται σε σύμπλεγμα με τη FADD ή το RIP1 (Receptor Interactin Protein 1: Πρωτεΐνη 1 αντιδρώσα με τον υποδοχέα)-TRAF2 (TNF-Receptor Associated Factor 2: Παράγοντας 2 συνδεδεμένος με τον υποδοχέα του TNF). Η διέγερση του μεταγραφικού παράγοντα NF- $\kappa$ B, της κασπάσης-8 και aSmase (acidic Sphingomyelinase: όξινη σφιγγομυελινάση) αποτελούν κλειδιά για τη δημιουργία των τόσο διαφορετικών βιολογικών αποτελεσμάτων. Όταν το NO συντίθεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις από την iNOS (inducible NO Synthase: επαγόμενη συνθετάση του NO) της οποίας η γονιδιακή έκφραση διεγείρεται από τον μεταγραφικό παράγοντα NF- $\kappa$ B, το NO συμβάλλει στην ανάπτυξη της φλεγμονής και στην επίταση των αποπτωτικών φαινομένων. Μεταξύ των προτεινόμενων μηχανισμών περιλαμβάνονται οι αυξημένες συγκεντρώσεις της κεραμίδης ( $\mu\omega\beta$ ) συνεπεία διέγερσης των Smases (Sphingomyelinases: Σφιγγομυελινάσες) και της πρωτεοσωματικής διάσπασης της κεραμάσης. Αντίθετα, όταν το NO συντίθεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις ως αποτέλεσμα της διέγερσης της eNOS (endothelial NO Synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO) που εξαρτάται από την nSmase και από την PI3K-Akt (Phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt:Φωσφατιδυλοϊνοσιτολο-3-κινάση Akt), τότε ρυθμίζει τη σύνθεση της κεραμίδης κατά ανασταλτικό τρόπο και ελαττώνει την απόπτωση. Η eNOS μπορεί επίσης να ενεργοποιηθεί κατά PI3K-Akt εξαρτώμενο τρόπο από την S1P (Sphingosine-1-phosphate: Φωσφορική-1-σφιγγοσίνη) καθώς η τελευταία διεγείρει τους S1P-υποδοχείς της. Η S1P ( $\mu\omega\beta$ ) συντίθεται από τη SK (Sphingosin Kinase: Κινάση της σφιγγοσίνης). Η SK ενεργοποιείται ύστερα από τη διέγερση των υποδοχέων TNFRI. Οι δράσεις της S1P όσον αφορά τη χημειοταξία και την προστασία από την απόπτωση ενισχύονται από το NO. Επιπλέον, η S1P διεγείρει τη σύνθεση του NO αυξάνοντας την έκφραση της GTPCHI (Guanyl Triphosphate Cyclohydrolase: Τριφωσφορογουα νυλοκυκλοϋδρολάση) η οποία καταλύει τη σύνθεση της τετραϋδροβιοπτερίνης ( $BH_4$ ) που είναι βασικός συμπαράγοντας για την ενεργοποίηση των eNOS και iNOS. Τα κόκκινα και μαύρα βέλη παριστούν βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες δράσεις, αντίστοιχα. Τα ένζυμα χρωματίζονται με πράσινο, οι υποδοχείς με μπλε και οι προσαρμοστικές πρωτεΐνες με κίτρινο. Οι τελικές βιολογικές δράσεις χρωματίζονται με ασθενές  $\mu\omega\beta$  σε ορθογώνια.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24,2003



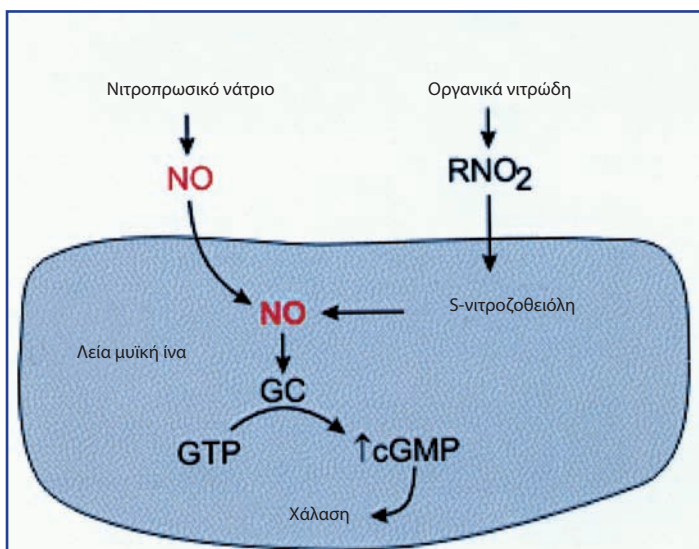
**Εικόνα 11.13: Χημικοί τύποι αγγειοδιασταλτικών φαρμάκων που αποδίδουν NO και μηχανισμός απόδοσης. (Αριστερά)** Χημικοί τύποι νιτρικών και νιτρωδών φαρμάκων. **(Ανω δεξιά)** Γενικός χημικός τύπος των φαρμάκων αυτών. Τα περισσότερα φάρμακα είναι εστέρες της αλκοόλης και του νιτρικού οξέος. **(Κάτω δεξιά)** Χημικές αντιδράσεις με τις οποίες αποδίδεται το NO στους ιστούς. Η απόδοση του NO στους ιστούς απαιτεί την παρουσία ειδικών θειολών όπως είναι η κυστεΐνη και η N-ακετυλοκυστεΐνη.

Katayama Y.: Dojindo Newsletter No1. Internet-Google, 1997

διαπιστώσεις αυτές δημιούργησαν τη σκέψη ότι η σύνθεση ασπιρίνης που θα απελευθέρωνε κατά ελεγχόμενο τρόπο NO θα αποκαθιστούσε την ισορροπία που είχε διαταραχθεί με την αναστολή της σύνθεσης και δράσης των PGs που η ασπιρίνη προκαλεί, δρώντας ανασταλτικά στην COX. Σήμερα ευρίσκονται σε φάσεις κλινικών δοκιμασιών διάφοροι νιτρικοί εστέρες που συνδυάζουν την ανασταλτική δράση στην COX-1 με την απελευθέρωση NO. Η απελευθέρωση αυτή δεν είναι αυτόματη αλλά αποτέλεσμα μεταβολισμού του φαρμάκου. Τα απελευθερούμενα ποσά NO είναι μικρά και δεν επηρεάζουν τους μηχανισμούς ρύθμισης της αρτηριακής πίεσης. Δεν έχουν παρατηρηθεί ανεπιθύμητες ενέργειες, ενώ η αντιφλεγμονώδης, η αναλγητική και η αντιθρομβωτική ενέργειά τους εμφανίζεται να είναι ισχυρότερη από εκείνη της ασπιρίνης (58-60).

Σε κάθε περίπτωση, εκείνο που χρειάζεται είναι να αξιοποιηθούν στην κλινική πράξη όσα από τα ευρήματα του εργαστηρίου εμφανίζονται ελπιδοφόρα για τη σύνθεση νέων φαρμάκων χορηγών του NO. Η χρήση εκλεκτικών φαρμάκων που θα αποδίδουν NO απελευθερώνοντάς το κατά μικρά ποσά και με σταθερό τρόπο είναι το επιδιωκόμενο. Πιστεύεται ότι με τον τρόπο αυτό θα καταστεί δυνατόν το απελευθερούμενο NO να μιμείται κάθε φορά τη συμπεριφορά του αντίστοιχου NO που συντίθεται ενδογενώς (1).

Πλην των φαρμάκων που αποδίδουν NO, η χορήγηση με εισπνοή NO έχει



Εικόνα 11.14: Σχηματική παράσταση απόδοσης του NO από τα νιτρώδη φάρμακα στα κύτταρα. Το νιτροπρωσικό νάτριο αποδίδει άμεσα το NO. Τα οργανικά νιτρώδη αποδίδουν το NO, αφού πρώτα σχηματίσουν τις S-νιτροζοθειόλες.

Klabunde R.: *Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin*. Google-Internet, 2005

αποδειχθεί ευεργετική σε ορισμένες περιπτώσεις. Η χορήγηση αυτή βασίζεται στην άμεση αγγειοδιαστολή, στην πνευμονική κυκλοφορία και στη βρογχοδιαστολή που μπορεί να προκαλέσει.

Έχει αποδειχθεί ότι το εισπνεόμενο NO είναι αποτελεσματικό στη θεραπευτική αντιμετώπιση των νεογνών με πνευμονική υπέρταση. Το ίδιο αποτελεσματικό εμφανίζεται και σε ασθενείς που παρουσιάζουν οξύ αναπνευστικό πρόβλημα με έντονη δυσφορία. Στους πνεύμονες, η εισπνοή του NO δεν πρέπει να υπερβαίνει τις επτά ώρες, ενώ σε συγκεντρώσεις της τάξης των 50-100 ppm εμφανίζονται τοξικά φαινόμενα (1,6).

Έχει, επίσης, ευρεθεί ότι το NO έχει τη δυνατότητα να βελτιώνει την κλινική εικόνα των κρίσεων της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας, καθώς επίσης και να αυξάνει την ικανότητα της αιμοσφαιρίνης να δεσμεύει περισσότερο οξυγόνο σε ασθενείς με αιμολυτική δρεπανοκυτταρική αναιμία. Οι μηχανισμοί αυτών των ενεργειών δεν είναι γνωστοί (1).

### **Φάρμακα που επηρεάζουν τη σύνθεση του NO**

Οι επιχειρούμενες φαρμακολογικές παρεμβάσεις στη σύνθεση του NO μπορεί να αφορούν τη γονιδιακή μεταγραφή της NOS, την ενεργότητά της αλλά και το ίδιο το συντιθέμενο NO, καθώς και τα προϊόντα του.

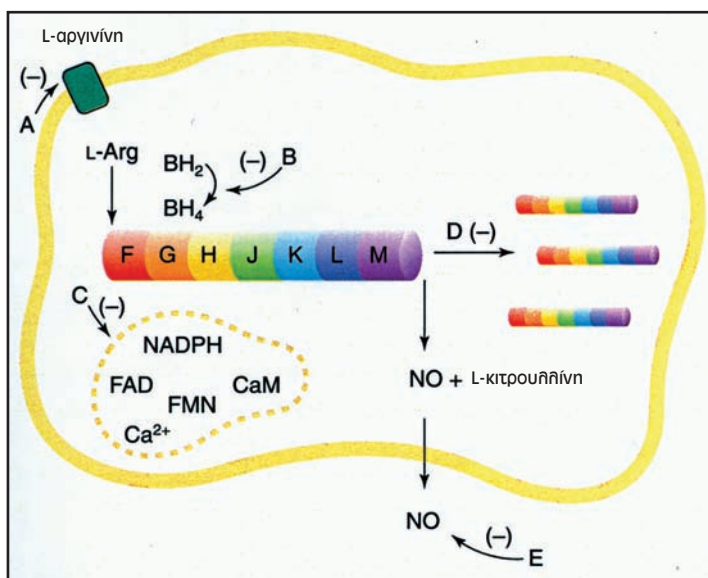
Η γονιδιακή ρύθμιση της σύνθεσης του NO είναι ένας από τους βασικούς στόχους της έρευνας. Η προσπάθεια αυτή αφορά τόσο τα ισόμορφα της cNOS όσο και την iNOS και ιδιαίτερα την τελευταία λόγω των αυξημένων προβλημάτων που δημιουργεί (8).

Οι παρεμβάσεις στο σχηματισθέν ένζυμο αφορούν κυρίως την ενεργότητά του. Το ζητούμενο είναι η εκλεκτική παρέμβαση τόσο στα διάφορα ισόμορφα της cNOS όσο και στην iNOS. Σήμερα η L-αργινίνη αποτελεί το μοντέλο μόριου όπου επιχειρούνται διάφορες τροποποιήσεις με την ελπίδα σύνθεσης αγωνιστών και αναστολέων της κάθε NOS. Άλλοι στόχοι για τη σύνθεση μόνο αναστολέων είναι διάφοροι συμπαραγόντες του ενζύμου, τμήμα της αίμης που περιέχεται στο μόριο του ενζύμου, προσθετικές ομάδες και κοινά ρυθμιστικά συστήματα. Στα υπό μελέτη προϊόντα με δράση αναστολέα περιλαμβάνονται απλά αμινοξέα και διπεπτιδία καθώς και μη πεπτιδικές ενώσεις όπως ισοθειουρίες, ισοσεληνουρίες, αμιδίνες, γουανίνες και διάφορα ετεροκυκλικά παράγωγα (61).

Παρατηρήσεις *in vitro* αλλά και *in vivo* σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι διάφορα φυτικά τρόφιμα ή χόρτα με παραδοσιακά ιατρική χρήση και σε πολλές περιπτώσεις εξακριβωμένα συστατικά αυτών που απομονώθηκαν έχουν τη δυνατότητα να επηρεάζουν τη σύνθεση ή την ενεργότητα της NOS. Η επιγαλλοκατεχίνη που είναι βασικό συστατικό του τσαγιού, η καρκουμίνη που είναι δραστικό συστατικό του φυτού *curtluca longa* που χρησιμοποιείται από τους ερυθροδέρμους, η γενιστίνη που υπάρχει στη σόγια καθώς και τα ω-3-πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εικοσαπεντανοϊκό οξύ και α-λινολενικό οξύ που ευρίσκονται στο λίπος των ψαριών δρουν ανασταλτικά στην ενεργοποίηση των γονιδίων που μεταγράφουν την iNOS και τα οποία διεγείρονται κατά την ανάπτυξη και εξέλιξη της φλεγμονής. Οι πολυφαινόλες οι οποίες ευρίσκονται στο κόκκινο κρασί, εκτός της αντιοξειδωτικής τους δράσης, έχουν αγγειοδιασταλτική δράση η οποία οφείλεται τόσο σε αύξηση της ενεργότητας της cNOS όσο και μακροπρόθεσμα σε διεγερτικές δράσεις σε γονιδιακό επίπεδο. Ανάλογη διεγερση της ενεργότητας του ίδιου ενζύμου παρατηρείται και από το σκόρδο. Η έρευνα *in vivo* θα αποδείξει αν τα παραπάνω ισχύουν και για τον άνθρωπο. Σε κάθε περίπτωση, το μόριο των ουσιών αυτών θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο για τη σύνθεση δραστικών και ασφαλών παραγώγων για τον άνθρωπο. Αυτό, βέβαια, μετά από τις απαραίτητες τροποποιήσεις οι οποίες θα γίνουν επ' αυτού και στις οποίες θα οδηγήσει η έρευνα που θα γίνει προς την κατεύθυνση αυτή (9,62).

Όσον αφορά το καρδιαγγειακό σύστημα, υπάρχουν κάποιες ουσίες που χρησιμοποιούνται δοκιμαστικά και για τις οποίες δεν υπάρχει επαρκής πείρα.

Μία ομάδα φαρμάκων αυτής της κατηγορίας είναι τα φάρμακα που ενισχύουν τη δράση της eNOS. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η L-αργινίνη,



Εικόνα 11.15: Προτεινόμενες φαρμακολογικές παρεμβάσεις στο μόριο της συνθεάσης του NO. Η NOS απεικονίζεται στο κέντρο του κυττάρου και παρουσιάζει επτά τμήματα για αντιδράσεις με το υπόστρωμα και τους συμπαραγόντες. Τα γράμματα παριστούν τα δυνητικά σημεία φαρμακολογικής παρέμβασης. **A.** Αναστολή πρόσληψης της L-αργινίνης. **B.** Αναστολή σύνθεσης της τετραϋδροβιοπτερίνης  $BH_4$ . **C.** Ελάττωση των ενδοκυττάρων συμπαραγόντων. **D.** Ανάσπαση της επαγωγής της iNOS από διεγέρσεις όπως από κυτταροκίνες και οιστρογόνα. **E.** Δέσμευση εξωκυττάρου NO. **F.** Θέση δέσμευσης της L-αργινίνης. **G.** Θέση δέσμευσης τετραϋδροβιοπτερίνης. **H.** Θέση αίμης. **J.** Θέση σύνδεσης της NADPH (reduced Nicotinimide Adenine Dinucleotide Phosphate) **K.** Θέση καλμοδουλίνης (Cam:Calmodulin). **L.** και **M.** Θέση σύνδεσης της FMN (Flavine Adenine Mononucleotide) και FAD (Flavine Adenine Dinucleotide) αντίστοιχα.

*Trends Pharmacol. Sci, 18, 1997*

το φυλικό οξύ και τα οιστρογόνα. Πιστεύεται ότι η χορήγηση συμπληρώματος αργινίνης μπορεί να αυξήσει τη σύνθεση NO και να προαγάγει την αγγειοδιαστολή. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ουσία αυτή έχει αντιαθηρωματικές ιδιότητες. Το φυλικό οξύ αποτελεί την πρόδρομη μορφή της τετραϋδροβιοπτερίνης που, όπως αναφέρθηκε, είναι συνένζυμο της eNOS. Τα οιστρογόνα, υποδοχείς των οποίων διαπιστώθηκαν στα ενδοθηλιακά κύτταρα, προάγουν τη γονιδιακή έκφραση της eNOS. Η εφαρμογή, όμως, εξειδικευμένων θεραπειών προϋποθέτει την πλήρη κατανόηση των μηχανισμών δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου και των διαταραχών σύνθεσης της eNOS (6,31).

Μια δεύτερη κατηγορία φαρμάκων είναι αυτά που δρουν ανασταλτικά στη δράση της NOS. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται ουσίες όπως η L-νορμομεθυλαργινίνη και ο μεθυλεστέρας της νιτροαργινίνης. Οι ουσίες αυτές ανεβάζουν την αρτηριακή πίεση, γεγονός που είναι επιθυμητό σε καταστάσεις σηψαιμικής καταπληξίας. Η μη εκλεκτικότητά τους, όμως, δημιουργεί προβλήματα όπως



είναι η ελάττωση της καρδιακής παροχής και της αιματικής ροής στην περιφέρεια και ο σχηματισμός μικροαγγειακών θρόμβων (6).

Σε φάσεις πειραματικής έρευνας σε ζώα ευρίσκονται διάφορες ουσίες με εκλεκτική δράση αναστολής της iNOS. Ανάμεσα στις ουσίες περιλαμβάνονται η L-καναβανίνη, η αμινογουανιδίνη, η 1-αμινο-2-υδροξυγουανιδίνη και η S-μεθυλουρία. Οι ουσίες αυτές αναμένεται να μην επηρεάζουν τη δράση της eNOS και ως εκ τούτου την προστατευτική λειτουργία του ενδοθηλίου. Πειραματικά δεδομένα συνηγορούν στο γεγονός ότι ορισμένες από αυτές βελτιώνουν την οξυγόνωση των ιστών με πιθανή δράση και σε μοριακό επίπεδο. Αν τα ευρήματα αυτά επιβεβαιωθούν και στην κλινική πράξη, οι πρναφερθείσες ουσίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία στην αντιμετώπιση της σηπτικής καταπληξίας όπου υπάρχει πολύ αυξημένη δράση της iNOS (6,63).

Τα εγκεφαλικά επεισόδια είναι συνυφασμένα με την αυξημένη αρτηριακή πίεση, την αθηροσκλήρωση και τις θρομβωτικές τάσεις. Η επακολουθούσα ισχαιμία προκαλεί βλάβη των εγκεφαλικών κυττάρων στην οποία έγινε ήδη εκτεταμένη αναφορά. Αναφορά έγινε, επίσης, και στον παθολογικό ρόλο που ασκεί το NO στις καταστάσεις αυτές, καθώς και στις καταστάσεις ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Παράγωγα που θα αναστείλουν εκλεκτικά τη νευρική σύνθεση του NO χωρίς να επηρεάζουν την ενδοθηλιακή σύνθεσή του και την εξ αυτής προκαλούμενη αγγειοδιαστολή θα μπορούσαν να έχουν ευεργετικό ρόλο σε παρόμοιες καταστάσεις. Ουσίες όπως η 7-νιτροϊνδαζόλη εμφανίζουν ικανοποιητικά αποτελέσματα σε πειραματικό στάδιο (50).

### **Φάρμακα που παρεμβαίνουν στους μηχανισμούς που αναπτύσσονται από το NO**

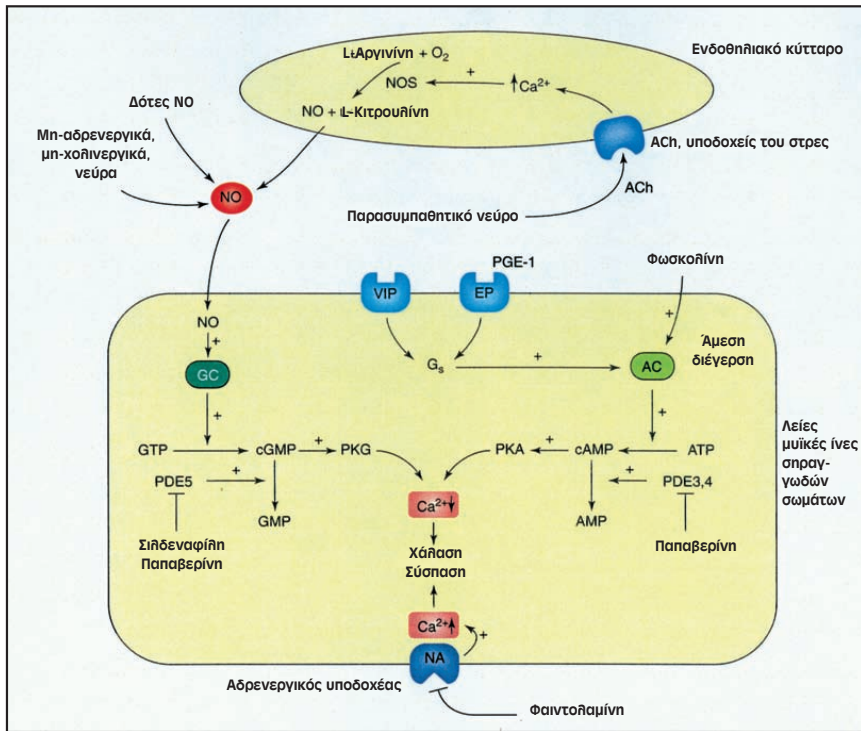
Πολλές παθολογικές μεταβολές της αρτηριακής πίεσης συνδέονται με μεταβολές της ενεργότητας της sGC. Υπερτασικές κρίσεις συνδέονται με ελάττωση της ενεργότητας της sGC, ενώ η σηπτική καταπληξία με διέγερση του ενζύμου αυτού. Ειδικότερα στη δεύτερη περίπτωση έχει αποδειχθεί η αυξημένη παραγωγή του NO από την iNOS. Ως εκ τούτου, το ένζυμο αυτό θεωρείται ως στόχος για τη σύνθεση φαρμάκων που θα επηρεάζουν την αρτηριακή πίεση. Τα νιτρώδη και νιτρικά φάρμακα με την απόδοση του NO διεγείρουν το ένζυμο αυτό και προκαλούν αγγειοδιαστολή και ελάττωση της αρτηριακής πίεσης. Ο συνδυασμός τους με φάρμακα που θα διεγείρουν την sGC ίσως εξαλείψει το πρόβλημα της ανοχής που παρατηρείται με τα νιτρώδη και τα νιτρικά φάρμακα, ενώ θα ελαττώσει τις χορηγούμενες δόσεις των φαρμάκων αυτών. Η αναστολή, όμως, του ενζύμου με φάρμακα αποδεικνύεται στην πράξη δυσκολότερη. Το πρόβλημα είναι ότι τα φάρμακα αυτά πρέπει να έχουν εκλεκτικότητα, ώστε να μην επηρεάζουν τις άλλες δράσεις του NO. Σήμερα υπάρχουν παράγωγα αυτής της κατηγορίας που βρίσκονται σε φάση κλινικών δοκιμασιών (14).

Η αναστολή της δράσης των PDE μπορεί να παρατείνει την  $t_{1/2}$  των κυκλικών νουκλεοτιδίων μεταξύ των οποίων και η cGMP. Η σιλденаφίλη, πιο γνωστή υπό την εμπορική ονομασία Viagra, αποτελεί ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα. Φάρμακα με ανάλογες ενέργειες είναι επίσης η βαρντεναφίλη και η τανταλαφίλη. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, νιτρωδεργικές νευρικές απολήξεις που σχετίζονται με νευρώνες διεγείρόμενους από κατάλληλα σεξουαλικά ερεθίσματα απελευθερώνουν NO. Τα φάρμακα αυτά αδρανοποιούν εκλεκτικά την PDE-5 που επικρατεί στο, στυτικό ιστό, ενώ ελάχιστη είναι η παρουσία της στο αγγειακό σύστημα. Η PDE-5 είναι γνωστό ότι διασπά εκλεκτικά την cGMP. Με τον μηχανισμό αυτό παρατείνεται έμμεσα η δράση του NO και ενισχύεται εκλεκτικά η αρτηριοδιαστολή στον στυτικό ιστό, με αποτέλεσμα την αιματική του συμφόρηση και τη στύση. Επειδή η γενικευμένη αγγειοδιασταλτική ικανότητα της σιλденаφίλης είναι ασθενής, η χορήγησή της είναι συμβατή με όλα τα αντιυπερτασικά φάρμακα που δεν περιλαμβάνουν την cGMP στους μηχανισμούς των. Υπάρχουν επιφυλάξεις όταν ο ασθενής λαμβάνει συνδυασμό φαρμάκων ή παρουσιάζει καρδιακή ανεπάρκεια με αρτηριακή πίεση μικρότερη των 90 mmHg. Ελάχιστα προβλήματα δημιουργεί η συγχορήγησή της με άλλα φάρμακα, με εξαίρεση τα νιτρώδη. Τα φάρμακα αυτά χρησιμοποιούνται σήμερα με επιτυχία και στους ασθενείς που εμφανίζουν πνευμονική υπέρταση, ενώ πειραματικά δεδομένα συνηγορούν στο γεγονός ότι τα φάρμακα αυτά έχουν και καρδιοπροστατευτικό χαρακτήρα, καθώς δημιουργούν συνθήκες όμοιες με την ισχαιμική προδιάθεση (64-67).

Στον άνθρωπο, η χορήγηση της βιταμίνης C βελτιώνει την αγγειοδιαστολή που εξαρτάται από το NO που παράγεται από το ενδοθήλιο και αυτό οφείλεται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της βιταμίνης αυτής (31).

Η ρύθμιση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των NMDA-υποδοχέων μπορεί να δώσει θεραπευτικές δυνατότητες σε πολλές νευρολογικές διαταραχές που διαμεσολαβούνται από τους υποδοχείς αυτούς. Ιδιαίτερα σε καταστάσεις εγκεφαλικής ισχαιμίας, όπου η σχέση των υποδοχέων αυτών και του NO αναπτύχθηκε επαρκώς, η χορήγηση οξειδωτικών φαρμάκων και η πλήρης οξείδωση των υποδοχέων εμποδίζει την υπερδιέγερσή τους, χωρίς να επηρεάζει την ευεργετική τους δράση στην πλαστικότητα των νευρώνων. Η χορήγηση οξειδωτικών ουσιών πλεονεκτεί της χορήγησης αποκλειστών των υποδοχέων αυτών ή αποκλειστών των διαύλων των ιόντων και αποφεύγονται ανεπιθύμητες ενέργειες (37,38).

Ο ανασταλτικός ρόλος του NO στην ανάπτυξη της φλεγμονής αναπτύχθηκε προηγουμένως. Το ίδιο όμως εξηγήθηκαν και οι κίνδυνοι από το σχηματισμό του υπεροξεινιτρώδους που αναστρέφει την προστασία αυτή και τη μετατρέπει σε απειλή. Μέχρι στιγμής δεν έχει απαντηθεί το ερώτημα αν σε περιπτώσεις φλεγμονής θα πρέπει να χορηγούνται φάρμακα που προάγουν την απελευθέ-



**Εικόνα 11.16: Αγγειοδραστικά φάρμακα που επηρεάζουν τη σύση. Σχηματικό μοντέλο φαρμακολογικής παρέμβασης σε επίπεδο ενζύμων.** Το συντιθέμενο από το ενδοθήλιο των αγγείων ή από μη αδρενεργικά ή χολινεργικά νεύρα NO περνά στις λείες μυϊκές των σηραγγωδών σωμάτων και προάγει τη χάλαση αυτών μέσω μηχανισμών που αναπτύσσονται από το κυκλικό νουκλεοτίδιο cGMP (cyclic Guanine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη), τη σύνθεση του οποίου προάγει, και οι οποίοι μηχανισμοί κινητοποιούνται κυρίως από την PKG (Protein Kinase G: Πρωτεϊνική κινάση G). Η σιλδεναφίλη αναστέλλει τη δράση της PDE5 (Phosphodiesterase 5: Φωσφοδιεστεράση 5) η οποία διασπά την cGMP. Με το μηχανισμό αυτό παρατείνεται η διασταλτική δράση της cGMP. Ανάλογη δράση παρουσιάζει και η παπαβερίνη. Το φάρμακο αυτό αναστέλλει και τη δράση της PDE3 η οποία διασπά την cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη) η οποία επίσης έχει αγγειοδιασταλτικές δράσεις. Το κυκλικό αυτό νουκλεοτίδιο είναι προϊόν της ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη) μετά την ενεργοποίηση της AC (Adenylcyclase: Αδενυλοκυκλάση) που είναι συνέπεια της διέγερσης υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη των σηραγγωδών σωμάτων από ουσίες όπως η προσταγλανδίνη E-1 (PGE-1: Prostaglandin E-1). Φάρμακα αγωνιστές των αδρενεργικών υποδοχέων, όπως η φαιτολαμίνη, αναστέλλουν τους μηχανισμούς αυτούς.

*Trends Pharmacol. Sci.* 21,2000

ρωση του NO ή θα πρέπει να αναστέλλουν τη σύνθεση του. Φάρμακα, όμως, που δρουν ως αναστολείς του υπεροξεινιτρώδους ή ως αναστολείς των PARS θα μπορούσαν να δράσουν ανασταλτικά στην προσκόλληση των πολυμορφοπυρήνων και στην εξαγγείωσή τους σε συνθήκες φλεγμονής. Ένας αναστολέας των PARS, η 3-αμινοβενζαμίδη, απεδείχθη ότι αναστέλλει την εξαγγείωση των πολυμορφοπυρήνων αυξάνοντας το ρυθμό αποκόλλησής τους από το φλεγμαίον ενδοθήλιο (52).

Επιθυμητή, επίσης, είναι η σύνθεση ενός εκλεκτικού αναστολέα της iNOS, ώστε να ελαττωθούν κατά ελεγχόμενο τρόπο τα αυξημένα ποσά του NO που συντίθενται κατά τη φλεγμονή, χωρίς να ανασταλεί η σύνθεση του μορίου αυτού που παράγεται από το ενδοθήλιο και ασκεί προστατευτικό ρόλο.

Σήμερα έχει διαπιστωθεί ότι πολλά από τα γνωστά αντιφλεγμονώδη φάρμακα παρεμβαίνουν στους μηχανισμούς που συνδέονται με το NO.

Έχει διαπιστωθεί ότι τα σαλικυλικά φάρμακα δρουν ανασταλτικά στη γονιδιακή μεταγραφή της iNOS και ο μηχανισμός αυτός, που είναι ανεξάρτητος από την ενεργοποίηση του παράγοντα NF-κΒ, αποτελεί ένα κομμάτι του συνόλου των μηχανισμών με τους οποίους οι ουσίες αυτές ασκούν αντιφλεγμονώδη ενέργεια. Στη σχέση NO και μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ έχει ήδη γίνει αναφορά. (27,45)

Επίσης, είναι γνωστό ότι η δεξαμεθαζόνη είναι αναστολέας της iNOS τόσο στο επίπεδο της γονιδιακής μεταγραφής όσο και σε επίπεδα μετά από αυτήν. (45).

Αντίθετα, πολλά άλλα αντιφλεγμονώδη φάρμακα, όπως τα γλυκοκορτικοειδή δρουν με μηχανισμό που έχει σχέση με τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ. Τα φάρμακα αυτά αυξάνουν την ενεργότητα της πρωτεΐνης IκΒ της οποίας ο ρόλος στην απενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ και την αναστολή σύνθεσης των φλεγμονογόνων στοιχείων αναπτύχθηκε επαρκώς. Με το μηχανισμό αυτό τα συγκεκριμένα φάρμακα ασκούν αντιφλεγμονώδη ενέργεια (27).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lames S., Perez-Sala D., Moncada S.: Nitric oxide: from discovery to the clinic. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:436-438,1998
2. Colasanti M., Suzuki H.: The dual personality of NO. *Trends Pharmacol.Sci.* 21:249-251, 2000
3. Giumaraes S., Moura D.: Advances in vascular neuroeffector mechanisms. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:90-93,1999
4. Reid J, Beart P., Marley P.: NO problems down-under. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:205-208, 1996
5. Malikian N., Wheatcroft S., Oqah O., Murphy C.: Asymmetric dimethylarginine and reduced nitric oxide bioavailability in young black african men. *Hypertension* 2007, in press
6. Πλέσσας Χ., Πλέσσας Σ.: Οξειδίο του αζώτου. Βραβείο Nobel Ιατρικής και Φυσιολογίας 1998. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 16: 133-143, 1998
7. Coldring C., Narayan R., Lagadec P., Jeannin J.: Transcriptional inhibition of the inducible nitric oxide synthase gene by competitive binding of NF-κB/Rel proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 216:438-446, 1995
8. Murphy W.: Transcriptional regulation of genes encoding nitric oxide synthase. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide". Marcel Dekker Inc., N.York, p1, 1999
9. Man-Ying Chan M., Fong D.: Modulation of nitric oxide pathway by natural products. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide". Marcel Dekker Inc.,N.York, p333,1999
10. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press, Θεσσαλονίκη, 2003
11. Κόκκας Β.: Αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες και γουανυλοκυκλάσες. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 14: 27-32, 1996
12. Luncher T., Vanhoute.: The endothelium. Modulator of cardiovascular function. CRC Press, Boca Raton., 1990
13. Rotenberg S.: Poles of protein kinase C in the synthesis and cellular action of nitric oxide. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide".Marcel Dekker Inc., N.York, p171, 1999
14. Cirino G., Fiorucci S., Sessa W.: Endothelial nitric oxide synthase. The cinderella of inflammation? *Trends Pharmacol. Sci.* 24:91-94,2003
15. Yao X., Huang Y: From nitric oxide to endothelial cytosolic Ca<sup>2+</sup>. A negative feedback control. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:263-266,2003
16. Giustarini D., Milzani A., Colombo R., Dalle-Donne I., Rossi R.: Nitric oxide, S-nitrosothiols and hemoglobin. Is methodology the key? *Trends Pharmacol. Sci.* 25:311-316, 2004
17. Hoobs A., Gladwin M., Patel R., Ly D., Butler W., Butler A.: Hemoglobin. NO transporter, NO activator or None of the above? *Trends Pharmacol. Sci.* 23:406-

- 411,2002
18. Hobbs A.: Soluble guanylate cyclase. The forgotten sibling. *Trends Pharmacol. Sci.* 18:484-491,1997
  19. Τρακατέλης Α.: Βιοχημεία. Γραφικές Τέχνες Γ.Δελούση,Θεσσαλονίκη, 1992
  20. Thom S., Ischiropoulos H.: Nitric oxide, peroxynitrite and carbon monoxide poisoning. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide".Marcel Dekker Inc., N.York, p105, 1999
  21. Simonescu M.: Vascular Endothelium. More complex than previously thought. In: Moberg R., Siekevitz P. (eds) "Entering an unseen world. The rise of modern cell biology". Rockefeller Univ. Press. New York, 2002
  22. Buxton I.: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. In: Brunton L. et al (eds) "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill, New York pp 1-40,2006
  23. Clementi E., Meldolesi J.: The cross-talk between nitric oxide and Ca<sup>2+</sup>. A story with a complex past and a promising future. *Trends Pharmacol. Sci.* 18:266-269, 1997
  24. Michel J.: Effets de l' angiotensin II. En: Michel J. et col. (eds.) "Medecine cardiovasculaire du système renine angiotensin.", Paris, Editions Pradel, p 57,1992
  25. Katzung B., Chatterjee K.: Vasodilators and the treatment of angina pectoris. In: Katzung B. (ed). "Basic and clinical pharmacology" Con.USA, Appleton and Lange, p171, 1995
  26. Zeldin D., Liao J. Reply.: Cytochrome P450-derived eicosanoids and the vascular wall. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:127-128, 2000
  27. Campbell W.: New role for epoxyeicosatrienoic acids as anti-inflammatory mediators. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:125-126, 2000
  28. Quilley J., McGift J.: Is EDHF an epoxyeicosatrienoic acid? *Trends Pharmacol. Sci.* 21:121-124, 2000
  29. Ghafourifar P., Cadenas E.: Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:190-195,2005
  30. Cocks T., Moffat J.: Protease activated receptors. Sentries for inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:103 –108, 2000
  31. Weinberg J.: Nitric oxide and inflammation in autoimmune disorders. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide".Marcel Dekker Inc., N.York, p199, 1999
  32. Millatt L, Abdel-Rahman E., Sigary H.: Angiotensin II and nitric oxide. A question of balance. *Regul.Pept.* 81:1-10, 1999
  33. Fernandez A., Gonzalez C.: Nitric oxide and the renin-angiotensin system. Is there a physiological interplay between the system. *J. Hypertens.* 17:1355-61,1999
  34. Gibbons G.: Homeostatic balance between angiotensin II and nitric oxide. *Clin. Cardiology* 20(Suppl.II):3-10, 1997
  35. Κόκκας Β, Παπακωνσταντίνου Ε., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Αγγειοτασίνη και δομή

- του αγγειακού τοιχώματος. *Αρτηριακή Υπέρταση* 7:73 –81,1998
36. Nicotera P, Brune B., Bagette G.: Nitric oxide. Inducer or suppressor of apoptosis. *Trends Pharmacol. Sci.* 18:189-190, 1997
  37. Lipton S, Choi Y, Sucher N., Pan Z.: Redox State, NMDA receptors and NO-related species. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:186 –187, 1996
  38. Gozian H., Ben-Ari Y.: NMDA and GABA<sub>A</sub> receptors and the redox modulation. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:187 –188,1996
  39. Huie R., Padjama S.: The reaction of NO with superoxide. *Free Rad. Res. Comm.* 18:195-199, 1993
  40. Nicotera P, Leist M., Manzo L.: Neuronal cell death. A demise with different shapes. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:46-51,1999
  41. Ward C, Dransfield I, Chilvers E, Haslet C, Ross A.: Pharmacological manipulation of granulocyte apoptosis. Potential therapeutic targets. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:503-509, 1999
  42. D. Laskin J., Mariano T.: Nitric oxide as a molecular mediator of apoptosis. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide". Marcel Dekker Inc., N.York, p269, 1999
  43. Albina J., Reichner J.: Role of nitric oxide in mediation of macrophage cytotoxicity and apoptosis. *Cancer Metastasis Rev.* 17:39-53, 1998
  44. Παπαδόπουλος Κ.Α., Κόκκας Β.: Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επί καρδιακής ανεπάρκειας. *Αρτηριακή Υπέρταση* 6:76-83, 1997
  45. Farivart S., Brecher P.: Salicylate is a transcriptional inhibitor of the inducible nitric oxide synthase in cultural cardiac fibroblast. *J.Biol.Chem.* 271:31585-31592, 1996
  46. Munford R.: Sepsis and septic shock. In: Braunwald E. et al (eds) 'Harrison's Principles of internal Medicine'. McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp799-804,2001
  47. Hoerrner L., Kowalski A., Diamond J., Wilson P., Deghardit J.: Homeostatic and pathological actions of nitric oxide in the kidney. In: Laskin J. and Laskin D. (eds)"Cellular and molecular biology of nitric oxide".Marcel Dekker Inc., N.York, p137, 1999
  48. Vallance P., Leone A., Calver A., Moncada S.: Accumulation of endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339:572-575, 1992
  49. Mody I, MacDonald J.: NMDA receptor dependent excitotoxicity. The role of Ca<sup>2+</sup> release. *Trends Pharmacol. Sci.* 16:356-359, 1995
  50. Koroshetz W., Moskowitz M.: Emerging treatments for stroke in humans. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:227-233, 1996
  51. Szabo C., Dewson V.: Role of poly(ADP-ribose) synthtase in inflammation and ischemia-reperfusion. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:287-297, 1998
  52. Perretti M.: Endogenous mediators that inhibit the leukocyte-endothelium interaction. *Trends Pharmacol. Sci.* 18:418 –424, 1997

53. Eder J.: Tumour necrosis factor  $\alpha$  and interleukin 1 signalling. *Trends Pharmacol. Sci.* 18:319-322, 1997
54. Clementi E., Borgese N., Meldolesi J. Interactions between nitric oxide and sphingolipids and the potential consequences in physiology and pathology. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:518-523, 2003
55. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Π.Κ., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Οξειδίο του αζώτου ή νιτροξειδίο, καρδιαγγειακό σύστημα και φάρμακα: Επιθ. Κλιν. Φαρμακολογίας και Φαρμακοκινητικής. 18:149-162,2000
56. Kerins D., Robertson R., Robertson D.: Drugs used for the treatment of myocardial ischemia. In: Hardman J., Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics." McGraw - Hill, New York 843-870,2001
57. Bennet B, MacDonald B, Nigam R., Simon W.: Biotransformation of organic nitrates and vascular smooth muscle. *Trends Pharmacol. Sci.* 15:245-249, 1994
58. Soldato P, Sorrentino R., Pinto A.: NO-aspirins: a class of new antinflammatory and antithrombotic agents. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:319-323, 1999
59. Yamamoto T, Bing R.: Nitric oxide donors. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 225:200-206,2000
60. Κόκκας Β.: Εκλεκτικοί αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης-1. Προβλήματα και προοπτικές. Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν. 17:43-48, 2000
61. Egolt R., Heindel N.: Structure-activity relationships in NOS inhibitors. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide". Marcel Dekker Inc., N.York, p125, 1999
62. Dell' Aqli M., Busciala A., Bosisio E.: Vascular effects of winw polyphenols. *Cardiovasc. Res.* 63:593-602,2004
63. Liaudel L, Schaller M., and Feihl F.: Selective pharmacological inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental septic shock. In: Vincent (ed) "Yearbook of emergency and intensive care medicine". Springer Verlag, Berlin 161-177, 1998
64. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Στυτική δυσλειτουργία. Καρδιολογικά προβλήματα εκ της θεραπείας. Η θέση της σιλденаφίλης. *Ιατρική.* 79:421-427,2001
65. Cheitlin M, Huller A., Brindis R.: Use of sildenafil (Viagra) in patients with cardiovascular disease. *JACC* 10:69-74, 1999
66. Wallis R, Corbin J., Francis S.: Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildanafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function and the contractile response of trabeculae carneae and the aortic rings in vitro. *Am. J. Cardiol.* 83:3-12,1999
67. Reffelman T., Kloner R.: Cardiovascular effects of phosphodiesterase 5 inhibitors. *Curr. Pharm. Des.* 12:3485-3494,2006



## ΔΩΔΕΚΑΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΕΣ ΚΑΙ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Κ. Λ. Παπαδόπουλος και Β. Α. Κόκκας

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Η ενδοθηλίνη-1 είναι η πλέον ισχυρή αγγειοσυσπαστική ουσία που έχει ευρεθεί μέχρι σήμερα. Οι βιολογικές ενέργειες των ενδοθηλινών διαμεσολαμβάνονται από δύο διαφορετικούς υποδοχείς, τους ET<sub>A</sub> και ET<sub>B</sub>, οι οποίοι έχουν διαφορετικές φαρμακολογικές ιδιότητες και ιστική κατανομή. Η ET-1 λόγω των ισχυρών αγγειοσυσπαστικών της ενεργειών και των ιδιαίτερων ενεργειών που ασκεί στους νεφρούς ενοχοποιείται ως ένας από τους παθογενετικούς παράγοντες της συστηματικής υπέρτασης. Από την άλλη πλευρά, πολλή συζήτηση γίνεται για τον πραγματικό ρόλο της ουσίας αυτής στην υπέρταση. Σήμερα, ένας σημαντικός αριθμός φαρμάκων αποκλειστών των υποδοχέων της ET-1 ευρίσκονται σε διάφορα στάδια δοκιμασιών ή κυκλοφορούν ως αντιυπερτασικά φάρμακα ιδίως κατά της πνευμονικής υπέρτασης. Η εναλλακτική λύση, δηλαδή οι αποκλειστές του μετατρεπτικού ενζύμου των ενδοθηλινών, είναι ακόμη σε φάση έρευνας.*

#### Εισαγωγή

Οι ενδοθηλίνες ανήκουν στα πρωτεύοντα μέλη της διαρκώς διευρυνόμενης οικογένειας των νευροορμονικών παραγόντων που ρυθμίζουν την κυκλοφορία και πολλές άλλες λειτουργίες υπό φυσιολογικές και παθολογικές συνθήκες. Εκκρίνονται σε μικρές ποσότητες κυρίως από το υγιές ενδοθήλιο και οι ποσότητες αυτές πολλαπλασιάζονται, όταν το τελευταίο δυσλειτουργεί. Οι σχέσεις της ενδοθηλίνης προς την αρτηριακή υπέρταση είναι πολύ ενδιαφέρουσες και θα αναπτυχθούν στη συνέχεια.

## Ταυτότητα των ενδοθηλινών

Οι ενδοθηλίνες είναι μια οικογένεια ισόμορφων πεπτιδίων με χαρακτηριστικές αγγειοδραστικές ενέργειες. Η πρώτη ενδοθηλίνη (ET) απομονώθηκε από καλλιέργειες αορτικών ενδοθηλιακών κυττάρων και διαπιστώθηκε ότι ήταν ένα πεπτίδιο αποτελούμενο από 21 αμινοξέα. Με τα πρώτα πειράματα διαπιστώθηκε ότι η ουσία αυτή είχε ισχυρά αγγειοσυσπαστική δράση (1).

Υπάρχουν τρία είδη ενδοθηλινών, η ET-1, η ET-2 και η ET-3. Κάθε μόριο ενδοθηλίνης αποτελείται από μία αλυσίδα αμινοξέων που στο ένα πέρας παίρνει τη μορφή αγκύλης, τα δύο σκέλη της οποίας ενώνονται με δύο δισουλφιδικές αλυσίδες. Οι αλυσίδες αυτές ενώνουν ζεύγη υπολοίπων κυστεΐνης και δίνουν στο μόριο μια ασυνήθιστη ημικωνική δομή. Το μόριο της ET-2 διαφέρει από το μόριο της ET-1 κατά δύο αμινοξέα στην αγκύλη του μορίου και εκείνο της ET-3 κατά έξι αμινοξέα στην αγκύλη και τις περιοχές που ενώνονται με τους δισουλφιδικούς δεσμούς. Από αυτές, η ET-1 έχει τη μεγαλύτερη σημασία για το καρδιαγγειακό σύστημα, διότι από τις ενδοθηλίνες είναι εκείνη η ισόμορφη ουσία που κυριαρχεί στο αγγειακό σύστημα και ασκεί την ισχυρότερη αγγειοσυσπαστική ενέργεια που έχει ευρεθεί μέχρι τώρα (2-7).

Τα κυριότερα όργανα παραγωγής των ενδοθηλινών είναι το ενδοθήλιο (ET-1 και ET-3), οι αγγειακές λείες μυϊκές ίνες (ET-1) με ικανότητα σύνθεσης 1/100 σε σχέση με το ενδοθήλιο, η καρδιά (ET-1 και ET-2), οι νεφροί (ET-1 και ET-2), ο οπίσθιος λοβός της υπόφυσης (ET-1), το ΚΝΣ (ET-1 και ET-3), το γαστρεντερικό σύστημα (ET-3) και οι ενδοκρινείς αδένες (ET-3).

Κάθε μέλος της οικογένειας των ενδοθηλινών αντιπροσωπεύεται από ένα ξεχωριστό γονίδιο που κωδικοποιεί μια ειδική πρόδρομη μορφή η οποία εξελίσσεται στην αντίστοιχη ώριμη μορφή. Υπάρχουν ουσίες μέσα στο κύτταρο που προάγουν τη σύνθεση των ενδοθηλινών και ουσίες που την αναστέλλουν. Από τις ουσίες που δρουν ως ευοδωτές, γνωστές είναι η ενεργοποιός πρωτεΐνη-1 (AP-1: Activator Protein-1) και ο πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας NF-κΒ (Nuclear Factor-κΒ). Όταν η ισορροπία ευοδωτών και αναστολέων κλίνει προς την πλευρά των ευοδωτών, τότε διεγείρεται ο παρακίνητης ή προαγωγέας (promoter) των γονιδίων της ET-1 και προάγεται η σύνθεση του αντίστοιχου mRNA. Η κυριότερη περιοχή σύνθεσης της ET-1 όπως συνάγεται από την έκφραση του mRNA για την αρχική πρόδρομη μορφή αλλά και από την ενδοκυττάρια παρουσία του ενζύμου μετατροπής της ενδοθηλίνης (ECE: Endothelin Converting Enzyme), είναι το ενδοθήλιο (6,8,9).

## Βιοσύνθεση των ενδοθηλινών

Η σύνθεση της ET-1 ξεκινά από ένα μεγαλοπεπτίδιο που αποτελείται από 212 αμινοξέα και ονομάζεται προ-προ- ενδοθηλίνη-1 (pre-pro-ET-1). Το mRNA για

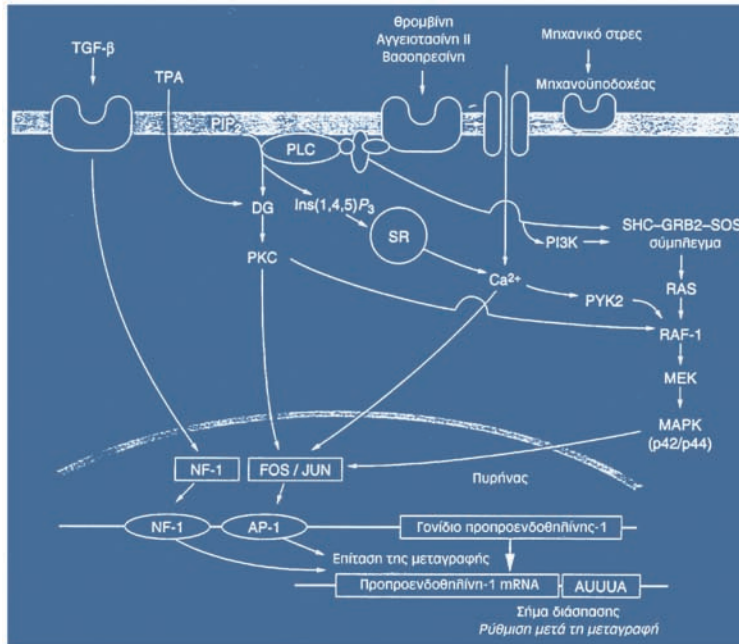
την προ-προ-ET-1 έχει αλληλουχίες πλούσιες σε αδενίνη και ουρακίλη που προάγουν εκλεκτικά την αστάθεια του μορίου και γι' αυτό το τελευταίο διαρκεί μόνο 15 λεπτά. Η πρόδρομος αυτή ουσία, υπό την επίδραση ενός ενζύμου που δρα ως πρωτεάση και ονομάζεται φουρίνη, υφίσταται αποκοπή και μετατρέπεται στη μεγάλη ET-1 (Big ET-1) που αποτελείται από 38 αμινοξέα και είναι ένα αδρανές ενδιάμεσο προϊόν. Η τελευταία με την επίδραση του μετατρεπτικού ενζύμου (ECE: Endothelin Converting Enzyme) μετατρέπεται στη δραστική ET-1 που αποτελείται από 21 αμινοξέα. Υπάρχουν τουλάχιστον τρία ισόμορφα του ECE, ενώ το ένζυμο αυτό δεν είναι το μοναδικό που καταλύει τη μετατροπή αυτή. ET-1 σχηματίζεται και από παράπλευρες βιοχημικές οδούς. Παρόλο που η μετατροπή της μεγάλης ET-1 στα κύτταρα σύνθεσης, όπως είναι τα ενδοθηλιακά, είναι κυρίως ενδοκυτταρική διαδικασία, υπάρχουν ενδείξεις ότι από την πρόδρομη αυτή ουσία μπορεί να κοπεί η ET-1 με τη δράση της ECE-1 και στην επιφάνεια κυττάρων όπως είναι οι λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος (2,5,6,10).

Τα ένζυμα ECE ανήκουν σε μια οικογένεια ενζύμων που είναι μεταλλοπρωτεάσες συνδεδεμένες με ψευδάργυρο. Υπάρχουν δύο γονίδια που κωδικοποιούν δύο διαφορετικά ένζυμα. Αυτά είναι το ECE-1 και ECE-2. Από αυτά, το πρώτο επάγει τις περισσότερες αντιδράσεις σχηματισμού της ET-1 και υφίσταται με δύο ισομερείς μορφές που κωδικοποιούνται από το ίδιο γονίδιο. Πρόκειται για το ECE-1<sub>a</sub> και ECE-1<sub>b</sub> που όπως φαίνεται έχουν διαφορετικούς ρόλους και διαφορετική κατανομή ιστών και διαφέρουν μεταξύ τους κατά το αμινικό πέρας. Το ECE-1<sub>a</sub> ευρίσκεται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα ως ενδοκυττάριο ένζυμο, πιθανόν στη συσκευή Golgi, και το ECE-1<sub>b</sub> ευρίσκεται περισσότερο στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και παρουσιάζει εξωκυττάρια κατανομή (2,5,11,12).

Τα ένζυμα αυτά διαφέρουν από πλευράς μοριακής δομής με το MEA (Μετατρεπτικό ένζυμο μετατροπής της αγγειοτασίνης), δηλαδή με το ένζυμο που μετατρέπει την αδρανή αγγειοτασίνη I (AT-I) σε δραστική αγγειοτασίνη II (AT-II) ενώ παράλληλα μεταβολίζει την αγγειοδιασταλτική βραδυκινίνη. Μοιράζονται όμως μια εντυπωσιακή ομολογία αμινοξέων με ένα άλλο ένζυμο, την ουδέτερη ενδοπεπτιδάση-24.11 (NEP: Neutral Endopeptidase-24.11). Το ένζυμο αυτό ευρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη διαφόρων κυττάρων όπως τα επιθηλιακά και τα νευρικά και παίζει ρόλο στην αδρανοποίηση ρυθμιστικών πεπτιδίων όπως είναι το αγγειοδιασταλτικό πεπτίδιο που ονομάζεται κολπικό νατριοδιουρητικό πεπτίδιο (ANP: Atrial Natriuretic Peptide). Τα ECE αδρανοποιούνται από τη φωσφοραμιδόνη, όχι όμως και από τους αναστολείς του ACE (2,11,12).

### **Ευοδωτές και αναστολείς της σύνθεσης της ενδοθηλίνης**

Υπάρχουν διάφορες άλλες ενδογενείς ουσίες και παράγοντες που ευοδώνουν



**Εικόνα 12.1: Ρυθμιστικοί μηχανισμοί κατά τη σύνθεση της ενδοθηλίνης-1.** Όπου AP-1 (Activator Protein-1: Ενεργοποιός πρωτεΐνη-1), μεταγραφικός παράγοντας που αποτελείται από τα μόρια FOS και JUN, DG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη), G (GTP Binding Protein: Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με GTP), GRB2 (Growth factor Receptor Bound 2), Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (Inositol Triphosphate:Τριφωσφορική ινοσιτόλη), MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase: Πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιούμενη από το μιτογόνο), MEK (Extracellular signal regulated Protein Kinase: Πρωτεϊνική κινάση που ρυθμίζεται από εξωκυττάρια σήματα ), NF-1 (Μεταγραφικός παράγοντας NF-1), PI3K (Phosphatidylinositol-3 Kinase: Κινάση 3 της φωσφατιδυλικής ινοσιτόλης), PIP<sub>2</sub> (Phosphatidylinositol Biposphate: Διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη), PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C), PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C), RYK2 (Proline-Rich tyrosine Kinase 2: Τυροσινική κινάση πλούσια σε προλίνη), SHC ( Sh2- Containing Protein: Πρωτεΐνη περιέχουσα Sh2 ), SOS (Son of Sevenless), SR (Sarcoplasmic Reticulum: Σαρκοπλασματικό δίκτυο), TGF-β (Transforming Growth Factor β: Μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β),TPA (12-o-tetradecanoylphorbol 13-acetate: 12-ο-οξική τετραδεκανούλοφορβόλη).  
*Trends Pharmacol. Sci 20,1999*

τη σύνθεση της ET-1. Μεταξύ των ουσιών και των παραγόντων αυτών περιλαμβάνονται (2,3,13,14):

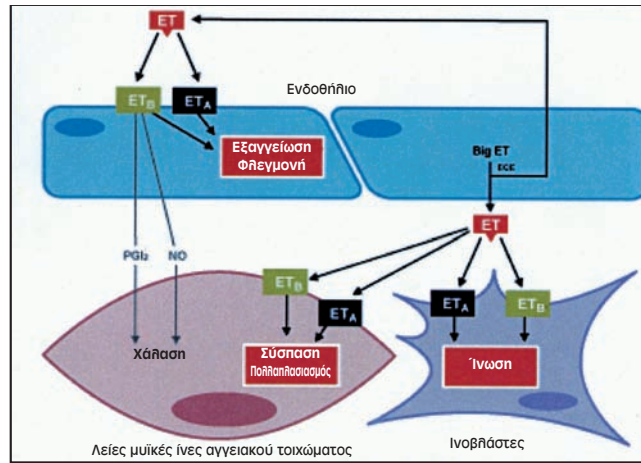
- α) Ορμόνες όπως η αδρεναλίνη, η αγγειοτασίνη II, η ινσουλίνη, η κορτιζόλη και η αντιδιουρητική ορμόνη (ADH: Antidiuretic Hormone).
- β) Παρακρινή πεπτίδια όπως οι κυτταροκίνες ιντερλευκίνη-1 (IL-1: Interleukin-1) και ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β (TGFβ: Transforming Growth Factor β), η ενδοθηλίνη με μηχανισμό θετικής ανατροφοδότησης και η ενδοτοξίνη.
- γ) Διάφοροι αιματογενείς παράγοντες όπως η θρομβίνη, η γλυκόζη και η οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL-ox). Εκτός από τις ενδογενείς ουσίες, ανάλογη ενέργεια ασκεί το κυτταροστατικό φάρμακο κυκλοσπορίνη.
- δ) Διάφοροι φυσικοχημικοί παράγοντες όπως η υποξία και η μειωμένη ωσμωτική πίεση. Την ίδια ενέργεια ασκούν και οι ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου που αθροίζονται κατά την ισχαιμία. Η υδροστατική υπερπίεση και η διαμήκης τάση προκαλούν την έκκριση της ET-1 στα πλαίσια της κινητοποιούμενης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας.

Παράλληλα, υπάρχουν και ενδογενείς ουσίες και παράγοντες που αναστέλλουν τη σύνθεση της ET-1. Προεξάρχουν η προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>), το οξειδιο του αζώτου (NO) και τα νατριουρητικά πεπτίδια ANP, BNP, CNP. Και οι τρεις ουσίες ελαττώνουν το ελεύθερο ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup>, η πρώτη αυξάνοντας την ενδοκυττάρια κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP: cyclic Adenosine Monophosphate) και οι δύο τελευταίες αυξάνοντας την ενδοκυττάρια κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP: cyclic Guanosine Monophosphate). Η ηπαρίνη δρα επίσης ανασταλτικά. Ανασταλτική ενέργεια έχει και η διατμητική τάση η οποία, ως γνωστόν, προάγει την απελευθέρωση αγγειοδιασταλτικών ουσιών.

Υπάρχουν σαφή ευρήματα που συνηγορούν στο γεγονός ότι οι ενδοθηλίνες αδρανοποιούνται με ενδοκυττάρωση που διαμεσολαβείται από τους ET<sub>B</sub>- υποδοχείς. Στην αδρανοποίηση των ενδοθηλινών συμμετοχή έχουν και οι ενδοπεπτιδάσες (2,3,15).

### **Υποδοχείς και φαρμακολογικές ενέργειες της ενδοθηλίνης-1**

Οι ενδοθηλίνες δρουν διεγείροντας τους ομώνυμους υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων στόχων. Οι υποδοχείς αυτοί είναι δύο ειδών και διακρίνονται στους ET<sub>A</sub> και ET<sub>B</sub>. Ανήκουν στην ομάδα των υποδοχέων που συνδέονται με την G-πρωτεΐνη. Πρόκειται για υποδοχείς οι οποίοι είναι υδρόφιλες πρωτεΐνες που διατμηραίνουν την κυτταρική μεμβράνη πολλαπλά και κατά ελικοειδή τρόπο, με αποτέλεσμα επτά τμήματα της έλικας να είναι μεμβρανικά



**Εικόνα 12.2: Ενέργειες που διαμεσολαβούνται από τους υποδοχείς της ενδοθηλίνης.** Η ενδοθηλίνη (ET) η οποία συντίθεται στο ενδοθήλιο με τη δράση του μετατρεπτικού ενζύμου (ECE) από τη μεγάλη ET (Big ET) απελευθερώνεται και ασκεί τις ενέργειές της μέσω υποδοχέων. Η διέγερση των υποδοχέων-ET<sub>A</sub> της ενδοθηλίνης στο ενδοθήλιο προάγει την εξαγγείωση και τη φλεγμονή. Παράλληλα και στο ίδιο κύτταρο οι υποδοχείς-ET<sub>B</sub> διεγείρουν τη σύνθεση και την απελευθέρωση από το ενδοθήλιο της προστακυκλίνης (PGI<sub>2</sub>) και του οξειδίου του αζώτου (NO), τα οποία, με τη σειρά τους, περνούν στον μυϊκό χιτώνα και προκαλούν τη χάλαση αυτού. Συγχρόνως, η ενδοθηλίνη διεγείρει υποδοχείς ET<sub>A</sub> και ET<sub>B</sub> στις λείες μυϊκές ίνες και στους ινοβλάστες του αγγειακού τοιχώματος και προάγει τη σύσπαση των πρώτων και τον πολλαπλασιασμό αμφοτέρων.  
*Endothelin Sciences.com. Internet 2005*

ενώ οι αγκύλες βλέπουν προς τον εξωκυττάριο και τον ενδοκυττάριο χώρο, ανάλογα. Η δομή και η λειτουργία των υποδοχέων αυτών καθώς και μοριακές βιοχημικές οδοί που κινητοποιούνται από αυτούς έχουν ήδη αναπτυχθεί με κάθε λεπτομέρεια στα αρχικά κεφάλαια του πονήματος αυτού. Ως εκ τούτου, οι περιγραφές που ακολουθούν είναι συνοπτικές (16).

Οι υποδοχείς-ET<sub>A</sub> διεγείρονται κυρίως από την ET-1, ασθενέστερα από την ET-2 και πολύ ασθενέστερα από την ET-3. Οι ET<sub>B</sub>-υποδοχείς διεγείρονται στον ίδιο βαθμό και από τις τρεις ενδοθηλίνες (2,17).

Υπάρχουν απόψεις που συνηγορούν στην ύπαρξη και τρίτου είδους υποδοχέα για τις ενδοθηλίνες, του ET<sub>C</sub>-υποδοχέα, όπου η ET-3 δρα ισχυρότερα. Η ύπαρξη του υποδοχέα αυτού έχει διαπιστωθεί σε άλλα είδη, δεν έχει όμως μέχρι τώρα επισημανθεί και στον άνθρωπο (4,18).

Οι ενδοθηλίνες αποσυνδέονται από τους υποδοχείς τους με βραδύ ρυθμό. Αυτό πιθανόν να εξηγεί και την παρατεταμένη δράση των ενδοθηλινών στους υποδοχείς αυτούς (3,10,19).

Από μοριακής πλευράς, η διέγερση τόσο των υποδοχέων-ET<sub>A</sub> όσο και των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> που ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των λείων μυϊκών ινών, ενεργοποιεί κυρίως το σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC) που ευρί-

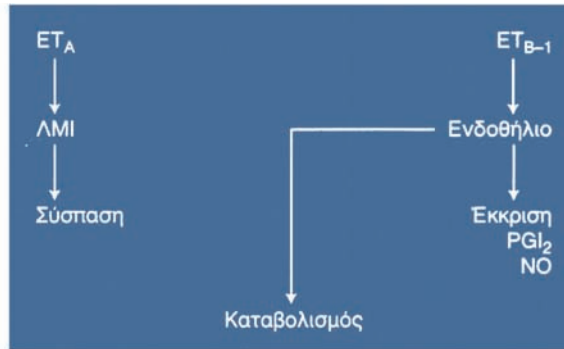
σκεται στην ίδια μεμβράνη. Η PLC υδρολύει τη διφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη ( $PIP_2$ ) της κυτταρικής μεμβράνης προς τριφωσφορική ινοσιτόλη ( $IP_3$ ) και διακυλογλυκερόλη (DAG). Οι δύο αυτές ουσίες περνούν στο κυτταρόπλασμα και μεταφέρουν το σήμα των ενδοθηλινών προς τα ενδότερα του κυττάρου. Η  $IP_3$  προκαλεί αύξηση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  κινητοποιώντας το τελευταίο από τις ενδοκυττάρια αποθήκες. Με τον τρόπο αυτό διεγείρονται οι μηχανισμοί βιολογικής απάντησης του κυττάρου. Η DAG ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) και αυξάνει την ευαισθησία μηχανισμών, όπως οι συσταλτικοί, στο  $Ca^{2+}$ . Επίσης, αυξάνει το ενδοκυττάριο pH ευοδώνοντας την αντλία  $Na^+/H^+$  με όμοιο αποτέλεσμα. Συγχρόνως με αποκλεισμό των διαύλων του  $K^+$  προκαλείται αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης και αυξάνεται η είσοδος  $Ca^{2+}$ . Παράλληλα η DAG ενεργοποιεί τους μηχανισμούς μεταφοράς του μηνύματος προς τον πυρήνα. Με τον τρόπο αυτό κινητοποιούνται μηχανισμοί που σχετίζονται με την υπερπλασία και την υπερτροφία των κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος (2).

Η ET-1 διεγείρει παράλληλα το σύστημα της φωσφολιπάσης- $A_2$  ( $PLA_2$ ). Τούτο οδηγεί στη σύνθεση θρομβοξανής  $A_2$  ( $TXA_2$ ) από τα αιμοπετάλια. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συμπεριφέρονται ανάλογα με την κατάστασή τους. Αν είναι δυσλειτουργικά συνθέτουν το ενδοπεροξειδίο  $PGH_2$  το οποίο έχει αγγειοσπαστικές και θρομβογόνες ενέργειες. Αν πάλι είναι ευλειτουργικά, συνθέτουν την  $PGI_2$  με σκοπό τη χαλιναγώγηση των καταχρηστικών αγγειοσπαστικών και προθρομβωτικών επιδράσεων (2).

Η παλμιτυλίωση και η φωσφορυλίωση είναι βιοχημικές αντιδράσεις που παίζουν σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση όλων των υποδοχέων που συνδέονται με την G-πρωτεΐνη. Οι υποδοχείς  $ET_A$  και  $ET_B$  στον άνθρωπο υφίστανται αμφότεροι παλμιτυλίωση. Μόνο, όμως, ο υποδοχέας- $ET_B$  φωσφορυλιώνεται με τρόπο που εξαρτάται από την ουσία αγωνιστή. Η φωσφορυλίωση του υποδοχέα- $ET_B$  προκαλεί ταχεία αδρανοποίηση του τελευταίου. Αντίθετα, η φωσφορυλίωση των υποδοχέων- $ET_A$  είναι βραδύτερη και η αδρανοποίησή τους σχετίζεται με την ενδοκυττάρωσή τους (10,20).

### Καρδιαγγειακές δράσεις της ET-1

Οι υποδοχείς- $ET_A$  απαντούν κυρίως στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και στα μυϊκά καρδιακά κύτταρα και η διέγερσή τους οδηγεί τα αγγεία σε σύσπαση, όλα δε τα μυϊκά κύτταρα σε υπερπλασία. Είναι γνωστό ότι η ET-1 εμφανίζει συγχρόνως και χημειοτακτικές και μιτογόνες ενέργειες που διεγείρουν την υπερτροφία και την υπερπλασία του αγγειακού τοιχώματος και του μυοκαρδίου. Για την τελευταία ενέργεια ευθύνονται σε παθολογικές καταστάσεις και οι υποδοχείς- $ET_B$ . Δεδομένου, όμως, ότι συνεκκρινόμενοι ορμονικοί παράγοντες έχουν ανάλογες



**Εικόνα 12.3:** Ενέργειες που διαμεσολαβούνται από τους υποδοχείς της ενδοθηλίνης. Καταγράφονται οι λειτουργίες που διαμεσολαβούνται από τους υποδοχείς της ενδοθηλίνης-1. Κ.Α.Παπαδόπουλος, 1999

ενέργειες, τίθεται εύλογα το ερώτημα σε ποίο βαθμό συμμετέχει η ET-1 στην εξέλιξη των διαδικασιών αυτών που σχετίζονται με την υπερτροφία των αγγειακών τοιχωμάτων, την αθηροσκλήρωση και την υπερτροφία του μυοκαρδίου.

Οι υποδοχείς-ET<sub>B</sub> ευρίσκονται κυρίως στο ενδοθήλιο, δευτερευόντως δε στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων. Η διέγερσή τους στο ενδοθήλιο οδηγεί κανονικά σε παραγωγή αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως το NO και η PGI<sub>2</sub>. Σε περίπτωση, όμως, δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου, τότε αδρανοποιείται η συνθετάση της PGI<sub>2</sub>, η βιοσυνθετική διαδικασία της τελευταίας διακόπτεται στο στάδιο των κυκλικών ενδουπεροξειδίων και εκκρίνεται η αγγειοσυσπαστική προσταγλανδίνη PGH<sub>2</sub>.

Πρόσφατες, όμως, αναφορές ομιλούν και για αγγειοσύσπαση που διαμεσολαβείται από τους υποδοχείς αυτούς. Αυτά συμβαίνουν σε παθολογικές καταστάσεις και υψηλές συγκεντρώσεις ET-1, οπότε η διέγερση των υποδοχέων ET<sub>A</sub> και ET<sub>B</sub> του μυϊκού χιτώνα προκαλεί σύσπαση. Οι απόψεις συγκλίνουν στο ότι η διέγερση των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> που ευρίσκονται στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων προκαλεί αγγειοσύσπαση. Αντίθετα, η διέγερση των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> στο ενδοθηλιακό κύτταρο προάγει την αγγειοδιαστολή. Φαίνεται, όμως, ότι υπό συνθήκες ηρεμίας ο κυρίαρχος ρόλος των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> είναι η αγγειοδιαστολή. Οι ίδιοι οι υποδοχείς-ET<sub>B</sub> σχετίζονται με την απελευθέρωση της αλδοστερόνης από τη σπειροειδή στιβάδα του φλοιού των επινεφριδίων. Παράλληλα, οι υποδοχείς-ET<sub>B</sub> παίζουν σπουδαίο ρόλο στον καταβολισμό και την κάθαρση της ET-1. Ο αποκλεισμός των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> αυξάνει τα επίπεδα της ET-1 λόγω άρσης του καταβολισμού αυτής (2-4,10,21-23).

Οι ενδοθηλίνες είναι αγγειοσυσπαστικές ουσίες. Η αγγειοσύσπαση που προκαλείται από την ET-1 είναι δέκα φορές ισχυρότερη από εκείνη που προκαλεί κάθε άλλη αγγειοσυσπαστική ουσία. Πριν εκδηλωθεί η αγγειοσύσπαση, όλες οι ενδοθηλίνες, και ιδιαίτερα η ET-3, προκαλούν αγγειοδιαστολή που εξαρτάται



από το ενδοθήλιο. Τα όργανα που είναι επιδεκτικά της δράσης της ET-1 διακρίνονται σε υψηλής ευαισθησίας και χαμηλής ευαισθησίας. Ειδικότερα προκειμένου περί των αγγείων, υψηλής ευαισθησίας είναι οι φλέβες στο σύνολό τους και τα αρτηρίδια των νεφρών, του μεσεντερίου και της στεφανιαίας κυκλοφορίας. Χαμηλής ευαισθησίας είναι τα αγγεία των σκελετικών μυών. Οι λόγοι της διαφορετικής αγγειοκινητικής αντίδρασης πρέπει να αναζητηθούν στην ποικίλλουσα σχέση υποδοχέων ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub>. Όπου η υπεροχή των υποδοχέων-ET<sub>A</sub> είναι μεγάλη, προκαλείται ισχυρή αγγειοσύσπαση.

### Νευροενδοκρινείς και γονιδιακές δράσεις της ενδοθηλίνης

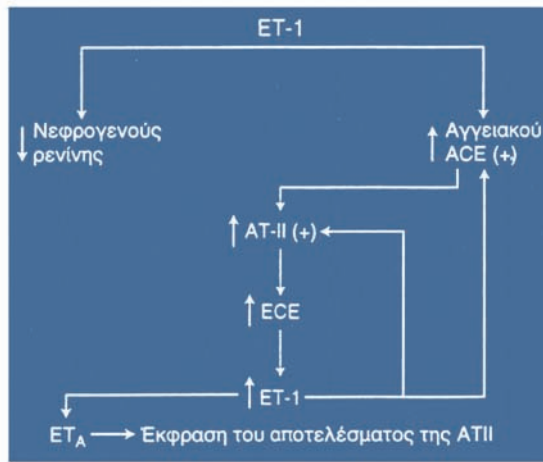
Η ET-1 προάγει την έκκριση αλδοστερόνης από τη σπειροειδή ζώνη της φλοιώδους μοίρας των επινεφριδίων και αναστέλλει την έκκριση της νεφρογενούς ρενίνης με αρνητική ανατροφοδότηση. Διεγείροντας την παραγωγή του MEA αυξάνει την ιστική σύνθεση της AT-II με την οποία παρουσιάζει ομολογίες δράσεων. Παράλληλα, διεγείρει την έκκριση της αδρεναλίνης από τη μυελώδη μοίρα των επινεφριδίων (2,3).

Επί του συμπαθητικού νευρικού συστήματος (ΣΝΣ) η ET-1 έχει ευρύτερη δράση. Προκαλεί διέγερση του κεντρικού ΣΝΣ και ενδεχομένως ασκεί όμοια επίδραση στο περιφερειακό τοιούτο. Εμποδίζει την αναστολή του τόνου του συμπαθητικού μέσω του ανακλαστικού των αορτικών τασεούποδοχέων που συμβαίνει κατά την άνοδο της αρτηριακής πίεσης, ενώ προάγει την αντίδραση των χημειούποδοχέων. Με τους τρόπους αυτούς αυξάνει, επίσης, τον τόνο του κεντρικού ΣΝΣ.

Η ET-1 διεγείρει την παραγωγή και την έκκριση από τα μυοκαρδιακά κύτταρα των κόλπων του ANP με το οποίο υπάρχει παλίνδρομο σύστημα αρνητικής αλληλορύθμισης. Οι ενέργειες του ANP συμπίπτουν σε πολλά με εκείνες της διέγερσης των υποδοχέων-ET<sub>B</sub>. Δηλαδή, το ANP προκαλεί αγγειοδιαστολή, αύξηση της διούρησης και μείωση της αρτηριακής πίεσης. Είναι προφανές ότι όταν το ANP εκκρίνεται υπό την επίδραση της ET-1, η έκκρισή του αποσκοπεί στη χαλιναγωγή καταχρηστικών δράσεων της δεύτερης (2,3,24,25).

Οι ενδοθηλίνες εξασκούν ακόμη περίπλοκες επιδράσεις στην υπόφυση, το θυρεοειδή αδέν, τους παραθυρεοειδείς αδένες και το μεταβολισμό των οστών.

Η ET-1 αποτελεί, όπως ήδη προαναφέρθηκε, ισχυρό μιτογόνο παράγοντα για τις λείες μυϊκές ίνες, το μυοκάρδιο και το μεσάγγειο. Επάγει την έκφραση του mRNA για τα αυξητικά πρωτογονιδια c-fos και c-myc. Παράλληλα, αποτελεί ενεργοποιητή των μακροφάγων διεγείροντας την έκκριση κυτταροκινών από τα μονοκύτταρα.



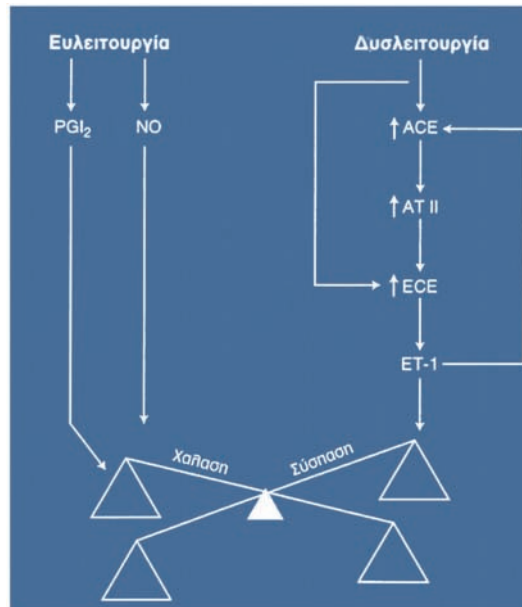
**Εικόνα 12.4:** Σχέσεις συστημάτων ενδοθηλίνης-1 και ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης. Καταγράφονται οι αλληλεξαρτήσεις μεταξύ των δύο συστημάτων (βλέπε κείμενο). Όπου ET-1 (Ενδοθηλίνη-1), AT-II (Αγγειοτασίνη-II), ACE (Angiotensin Converting Enzyme: Μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης), ECE (Endothelin Converting Enzyme: Μετατρεπτικό ένζυμο της ενδοθηλίνης). Κ.Λ.Παπαδόπουλος, 1999

### Διαπλοκή της ET-1 με το σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης

Η άνοδος των επιπέδων της ET-1 κατά την πρόοδο της αρτηριακής υπέρτασης συνεπάγεται την αναστολή του νεφρογενούς συστήματος ρενίνης τόσο μέσω της υπερέκκρισης της αλδοστερόνης όσο και με άμεση αιμοδυναμική επίδραση στην άρδευση των νεφρικών σπειραμάτων (υπερέχουσα σύσπαση απαγωγών αρτηριδίων, αύξηση υδροστατικής πίεσης).

Αντίθετα, στο αγγειακό τοίχωμα, όπως και στο μυοκάρδιο, επάγεται η σύνθεση του MEA. Η αύξηση της σύνθεσης της AT-II από τα τοπικά ιστικά συστήματα διεγείρει την έκφραση του ECE-1. Η εκκρινόμενη ET-1 ενεργώντας επί των υποδοχέων ET<sub>A</sub> χρησιμεύει ως μερικός εκφραστής της δράσης της AT-II, ενώ από την άλλη πλευρά προκαλεί θετική ανατροφοδότηση της σύνθεσης της AT-II (2,3).

Το ευλειτουργικό ενδοθήλιο εκκρίνει την αγγειοδιασταλτική PGI<sub>2</sub>, τον αγγειοδιασταλτικό παράγοντα NO, τον υπερπολωτικό παράγοντα και ποικίλους αντιπηκτικούς, θρομβολυτικούς και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες, ενώ έχει χαμηλή δραστηριότητα των ενζύμων MEA και MEE ή, κατά τον αγγλικό όρο, ACE (Angiotensin Converting Enzyme) και ECE. Όταν καταστεί δυσλειτουργικό, μειώνεται η έκφραση των συνθεσών και διαφόρων παραγόντων που χαρακτηρίζουν την καλή λειτουργία του, ενώ αυξάνεται η έκφραση συνθεσών και παραγόντων με αντίθετα αποτελέσματα. Στα πλαίσια αυτά αυξάνεται η έκφραση τόσο του ACE όσο και του ECE, μεταξύ των οποίων αναπτύσσεται σύστημα



**Εικόνα 12.5:** Σχέσεις ενδοθηλιοεξαρτώμενων αγγειοδραστικών ουσιών. Επί δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου η ισορροπία ανατρέπεται σε βάρος των αγγειοδιασταλτικών ουσιών. Όπου NO (Nitric Oxide:Οξείδιο του αζώτου), PGI<sub>2</sub> (Prostacyclin: προστακυκλίνη) ET-1 (Ενδοθηλίνη-1), AT-II (Αγγειοτασίνη-II), ACE (Angiotensin Converting Enzyme: Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτασίνης), ECE (Endothelin Converting Enzyme: Μετατρεπτικό Ένζυμο της Ενδοθηλίνης).  
Κ.Α.Παπαδόπουλος, 1999

θετικής ανατροφοδότησης το οποίο παρασύρει και την έκφραση των υπόλοιπων συνθετικών λειτουργιών που χαρακτηρίζουν τη δυσλειτουργία (26).

Τέλος, πρέπει να υπομνησθεί η μέσω της AT-II διέγερση της παραγωγής του PAF (Platelet Activating Factor: Ενεργοποιητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων) από τα μονοκύτταρα, ο οποίος συμβάλλει στις θρομβωτικές, συσπαστικές και φλεγμονώδεις διεργασίες όπου εμπλέκονται έμμεσα και τα ECE (27).

Τα αλληλεπιδρώντα συστήματα ενδοθηλίνης και αγγειοτασίνης έχουν πολλαπλές αφετηρίες δραστηριοποίησης. Οι ποικίλοι παράγοντες που προαναφέρθηκαν στο κεφάλαιο της βιοσύνθεσης των ενδοθηλινών επιδρούν στο γονιδίωμα των οικείων κυττάρων και διεγείρουν τη σύνθεση των βιοσυνθετικών προβαθμίδων τους. Το ευρύ φάσμα των παραγόντων που προκαλούν δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, που έχει μεγάλη επικάλυψη με τους διεγέρτες του γονιδιώματος, αυξάνει την έκφραση του ενζύμου ECE διευκολύνοντας τη μετατροπή της προενδοθηλίνης σε ET-1. Το ίδιο φάσμα παραγόντων διεγείρει την έκφραση του ενζύμου ACE. Στο φάσμα αυτό προστίθεται η ET-1. Το ACE μετατρέπει μέρος της AT-I σε AT-II. Ένα άλλο μέρος υφίσταται μετατροπή μέσω άλλων ενζύμων (χυμάσες κ.λπ.), γεγονός που τονίζει τη μερική σημασία του

ACE. Η AT-I είναι προϊόν επίδρασης της ρενίνης στο αγγειοτασινογόνο. Ωστόσο υπάρχει και οδός που παρακάμπτει την ανάγκη παρουσίας ρενίνης. Η νεφρογενής παραγωγή ρενίνης ελέγχεται από αιμοδυναμικούς, νευροορμονικούς και ηλεκτρολυτικούς παράγοντες. Η οπωσδήποτε παραγόμενη AT-II εξασκεί τις ποικίλες δράσεις της σε συνεργασία με την ET-1 με την οποία συμμερίζεται κοινούς ενδοκυττάριους μηχανισμούς, παράλληλα, όμως, δρα διεγερτικά στο γονιδίωμα που είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση της ET-1 (2,3,5,6,10,27).

## **Ενδοθηλίνη-1 και αρτηριακή υπέρταση**

### ***ET-1 και ιδιοπαθής αρτηριακή υπέρταση***

Οι ενέργειες της ET-1 η οποία αυξάνει τον αγγειακό τόνο, διεγείρει το συμπαθητικό σύστημα και τον άξονα ρενίνης- αγγειοτασίνης- αλδοστερόνης καθώς, επίσης, και το γεγονός ότι ασκεί υπερπλαστικές ενέργειες στο αγγειακό τοίχωμα την καθιστούν εύλογο παράγοντα για την παθογένεση της αρτηριακής υπέρτασης και για τις επιπλοκές της (3,21,28).

Ο ρόλος της ET-1 στην ανθρώπινη παθοφυσιολογία θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη και άλλους παράγοντες όπως το γεγονός ότι η αύξηση των συγκεντρώσεων της ET-1 οδηγεί σε υπολειτουργία έναν μεγάλο αριθμό υποδοχέων της και ότι η ανταπόκριση των αγγείων στην ουσία αυτή μπορεί να μεταβάλλεται λόγω της αναδιαμόρφωσης των τελευταίων. Σημαίνοντα ρόλο παίζουν, επίσης, ο ρυθμός σύνθεσης, καταβολισμού και κάθαρσης της ET-1, καθώς και η ελαττωμένη νεφρική απέκκριση της τελευταίας επί ιδιοπαθούς υπέρτασης (2).

Προβληματισμός υπάρχει όσον αφορά τη συμμετοχή της ενδοθηλίνης στους μηχανισμούς έναρξης της ιδιοπαθούς υπέρτασης. Σε ελαφρώς υπερτασικά άτομα, διεπιστώθηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ αρτηριακής πίεσης και επιπέδων ET-1. Γενικά, επί καλοήθους υπέρτασης με φυσιολογική νεφρική λειτουργία δεν διαπιστώθηκε υπέρβαση των φυσιολογικών επιπέδων της ET-1 (29-31). Έχει, όμως, διαπιστωθεί η παρουσία γονιδιακού πολυμορφισμού της προ-προ-ενδοθηλίνης-1 και έχουν ευρεθεί διαφορές μεταξύ πασχόντων από ιδιοπαθή υπέρταση και μη υπερτασικών ατόμων, γεγονός που δημιουργεί κάποια αντίφαση με την παραπάνω άποψη (32).

Με την πάροδο, όμως, του χρόνου και όταν η αρτηριακή υπέρταση καθεαυτή ή οι συνυπάρχοντες παράγοντες προκαλέσουν την εμφάνιση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, η ET-1 αποκτά ρόλο στην επιδείνωση της αρτηριακής υπέρτασης και την ανάπτυξη των επιπλοκών της τελευταίας.

### ***Νεφρογενής ET-1 και αρτηριακή υπέρταση***

Η νεφρογενής ET-1 είναι δύο προελεύσεων: η μία είναι αγγειογενής και η άλλη σωληναριογενής. Ο προορισμός του κάθε συστήματος είναι διαφορετικός (2).

Η αγγειογενής νεφρική ET-1 συντίθεται στο ενδοθήλιο των ενδονεφρικών αγγείων. Η δράση της εκδηλώνεται ως αποτέλεσμα καθ' υπερβολή διέγερσης των υποδοχέων-ET<sub>A</sub> έναντι των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> και προκαλεί σύσπαση των αρτηριδίων με υπερέχουσα εκείνη του απαγωγού έναντι του προσαγωγού, όπως συμβαίνει και με την AT-II. Προκαλείται άνοδος της υδροστατικής πίεσης στην περιοχή της πυκνής κηλίδας που αναστέλλει την έκκριση της ρενίνης. Η αύξηση της υδροστατικής πίεσης στα εσπειραμένα σωληνάρια αυξάνει μεν τη σπειραματική διήθηση, συγχρόνως, όμως, προάγει τη μικρολευκωματινουρία και τις συνεπακόλουθες βλάβες και παραγωγικές διεργασίες του μεσαγγείου. Οι τελευταίες κινητοποιούνται από τη διηθούμενη λευκωματίνη, αλλά ευοδώνονται από την ET-1, την AT-II και άλλους συνοδούς παράγοντες. Τα παραπάνω συμβαίνουν όταν η σύνθεση και έκκριση της ET-1 είναι αποτέλεσμα δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου. Αντίθετα, η στοιχειώδης φυσιολογική έκκριση ET-1 συμβάλλει στη διατήρηση του βασικού αγγειοκινητικού τόνου της νεφρικής κυκλοφορίας.

Η σωληναριογενής ET-1 συντίθεται στα επιθηλιακά κύτταρα των ουροφόρων σωληναρίων. Η σύνθεσή της προάγεται από τη μείωση της ωσμωτικότητας του πλάσματος ή όταν υπάρχει αιματοπλήθεια, οπότε πρέπει να αποβληθεί η περίσσεια υγρών. Η δράση της οφείλεται σε διέγερση σωληναριακών υποδοχέων-ET<sub>B</sub>. Η τελευταία προκαλεί στα εγγύς εσπειραμένα και στα αθροιστικά σωληνάρια αναστολή των σωληναριακών αντλιών Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>. Αυτές εκδιώκουν προς τον διάμεσο ιστό τα ιόντα Na<sup>+</sup>, δημιουργούν ενδοκυττάριο έλλειμμα Na<sup>+</sup>, με αποτέλεσμα να επαναροφούνται από τους διαύλους ή τις αντλίες της αυλικής πλευράς των κυττάρων. Η αναστολή τους έμμεσα αναστέλλει την επαναρόφηση του Na<sup>+</sup> από το διήθημα, εφόσον δεν παροχετεύεται το Na<sup>+</sup> που αθροίζεται ενδοκυττάρια. Ακόμη, η διέγερση των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> αναστέλλει την υπό της αντιδιουρητικής ορμόνης ADH προαγωγή της επαναρόφησης ύδατος, κατά τρόπο ανάλογο με τη διέγερση προσταγλανδινικών υποδοχέων. Η φυσιολογική σύνθεση σωληναριογενούς ET-1 συμβάλλει στον τονικό ρυθμιστικό ρόλο της νατριούρησης και της διούρησης.

### **Συμβολή της ET-1 στις επιπλοκές της αρτηριακής υπέρτασης**

Η ET-1 μέσω της κατακράτησης νατρίου και ύδατος και της αγγειοσύσπασης που προκαλεί αυξάνει την αρτηριακή πίεση. Στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης συμβάλλει και η ενεργοποίηση από την ET-1 μηχανισμών που προάγουν την κινητοποίηση και άλλων αντιδιουρητικών και αγγειοσυσπαστικών ουσιών, όπως ήδη εκτενώς περιγράφηκε. Η υπερπλασία του αγγειακού τοιχώματος στην οποία εξεχόντως συμβάλλει η ET-1 μονιμοποιεί την αύξηση των ενδονεφρικών και εξωνεφρικών αντιστάσεων και διατηρεί υψηλή τη βασική αρτηριακή πίεση. Το μυοκάρδιο, επίσης, υπερτρέφεται σε βαθμό δυσανάλογο προς την αρτηριακή πίεση. Εφόσον δοθεί ο απαραίτητος χρόνος και το υπερτασικό φορτίο είναι

αρκούντως υψηλό, το υπερτροφικό μυοκάρδιο υφίσταται διαφοροποιήσεις που οδηγούν σε καρδιακή ανεπάρκεια. Από την άλλη πλευρά, η υπερπλασία του έσω χιτώνα λόγω της διαφοροποίησης, μετανάστευσης και μεταπλασίας των κυττάρων, στην υποκίνηση της οποίας συμμετέχει η ET-1, προκαλεί αθηροσκλήρωση των ελαστικού τύπου αρτηριών. Συνέπειες της τελευταίας είναι τρεις μείζονες επιπλοκές της υπέρτασης. Αυτές είναι η ισχαιμική καρδιοπάθεια, που μπορεί επίσης να απολήξει σε καρδιακή ανεπάρκεια, η αγγειακή εγκεφαλοπάθεια και η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια με τη συμμετοχή της αρτηριοσκλήρυνσης των μικρότερων αρτηριών και την αντίδραση του μεσαγγείου που προάγονται από την ET-1 (2,14).

Τα επίπεδα πλάσματος της ET-1 έχουν ευρεθεί αυξημένα σε ασθενείς με ισχαιμικά καρδιακά επεισόδια και στο καρδιακό έμφραγμα. Πιθανόν αυτό να είναι αποτέλεσμα των αυξημένων επιπέδων της θρομβίνης η οποία διεγείρει τη σύνθεση και απελευθέρωση της ET-1. Πιθανόν να έχει πιο ενεργό ρόλο στην ανάπτυξη ανάλογων καταστάσεων. Η παραμονή υψηλών επιπέδων ET-1 στο πλάσμα και μετά την οξεία φάση αποτελεί δυσοίωνα προγνωστικό στοιχείο. Η ET-1 προφανώς παίζει ρόλο μέσω των κατεχολαμινών και της AT-II, τη σύνθεση και απελευθέρωση των οποίων προάγει και στην καρδιακή αναδιαμόρφωση και υπερτροφία των καρδιακών κυττάρων που ακολουθούν (3,33).

### **ET-1 και δευτερογενής πνευμονική υπέρταση**

Η δευτερογενής πνευμονική υπέρταση είναι αποτέλεσμα χρόνιας αναπνευστικής νόσου, συγγενών καρδιοπαθειών, μιτροειδοπάθειας ή αριστερής καρδιακής ανεπάρκειας, και έχει ως συνέπεια την ανάπτυξη δεξιάς καρδιακής ανεπάρκειας. Η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια είναι πιθανόν η κυριότερη κατάσταση που συνοδεύεται από δευτεροπαθή πνευμονική υπέρταση. Υπάρχει αυξημένη σύνθεση της ET-1 στην πνευμονική κυκλοφορία και η αγγειοσύσπαση που προκαλεί, επιδεινώνει την υποξυγοναιμία.

Η πνευμονική υπέρταση χαρακτηρίζεται από ενδοθηλιακή βλάβη, πολλαπλασιασμό των κυττάρων του αγγειακού μυϊκού τοιχώματος και σύσπαση των ανθιστάμενων πνευμονικών αγγείων. Η ET-1 πιστεύεται ότι συμμετέχει στην όλη παθολογία της νόσου εξαιτίας των αγγειοσυσπαστικών και υπερπλαστικών ενεργειών που ασκεί στο αγγειακό τοίχωμα. Στις περιπτώσεις αυτές τα ενδοθηλιακά κύτταρα παρουσιάζουν αύξηση του mRNA που μεταφέρει τον κώδικα προς τα ριβοσωμάτια για τη σύνθεση της ET-1 (2).

Η αυξημένη παραγωγή ET-1 από το ενδοθήλιο της πνευμονικής κυκλοφορίας, που είναι συνέπεια της αιμοδυναμικής διαταραχής, υπερακοντίζει τη φυσιολογική ικανότητα της πνευμονικής κυκλοφορίας που συνίσταται στην κάθαρση του αίματος από την ET-1 και έχει ως συνέπεια το αίμα των πνευμονικών φλεβών να παρουσιάζει υπεροχή συγκέντρωσης ET-1 έναντι της πνευμονικής αρτηρίας, δηλαδή το αντίθετο του φυσιολογικού.

Έχει ακόμη διαπιστωθεί αύξηση του αριθμού των υποδοχέων-ET<sub>A</sub> στο πνευμονικό αγγειακό δίκτυο. Η χορήγηση φαρμάκων που αναστέλλουν το ένζυμο ECE μειώνει τόσο τις πνευμονικές όσο και τις συστηματικές αντιστάσεις. Η συνδυασμένη χορήγηση αναστολέων του ECE και του ACE έχει αθροιστικό ευεργετικό αποτέλεσμα, λόγω προφανώς, της ομόρροπης αλληλεπίδρασης και της συνεργασίας των δύο συστημάτων.

### **ET-1, ANP και καρδιακή ανεπάρκεια**

Η ενδοθηλίνη-1 προάγει τη μυοκαρδιακή υπερτροφία και την πρόκληση βλαβών επί των καρδιομυοκυττάρων. Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια, η σύνθεση της ενδοθηλίνης-1 αυξάνει ιδιαίτερα. Όπως προαναφέρθηκε, η έκκριση της ET-1 προάγει τη σύνθεση του ANP. Ως εκ τούτου, αμφότερες οι ουσίες υπερεκκρίνονται στα πλαίσια της νευροορμονικής διέγερσης επί καρδιακής ανεπάρκειας και αυτό γίνεται παράλληλα με τις αυξημένες κατεχολαμίνες και τη διέγερση του άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης (34).

Η διάταση των φλεβών αποτελεί μηχανικό ερέθισμα για την έντονη αυτόχθονα σύνθεση και έκκριση της ET-1, που ενισχύεται από τη διέγερση του συμπαθητικού. Παρακρινικώς διεγείρεται η σύσπαση των φλεβών με αποτέλεσμα την αύξηση της καρδιακής πλήρωσης. Η τελευταία, σε συνδυασμό με τη θετική ινότροπη ενέργεια της ET-1, κατατείνει να διατηρήσει επαρκή την καρδιακή παροχή. Η μείωση της νεφρικής άρδευσης αποσκοπεί στον περιορισμό της διαφυγής σημαντικού μέρους της καρδιακής παροχής εκτός του μυϊκού συστήματος και υποκινείται από την ενδοθηλιογενή ET-1, γι' αυτό και επικρατεί μείωση της νατριούρησης.

Από την άλλη πλευρά, η διάταση του αριστερού κόλπου ή αμφοτέρων των κόλπων προκαλεί έκκριση ANP που ενισχύεται από την αύξηση των επιπέδων ET-1. Το ANP μειώνει τις αρτηριακές αντιστάσεις ως αρτηριδιακό διασταλτικό, μειώνει την υστεροφόρτιση και σε συνεργασία με τη φλεβογενή ET-1 βελτιώνει την καρδιακή παροχή. Το ANP εμποδίζει την αγγειοσυσπαστική δράση της ET-1 στο αρτηριακό δένδρο και χαλιναγωγεί την καταχρηστική αντιδιούρηση που ενδέχεται να προκαλέσει η ET-1 (3,24,25,35-37).

Σε βαρύτερα στάδια, όμως, της καρδιακής ανεπάρκειας, η επιτεινόμενη δραστηριότητα της ET-1 συνδυαζόμενη με άλλες νευροορμονικές επιδράσεις προκαλεί υπερισχύουσα αύξηση των αντιστάσεων και αντιδιούρηση και υποκινώντας μεταβολικές και υφαίες μυοκαρδιακές βλάβες οδηγεί σε προοδευτική επιδείνωση, αν δεν τιθασευθεί η καταχρηστική δραστηριότητά της (3,4).

### **ET-1 και δευτεροπαθής αρτηριακή υπέρταση**

Αυξημένη παραγωγή ET-1 εμφανίζεται κατά το αιμαγγειοενδοθηλίωμα που αποτελεί έναν σπάνιο δερματικό όγκο (2).

Αύξηση των συγκεντρώσεων αίματος της ET-1 παρατηρείται σε προεκλαμψία, ακόμη και όταν η νεφρική λειτουργία είναι φυσιολογική. Η αύξηση αυτή ενδέχεται να παίζει ρόλο στην παθοφυσιολογία της κατάστασης αυτής. Θεραπεία με θειικό μαγνήσιο ελαττώνει τη συγκέντρωση της ET-1 του πλάσματος (2).

Αυξημένα επίπεδα ET-1 έχουν ευρεθεί στο πλάσμα ασθενών που πάσχουν από μη ινσουλινοεξαρτώμενο διαβήτη. Πιστεύεται ότι η υπέρταση που παρατηρείται στις μορφές αυτές του διαβήτη οφείλεται εν μέρει στην αυξημένη σύνθεση και απελευθέρωση της ET-1 (38,39).

Η ET-1 παίζει σπουδαίο παθογενετικό ρόλο στην εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας και των επιπλοκών της. Στους ασθενείς αυτούς, οι συγκεντρώσεις πλάσματος της ET-1 είναι μία με δύο φορές μεγαλύτερες απ' ό,τι στα φυσιολογικά άτομα και φθάνουν τις τέσσερις φορές περισσότερο σε αυτούς που υφίστανται αιμοκάθαρση. Η αύξηση των συγκεντρώσεων της ET-1 του πλάσματος είναι αποτέλεσμα μειωμένης κάθαρσης, ενώ παράλληλα συνυπάρχει και αυξημένη νεφρογενής σύνθεση στο σπείραμα και στα σωληνάρια που συμβαδίζει με λευκωματουρία και σπειραματοσκλήρυνση (2).

Η σύνθεση της ET-1 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αυξάνει όταν αυτά εκτίθενται στην ερυθροποιητίνη, ουσία που χορηγείται για να αναστρέψει την αναιμία που παρατηρείται στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Σε ορισμένους ασθενείς παρατηρείται υπέρταση, χωρίς να αυξηθούν τα επίπεδα της ET-1 στο πλάσμα (2).

Τα ανοσοκατασταλτικά κυκλοσπορίνη και τακρολίμους αυξάνουν την απέκκριση της ET-1 με τα ούρα, όχι, όμως, και τις συγκεντρώσεις πλάσματος της τελευταίας, γεγονός που συνηγορεί υπέρ αυξημένης νεφρικής σύνθεσης της ουσίας αυτής. Η κυκλοσπορίνη αυξάνει και τα σημεία σύνδεσης της ET-1 στους νεφρούς και προφανώς η ουσία αυτή συμμετέχει στη νεφρική βλάβη και υπέρταση που σχετίζεται με τη χορήγηση του παραπάνω ανοσοκατασταλτικού φαρμάκου (2).

### **Φάρμακα που επηρεάζουν τη δράση της ενδοθελίνης-1**

Με βάση τα όσα αναπτύχθηκαν, πιστεύεται ότι ο αποκλεισμός των ενεργειών των ενδοθελινών, και ειδικότερα της ET-1, με φάρμακα θα έχει ευεργετική επίδραση στην αντιμετώπιση της αρτηριακής υπέρτασης. Αυτό θα φανεί στην κλινική πράξη αλλά και όσο διευκρινίζεται ο ρόλος των ουσιών αυτών και ο βαθμός στον οποίο συμβάλλουν στην ανάπτυξη των υπερτασικών φαινομένων.

Τα φάρμακα που σχεδιάζονται και πολλά από αυτά που ευρίσκονται στις φάσεις κλινικών δοκιμών ή κυκλοφορούν διακρίνονται σε εκείνα που δρουν ανασταλτικά στη δράση του ενζύμου ECE και σε εκείνα που αποκλείουν τους υποδοχείς της ET-1

Από τους αποκλειστές του ECE δεν έχει μέχρι στιγμής παρασκευασθεί μη πεπτιδική ουσία. Πεπτιδικές ουσίες ευρίσκονται σε διάφορα στάδια μελέτης.



Ουσίες όπως η φωσφοριδόνη απεδείχθησαν μη εκλεκτικές. Πιστεύεται ότι σύνθεση και κυκλοφορία εκλεκτικών αναστολέων του ECE θα μπορούσε να είναι μια εναλλακτική λύση στο αντιυπερτασικό οπλοστάσιο του μέλλοντος.

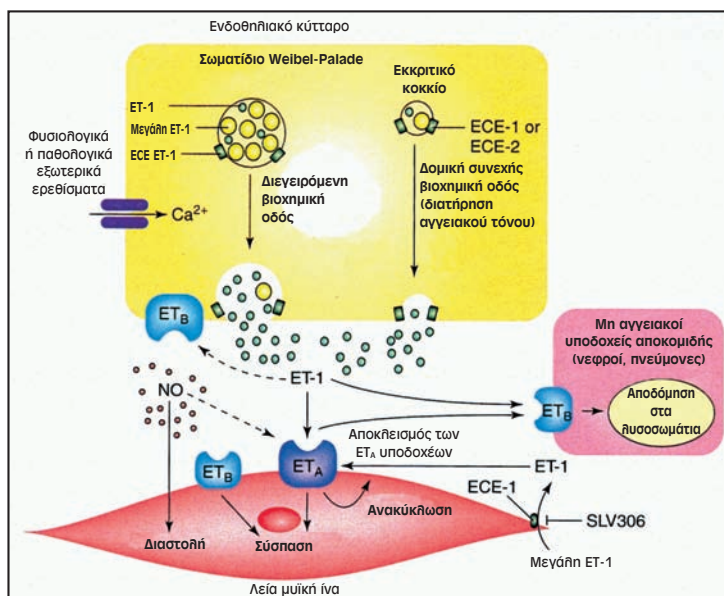
Στο θέμα της σύνθεσης φαρμάκων τα οποία θα δρουν ως αποκλειστές των υποδοχέων της ενδοθηλίνης-1 έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος. Υπάρχει, μάλιστα, η τεχνική δυνατότητα από έναν συγκεκριμένο χημικό σκελετό με διάφορες επιμέρους τροποποιήσεις στο μόριό του να συντεθούν αποκλειστές των υποδοχέων-ET<sub>A</sub>, των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> και αμφοτέρων των υποδοχέων (10).

Σήμερα, ένας σημαντικός αριθμός φαρμάκων αποκλειστών των υποδοχέων της ET-1 κυκλοφορούν ή ευρίσκονται σε διάφορα στάδια δοκιμασιών ως αντιυπερτασικά φάρμακα. Η πρώτη γενιά των αποκλειστών αυτών, όπως η βοσεντάνη και η τεζοσεντάνη, δεν παρουσιάζει εκλεκτικότητα και τα παράγωγα αυτά αποκλείουν και τους δύο υποτύπους υποδοχέων. Η δεύτερη γενιά των αποκλειστών, όπως η σιταχεντάνη και η αμπρισεντάνη, έχει μεγαλύτερη εκλεκτικότητα προς τους υποδοχείς-ET<sub>A</sub> (40-44).

Η χρησιμοποίηση αποκλειστών των υποδοχέων-ET<sub>A</sub> ως αντιυπερτασικών φαρμάκων ακούγεται εύλογη λόγω των αγγειοσυσπαστικών και των άλλων ενεργειών που εκπορεύονται από τους υποδοχείς αυτούς. Ιδιαίτερα κατά την πνευμονική υπέρταση παρατηρούνται υψηλές συγκεντρώσεις της ενδοθηλίνης-1 στο πλάσμα και τους πνεύμονες. Το ερώτημα το οποίο τίθεται είναι αν θα πρέπει να γίνει αποκλεισμός και των υποδοχέων-ET<sub>B</sub>, δεδομένου ότι οι τελευταίοι διαμεσολαβούν και σε ευεργετικές ενέργειες στους νεφρούς. Αυτό είναι κάτι που θα φανεί στο μέλλον (3,10).

Υπάρχει, όμως, και η άποψη ότι στη συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια όπου, όπως ήδη αναφέρθηκε, και οι δύο υποδοχείς προάγουν την αγγειοσύσπασση, θα ήταν καλύτερα να χρησιμοποιούνται μη εκλεκτικοί αποκλειστές των υποδοχέων-ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub>. Η χορήγηση δοκιμαστικά της βοσεντάνης, ουσίας που ανήκει στην ομάδα αυτή, σε ασθενείς αυτής της κατηγορίας προκάλεσε ευνοϊκά αιμοδυναμικά αποτελέσματα. Το φάρμακο αυτό, όμως, προκάλεσε προβλήματα από πλευράς ηπατικών δεικτών. Υπάρχουν επίσης νεότερα φάρμακα που είναι αποκλειστές των υποδοχέων-ET<sub>A</sub> χωρίς ανεπιθύμητες ενέργειες από το ήπαρ. Τα φάρμακα αυτά θα μπορούσαν να είναι ιδιαίτερα χρήσιμα σε παρόμοιες καταστάσεις. Γεγονός, όμως, είναι ότι δεν έχουν δοκιμασθεί ακόμη σε μεγάλης κλινικής μελέτες ή όπου έχουν δοκιμασθεί εξακολουθούν να υπάρχουν ερωτηματικά (3,4,45,46).

Τέλος, προβληματισμό προκαλεί το γεγονός ότι μη εκλεκτικοί αποκλειστές των υποδοχέων-ET αναστέλλουν τις τροφικές ενέργειες της ET-1 και τη σύνθεση του κολλαγόνου, τα οποία με τη σειρά τους τροποποιούν τη διαδικασία αναδιαμόρφωσης που ακολουθεί το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Με βάση τα δεδομένα αυτά θα πρέπει να εξετασθεί αν η χορήγηση φαρμάκων αυτής της



**Εικόνα 12.6:** Σχηματικό μοντέλο δράσης της ενδοθηλίνης στο καρδιαγγειακό σύστημα και φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Διακρίνονται δύο διαφορετικές οδοί εξωκυττάριας μεταφοράς του μορίου της ενδοθηλίνης 1 (ET-1) στην κυτταρική μεμβράνη. Η ET-1 απελευθερώνεται σταθερά καθώς συντίθεται μέσω της δομικής βιοχημικής οδού στα ενδοθηλιακά κύτταρα συμβάλλοντας στη διατήρηση του αγγειακού τόνου. Η ενδοθηλίνη επίσης είναι εναποθηκευμένη στα σωματίδια Weibel-Palade στα ίδια κύτταρα και απελευθερώνεται σε απάντηση ενός εξωτερικού φυσιολογικού ή παθοφυσιολογικού ερεθίσματος για να προκαλέσει περαιτέρω αγγειοσύσπαση. Ένα ή περισσότερα ισόμορφα του μετατρεπτικού ενζύμου της ενδοθηλίνης (ECE) καταλύουν τη μετατροπή αυτή στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Μετά την απελευθέρωσή της, η ενδοθηλίνη διεγείρει τους υποδοχείς-ET<sub>A</sub>-που κυριαρχούν στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων. Οι υποδοχείς αυτοί είναι στόχος εκλεκτικών ανταγωνιστών. Σε ορισμένα, αλλά όχι σε όλα, τα αγγεία υπάρχουν αραιά στις λείες μυϊκές ίνες και υποδοχείς-ET<sub>B</sub> που προάγουν επίσης την αγγειοσύσπαση. Η διέγερση των υποδοχέων-ET<sub>B</sub> στα ενδοθηλιακά κύτταρα προάγει την απελευθέρωση αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, όπως το NO, ελαττώνοντας τον αγγειόσπασμο. Οι υποδοχείς-ET<sub>B</sub> σε ορισμένα όργανα, όπως οι νεφροί και οι πνεύμονες, απομακρύνουν την ενδοθηλίνη από την κυκλοφορία περιορίζοντας τη συγκέντρωσή της στο αίμα. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία επί παρουσίας φαρμάκων αποκλειστών των υποδοχέων. Μικρές ποσότητες της προδρόμου μορφής της ET-1, δηλαδή της μεγάλης ET-1, διαφεύγουν της δράσης των ECE και περνούν στην κυκλοφορία μετατρεπόμενες σε ET-1 από τα ECE των λείων μυϊκών ινών. Η δράση αυτή μπορεί να ανασταλεί από αποκλειστές της πεπτιδάσης, όπως είναι το με κωδικό όνομα και σε φάσεις δοκιμασιών παράγωγο SLV306.

*Trends Pharmacol. Sci.* 22,2002

κατηγορίας θα έχει καλά αποτελέσματα σε μετεμφραγματικούς ασθενείς υψηλού κινδύνου και αν έχει να προσθέσει κάτι στη θεραπεία με β-αδρενεργικούς αποκλειστές και αναστολείς του ACE που έχουν καλά αποτελέσματα σήμερα (3,47).

Μια ακόμη εναλλακτική στρατηγική είναι η αδρανοποίηση του μετατρεπτικού ενζύμου της ενδοθηλίνης σε συνδυασμό με αναστολή των ουδέτερων ενδοπεπτιδασών. Το πλεονέκτημα που έχει ο στόχος αυτός σε σχέση με τον αποκλεισμό των υποδοχέων ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub> είναι ότι αναστέλλεται συγχρόνως και η διάσπαση του αγγειοδιασταλτικού κολπικού νατριουρητικού πεπτιδίου. Ήδη σε φάσεις δοκιμασιών ευρίσκονται ορισμένα υποψήφια φάρμακα για την αντιμετώπιση ασθενών με ιδιοπαθή υπέρταση (48).

Η ET-1, λόγω των ισχυρών αγγειοσυσπαστικών της ενεργειών και των ιδιαίτερων ενεργειών που ασκεί στους νεφρούς, ενοχοποιείται ως ένα από τα παθογενετικά αίτια της συστηματικής υπέρτασης. Από την άλλη πλευρά, πολλή συζήτηση γίνεται για τον πραγματικό ρόλο της ουσίας αυτής στην υπέρταση. Η κατανόηση των πολύπλοκων μηχανισμών στους οποίους συμμετέχει η ET-1 θα διευκολύνει και την προσπάθεια για φαρμακολογικές παρεμβάσεις.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayishi Y, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332:411-415,1988
2. Haynes W, Webb D. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. *J.Hypertension* 16:1081-1098,1998
3. Deedwania P. Endothelin, the bad actor in the play: A marker or mediator of cardiovascular disease. *J.Amer. Col. Cardiol.* 33:940-942,1999
4. Cowburn P, Cleland J, McArthur J, Morton J. Endothelin<sub>B</sub> receptors are functionally important in mediating vasoconstriction in the systemic circulation in patients with left ventricular systolic dysfunction. *J.Amer. Col. Cardiol.* 33:932-938,1999
5. Parnot C, LeMoullec J.M, Cousin M.A, Guedin D, Corvol P, Pinet F. A live-cell assay for studying extracellular and intracellular endothelin converting enzyme activity. *Hypertension* 30: 837-844,1997
6. Douglas St, Meek T, Ohlstein E. Novel receptor antagonists welcome a new era in endothelin biology. *Trends Pharmacol. Sci* 15:313-319,1994
7. Sakurai T, Yanagisawa N, Masaki T. Molecular characterization of endothelin receptors. *Trends Pharmacol. Sci* 13:103-108,1992
8. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, Masaki T. The human endothelin family; three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separated genes. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 86:2862-2867,1989
9. Komuro I, Kurihara H, Sugiyama T, Yoshizumi M, Takaku F, Yazaki Y. Endothelin stimulates c-fos and c-myc expression and proliferation of vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett.* 238:249-252,1988
10. Webb D, Monge J, Rabelinke T, Yanagisawa M. Endothelin. New discoveries and rapid progress in the clinic. *Trends Pharmacol. Sci* 19:5-11,1998
11. Turner A, Barnes K, Schweizer A, Valdenaire D. Isoforms of endothelin-converting enzyme. Why and where. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:483-486,1998
12. Warner T, Elliot J, Ohlstein E. California dreamin. «Bout endothelin emerging new therapeutics. *Trends Pharmacol. Sci* 17:177-185,1996
13. HuE-M, Levin E, Pedram A. Insulin stimulates production and secretion of endothelin from bovine endothelial cells. *Diabetes* 42:351-358,1993
14. Thorin E, Sreeve M, Thorin-Trescanes N, Bevan J. Reversal of endothelin-1 release by stimulation of endothelial  $\alpha_2$ -adrenoceptor contributes to cerebral vasorelaxation. *Hypertension* 30:830-836,1997
15. Abassi Z, Golomb E, Bridenhaugh R, Keiser H. Metabolism of endothelin-1 and big endothelin-1 by recombinant neutral endopeptidase EC.3.4.24.11. *Br. J. Pharmacol.* 109:1024-1028,1993
16. Davenport A.: International Union of Pharmacology. XXIX. Update on

- endothelin receptor nomenclature. *Pharmacol. Rev.* 54:219-226,2002
17. Battistini B, Botting R, Warner T. Endothelin. A knockout in London. *Trends Pharmacol. Sci.* 1995;16:217-222,1995
  18. Karne S, Jayawickreme C, Lerner M. Cloning and characterisation of an endothelin-3 specific (ET<sub>3</sub>) from *Xenopus laevis* dermal melanophores. *J. Biol. Chem.* 268:19126-19133,1993
  19. Webb D. Endothelin. From molecule to man. *Br.J.Clin.Pharmacol.* 44:411-415,1997
  20. Κόκκας Β. Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Θεσσαλονίκη 2003
  21. Cardillo G, Kilcoyne C, Waclawiw M, O'Connon R, Panza J. Role of endothelin in the increased vascular tone of patients with essential hypertension. *Hypertension* 33:753-759,1999
  22. Love M, Ferro C, Haynes W, Webb D, McMurray J. Selective or non selective endothelin receptor blockade in chronic heart failure? *Circulation* 94 (Suppl. I):2899-2900,1996
  23. Κ.Λ.Παπαδόπουλος και Β.Α.Κόκκας: Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επί καρδιακής ανεπάρκειας. *Αρτηριακή Υπερταση.* 6:76-83,1997
  24. Papadopoulos C, Kokkas B. ANP as a mediator of antihypertensive drug action. *Rev. Clin. Pharmacol. Pharmacokin.* 12:3-8,1998
  25. Papadopoulos C.L, Kokkas B, Anogiannakis G. Beta blockers and Atrial Natriuretic Peptide (ANP) in hypertension. *Intern. J. Immunopathol. Pharmacol.* 13:107-110,2000
  26. Παπαδόπουλος Κ.Λ, Β.Α.Κόκκας Β. Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επί καρδιακής ανεπάρκειας. *Αρτηριακή Υπερταση.* 6:76-83,1997
  27. Κόκκας Β, Παπακωνσταντίνου Ε, Παπαδόπουλος ΚΛ. Αγγειοτασίνη και δομή του αγγειακού τοιχώματος. *Αρτηριακή Υπέρταση.* 7:73-81,1998
  10. Λευκός Ν.: Ενδοθήλιο και καρδιαγγειακές παθήσεις. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 2000
  29. Davenport A, Ashby M, Easton P, Ella S, Bedford J, Dickerson C. A sensitive radioimmunoassay measuring endothelin-like immunoreactivity in human plasma. Comparison of levels in patients with essential hypertension and normotensive control subjects. *Clin. Sci.* 78:261-264,1990
  30. Schiffrin E, Thibault G. Plasma endothelin in human essential hypertension. *Am.J.Hypertens.* 4:303-308,1991
  31. Haynes W, Hand M, Padfield P, Webb D. Direct and sympathetically mediated venoconstriction in essential hypertension. Enhanced response to endothelin-1. *J.Clin. Invest.* 94:1359-1364,1994
  32. Stevens p, Brown M. Genetic variability of the ET-1 and the ETA receptor genes in essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 26 (Suppl.):S9-12,1995
  33. Omland T, Bonarjee V, Lie R, Caidahl K. Neurohumoral measurements as indicators of long term prognosis after acute myocardial infraction. *Am. J.*

- Cardiol. 76:230-235,1995
34. Miyauchi T., Goto K.: Heart failure and endothelin receptor antagonists. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:210-217,1999
  35. Papadopoulos C, Kokkas B, Kotridis P, Karamouzis M, Haldoupi M, Platis A, Dadoush G. The effect of  $\beta_1$ -blocker /  $\beta_2$  agonist celiprolol on Atrial Natriuretic Peptide plasma levels in hypertensive patients. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 12:345-346,1998
  36. Papadopoulos C, Kokkas B, Kotridis P, Gitsios C, Kanonidis J, Faitatziadis D, Pilis A, Theodoridis E, Paradelis A. Plasma atrial natriuretic peptide in essential hypertension after angiotensin converting enzyme inhibition. *Intern. J. Angiology* 4:44-45,1995
  37. Papadopoulos C, Kokkas B, Kotridis P, Gitsios C, Sakadamis G, Kanonidis J, Kotoula M, Paradelis A. The effect of  $\beta_1$ -blocker bisoprolol on atrial natriuretic peptide plasma levels in hypertensive patients. *Intern. J. Angiology* 4:165-168,1995
  38. Nava P, Collados M.T, Masso F, Guarner V. Endothelin mediation of insulin and glucose induced changes in vascular contractility. *Hypertension* 30:825-829,1997
  39. Ferri C, Carlomagno A, Coassin S, Baldoncini R, Cassone F, Laurenti O, Properzi G, Sanducci A, DeMattia G. Circulating endothelin-1 levels increase during euglycemic hyperinsulinemic clamp in lean NIDDM men. *Diabetes Care* 18:226-233,1995
  40. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Κόκκας Β.: Ενδοθηλίνες και αρτηριακή υπέρταση. *Αρτηριακή Υπέρταση* 8: 62-72, 1999
  41. Kedzierski R., Yamagisawa M.: Endothelin system. The double-edged sword in health and disease. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 41:851-876, 2001
  42. Gross P, Kirchegast M.: The clinical role of endothelin antagonists. *Nephrol. Dialys. Transplant.* 16:863-864,2001
  43. Ellahhans S., Charlon V., Abazzi Z.: Bosentan and the endothelin system in heart failure. *Clin. Cardiol.* 23:803-807,2000
  44. Rich S., McLaughlin V.: Endothelin receptor blocker in cardiovascular disease. *Circulation* 108:2184-2189,2003
  45. Konstam M., DeNofo D.: Endothelin expression and progress of heart failure. *Circulation* 109:143-145, 2004
  46. Klabunde R.: Endothelin. *Cardiovascular Physiology Concepts.* Google-Internet,2005
  47. Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. *Nature* 384:353-355,1996
  48. Davenport A., Maguire J.: Of mice and men. Advances in endothelin research and first antagonist gains FDA approval. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 155-157, 2002

## ΔΕΚΑΤΟ ΤΡΙΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Κ. Α. Παπαδόπουλος και Β. Α. Κόκκας

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σήμερα είναι βέβαιο ότι ο τραυματισμός των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι το αρχικό ερέθισμα για την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης και ότι η οξειδωτική κακοποίηση ή οξειδωτικό στρες είναι η κυριότερη αιτία βλάβης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Και τούτο διότι το οξειδωτικό στρες συνδέεται άμεσα με τη σύνθεση δραστικών οξειδωτικών ριζών. Τόσο τα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και οι λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος είναι σε θέση να παράγουν δραστικές οξειδωτικές ρίζες μέσα από μία ποικιλία ενζυματικών πηγών. Η αυξημένη παραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος σε παθολογικές καταστάσεις όπως η αθηροσκλήρωση και η υπέρταση οδηγούν δυνητικά σε ελάττωση των επιπέδων του οξειδίου του αζώτου (NO) λόγω αντίδρασης του τελευταίου με το υπεροξειδικό ανιόν. Η αγγειοτασίνη II ρυθμίζει την ενεργότητα της οξειδάσης που εξαρτάται από την NADH (ανηγμένη μορφή του NAD), η οποία με τη σειρά της αποτελεί την κυριότερη πηγή σύνθεσης υπεροξειδικού ανιόντος. Με τον τρόπο αυτό η αγγειοτασίνη II συμβάλλει ουσιαστικά στην παθολογία του αγγειακού τοιχώματος και δημιουργεί έναν συνδετικό κρίκο ανάμεσα στην υπέρταση και την αθηροσκλήρωση. Η χορήγηση φαρμάκων αποκλειστών των υποδοχέων AT<sub>1</sub> έχει ευεργετικά αποτελέσματα. Το μυοκάρδιο διαθέτει ένζυμα που διεγείρουν τόσο την παραγωγή οξειδωτικών ριζών όσο και εξουδετερωτικά των τελευταίων. Οι οξειδωτικές ρίζες συμβάλλουν στην ανάπτυξη της καρδιακής ανεπάρκειας τόσο διότι διεγείρουν τους μηχανισμούς της απόπτωσης όσο και διότι ελαττώνουν το ενδοκυττάριο ασβέστιο, με αποτέλεσμα την αρνητική ινότροπη δράση. Μηχανισμοί όπως η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και η φλεγμονή εμπλέκονται στην όλη διαδικασία. Η πυκνογενόλη πιστεύεται ότι λόγω των αντιοξειδωτι-

*κών της ενεργειών ασκεί ευεργετική δράση στην εξέλιξη παρόμοιων παθολογικών καταστάσεων που αφορούν το καρδιαγγειακό σύστημα.*

## Εισαγωγή

Οι οξειδωτικοί παράγοντες διακρίνονται στις ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες (EOP) και τις οξειδωτικές ενώσεις (OE). Οι EOP είναι ιδιαίτερα δραστικές ασταθείς χημικές ομάδες ή μονήρη άτομα που διαθέτουν ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Οι οξειδωτικές ενώσεις είναι μόρια τα οποία έχουν την τάση αυτόματα ή καταλυτικά να διασπώνται σε θραύσματα φέροντα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο μετατρέπόμενα πρόσκαιρα σε ελεύθερες ρίζες.

Οι κυριότερες EOP είναι το υπεροξειδικό ανιόν ( $O_2^{\cdot-}$ ), η υδροϋπεροξειδική ρίζα ( $HO_2^{\cdot}$ ), η υδροξυλική ρίζα ( $OH^{\cdot}$ ), η υπεροξεινιτρική ρίζα ή υπεροξεινιτρικό ανιόν ( $ONOO^{\cdot}$ ) και η λιποϋπεροξειδική ρίζα ( $LO_2^{\cdot}$ ). Στις οξειδωτικές ενώσεις ανήκουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και το υποχλωριώδες οξύ ( $HOCl$ ) (1-3).

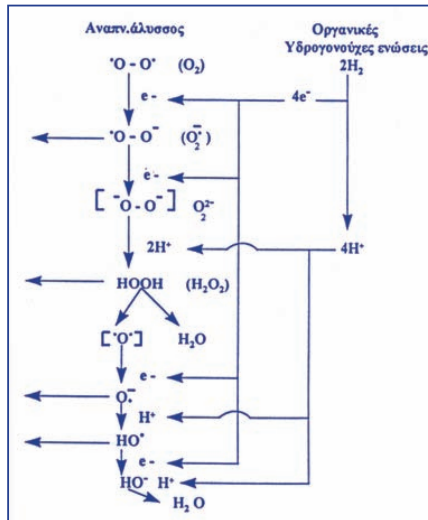
Οι EOP παράγονται σε μικρές ποσότητες κατά το μεταβολισμό των κυττάρων του οργανισμού. Εξυπηρετούν σκοπούς ζωτικής σημασίας, όπως είναι ο μεταβολισμός των λιπιδίων, η βιοσύνθεση των προσταγλανδινών και των λευκοτριενών, η κυτταρική αναπνοή, η φαγοκυττάρωση και η ανοσοβιολογική ή ανοσιακή απόκριση. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι EOP παράγονται κατά τη χρησιμοποίηση του οξυγόνου εντός των μιτοχονδρίων προς καύση των ενεργοφόρων ενώσεων. Το 98% του οξυγόνου μετατρέπεται σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό και το 2% διαφεύγει με τη μορφή των EPO. Πέραν όμως της διαφυγής από την ορθόδοξη οξειδωτική οδό υπάρχει και η σκόπιμη αθρόα παραγωγή EPO και οξειδωτικών ενώσεων ιδίως σε κύτταρα που μετέχουν της φλεγμονής.

Οι κυριότεροι μηχανισμοί παραγωγής EOP διαμεσολαβούνται από συστήματα όπως το μιτοχονδριακό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων, το σύστημα μικτής λειτουργίας των μικροσωματιακών οξειδασών, το σύστημα της NADPH που είναι η αναχθείσα μορφή του  $NADP^+$ , το σύστημα της αφυδρογονάσης-οξειδάσης της ξανθίνης και το σύστημα της ενζυμικής οξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων. EOP παράγονται επίσης κατά τις αυτοοξειδώσεις τόσο ενδογενών μικρομορίων, όπως είναι οι φλαβίνες, οι θειόλες και οι κατεχολαμίνες, όσο και μεγαλύτερων μορίων, όπως είναι οι αιμοπρωτεΐνες (1-7).

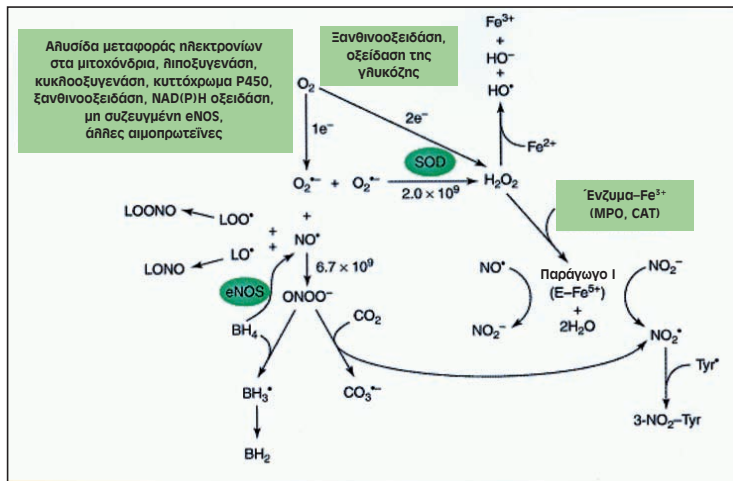
## Οξειδωτική κακοποίηση ή στρες

Σε παθολογικές καταστάσεις όπως είναι οι φλεγμονές, συμπεριλαμβανομένης της αθηρωμάτωσης, και η επαναιμάτωση ύστερα από ισχαιμικό επεισόδιο,





**Εικόνα 13.1: Στάδια παραγωγής ελεύθερων ριζών κατά τη σταδιακή αναγωγή του οξυγόνου.** Υπεροξειδικό ανιόν (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), Υπεροξειδίο του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ρίζα υδροξυλίου (HO•).  
 Κ.Α. Παπαδόπουλος



**Εικόνα 13.2: Σύνθεση των ελεύθερων οξειδωτικών ριζών.** Πολλά ένζυμα και ενζυμικά συστήματα μπορούν να δημιουργήσουν ή να δεχθούν ηλεκτρόνια και να προαγάγουν τη σύνθεση των ελεύθερων οξειδωτικών ριζών. Το υπεροξειδικό ανιόν (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) που συντίθεται από την ρhox που αποτελεί μονάδα της NADPH αντιδρά με το NO και σχηματίζει την υπεροξεινιτρική ρίζα (ONOO•). Προστατευτικά δρα η SOD (Superoxide Dismutase : Υπεροξειδική δισμουτάση) που μετατρέπει το O<sub>2</sub><sup>•-</sup> σε οξυγόνο (O<sub>2</sub>) και νερό (H<sub>2</sub>O). Όπου MPO (Myeloperoxidase:Μυελούπεροξειδάση), CAT (Catalase:Καταλάση), LO• και LOO• (Λιπιδικές ρίζες), BH<sub>4</sub> (Τετραϋδροβιοπτερίνη)  
 Trends Pharmacol. Sci, 2003

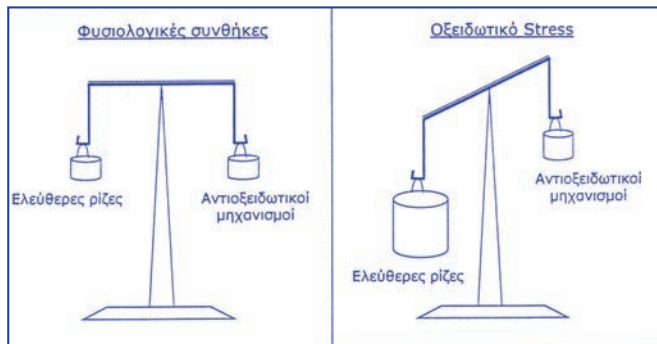
παρατηρείται αυξημένη παραγωγή EOP. Το οξειδωτικό στρες είναι η κατάσταση εκείνη που προκαλείται όταν υφίσταται διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών παραγόντων και αντιοξειδωτικών συστημάτων, σε βάρος των δευτέρων. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε σε αυξημένη παραγωγή των EOP είτε σε μειωμένη δυνατότητα εξουδετέρωσής τους από τον οργανισμό ή, ακόμη, και στα δύο. Το αποτέλεσμα αυτής της διαταραχής είναι η κυτταρική βλάβη (1-5).

Η κυτταρική αυτή βλάβη οφείλεται κυρίως σε διαταραχές του μεταβολισμού όπως η υπεροξειδωση των λιπαρών οξέων, ο αποπολυμερισμός των πολυσακχαριτών και η εκφύλιση των πρωτεϊνών. Οι EOP προκαλούν αδρανοποίηση ή ενεργοποίηση ενζύμων, διαταραχές στην οξειδωτική φωσφορυλίωση και εξάντληση των αναγωγικών συστημάτων. Είναι υπεύθυνες για τη βλάβη και τη ρήξη των κυτταρικών μεμβρανών και την αλλοίωση των λειτουργιών που επιτελούνται σε αυτές, την καταστροφή των δομικών στοιχείων των κυττάρων, την αποδιοργάνωση του ενδοκυττάρου μεταβολισμού, την έξοδο των λυσοσωμιακών ενζύμων και την απελευθέρωση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$ . Προκαλούν βλάβες του γενετικού υλικού όπως είναι τα πυρηνικά οξέα και το DNA. Οι παραπάνω λειτουργικές και μορφολογικές διαταραχές έχουν ως αποτέλεσμα τη γήρανση και τελικά την καταστροφή του κυττάρου αλλά ακόμη και τη μετατροπή του σε βλαπτικό ή θανατηφόρο παράγοντα για τα γειτονικά κύτταρα.

Ειδικά για το καρδιαγγειακό σύστημα, οι οξειδωτικές ρίζες είναι υπεύθυνες για την πρόκληση πολλών παθολογικών καταστάσεων. Σημαντική είναι η επίδρασή τους στο αγγειακό τοίχωμα όπου μεταβάλλουν τον τόνο και την αντιδραστικότητά του, επηρεάζουν τη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου και τη διαπερατότητά του, συμβάλλουν τα μέγιστα στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και προάγουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι τα πιο ευπαθή κύτταρα και προσβάλλονται πιο εύκολα από τις EOP.

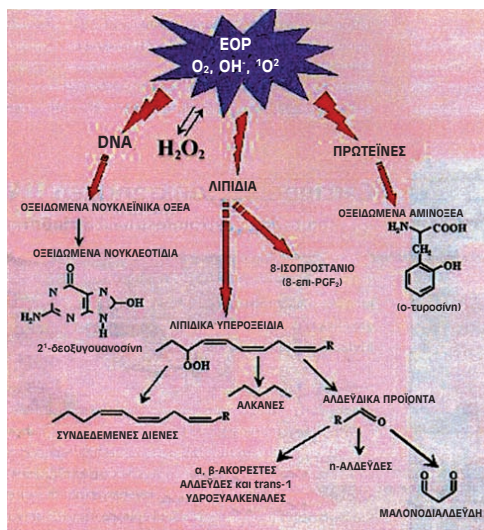
Οι κυριότερες αιτίες είναι η υψηλή πίεση του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα την οποία δύσκολα αντιμετωπίζουν οι περιορισμένοι μηχανισμοί αντιοξειδωτικής άμυνας που διαθέτουν τα κύτταρα αυτά και το υψηλό περιεχόμενό τους σε πολυακόρεστα λιπίδια και φερριτίνη. Το παραγόμενο από τα ενδοθηλιακά κύτταρα NO μπορεί να αντιδράσει μέχρι ενός ορισμένου σημείου με το υπεροξειδικό ανιόν και να σχηματίσει αδρανή προϊόντα. Με την έννοια αυτή, το NO μπορεί να θεωρηθεί ως εκκαθαριστής. Το αν θα επικρατήσουν οι ευεργετικές ενέργειες του NO ή οι καταστροφικές ενέργειες του υπεροξειδικού ανιόντος εξαρτάται από τις ισορροπίες που υπάρχουν. Το επικίνδυνο από την αντίδραση του NO με το υπεροξειδικό ανιόν είναι η δυνατότητα να παραχθεί η υπεροξεινιτρική ρίζα η οποία είναι αρκετά σταθερή, διαχέεται στα πέριξ κύτταρα και προκαλεί βλάβες.

Η σχηματιζόμενη υπεροξεινιτρική ρίζα προκαλεί βλάβες στο αγγειακό τοί-



**Εικόνα 13.3:** Σχέσεις μεταξύ ελεύθερων οξειδωτικών ριζών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Υπό φυσιολογικές συνθήκες υπάρχει δυναμική ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Κατά το οξειδωτικό στρες ανατρέπονται οι ισορροπίες σε βάρος των αντιοξειδωτικών μηχανισμών.

Google-Internet, 2006



**Εικόνα 13.4:** Κύρια προϊόντα από τις ελεύθερες ρίζες οξειγόνου κατά την εξέλιξη της κυτταρικής βλάβης. Καταγράφονται τα κυριότερα προϊόντα από την οξείδωση των κυτταρικών δομικών συστατικών που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες οξειγόνου. Όπου EOR:Ελεύθερες Οξειδωτικές Ρίζες.

Σαββουλίδης Π. /Internet-Medline, 2004

χωμα και στον καρδιακό μυ μέσω πολλών μηχανισμών. Προκαλεί τη νιτροζύλιωση της τυροσίνης και δημιουργεί δυσλειτουργικές πρωτεΐνες, δεσμεύει σουλφοϋδρυλικές ομάδες αδρανοποιώντας μιτοχονδριακά αναπνευστικά ένζυμα, νιτροζυλιώνει κρεατινοκινάσες απαραίτητες για τη σύσπαση των μυϊκών ινών, αναστέλλει τη δράση πολλών αντλιών ιόντων, διευκολύνει τη διάσπαση των κυτταρικών πρωτεϊνών και διασπά τους δεσμούς του DNA (2).

Ιδιαίτερα το ενδοθήλιο χάνει την αγγειοδιασταλτική του ικανότητα λόγω αλλαγών στη δομή του αλλά και λόγω απώλειας του NO το οποίο αφενός αδυνατεί να συνθέσει λόγω γονιδιακής δράσης της υπεροξεινιτρικής ρίζας, αφετέρου λόγω της εξουδετέρωσής του από την αντίδρασή του με το υπεροξειδικό ανιόν.

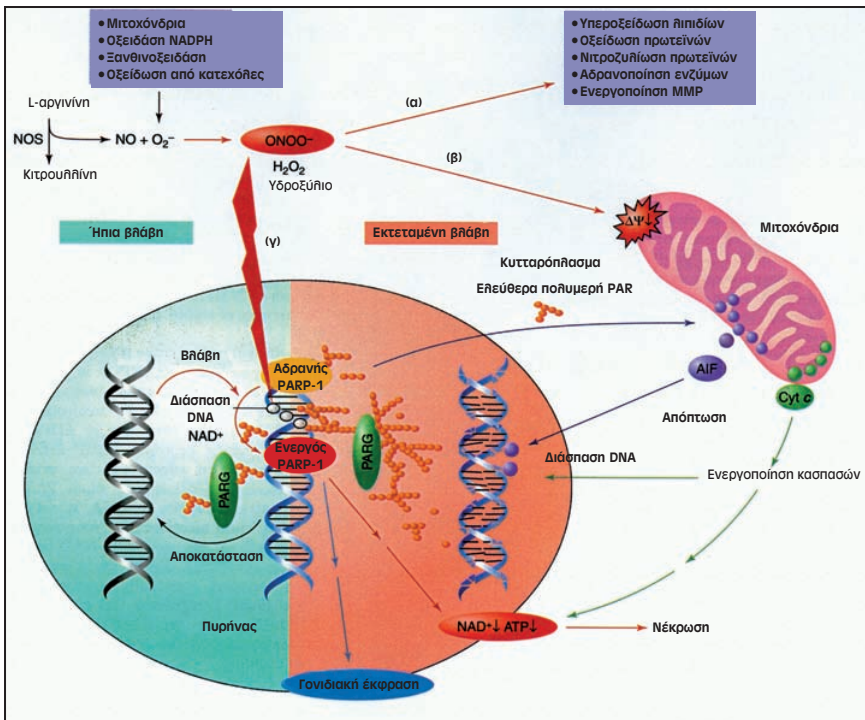
### Οι οξειδωτικές διεργασίες στην αρτηριακή υπέρταση

Η αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών ριζών και ενώσεων συμβάλλει σημαντικά στις δομικές και λειτουργικές μεταβολές που απαντούν στην αρτηριακή υπέρταση. Έχει αποδειχθεί ότι όλα τα είδη κυττάρων που απαντούν στα αγγειακά τοιχώματα έχουν την ικανότητα παραγωγής οξειδωτικών παραγόντων. Οι παράγοντες αυτοί, ιδιαίτερα δε το υπεροξειδικό ανιόν ( $O_2^{\cdot-}$ ) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), συντίθενται και απελευθερώνονται σε μεγάλες ποσότητες και διαδραματίζουν σοβαρό ρόλο ως ενδοκυττάριοι διαμεσολαβητές (8,9).

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι οι οξειδωτικοί παράγοντες και ιδιαίτερα το υπεροξειδικό ανιόν και το υπεροξείδιο του υδρογόνου λειτουργούν και ως βασικοί δεύτεροι αγγελιαφόροι του βιοχημικού σήματος στα καρδιαγγειακά κύτταρα και ότι ενεργοποιούν έναν μεγάλο αριθμό ενδοκυττάρων πρωτεϊνών και ενζύμων. Μεταξύ αυτών αναφέρονται ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF:Epidermal Growth Factor) και οι μεταγραφικοί παράγοντες c-Src, p38 πρωτεϊνική κινάση που διεγείρεται από το μιτογόνο (p38 MAPK: p38 Mitogen Activated Protein Kinase), Ras και ακτινοπρωτεϊνική κινάση B. Η ενεργοποίηση των βιοχημικών αυτών καταρρακτών μεταφοράς του σήματος και των μεταγραφικών παραγόντων που είναι οξειδοαναγωγικά ευαίσθητοι οδηγεί στην ενεργοποίηση πολλών γονιδίων με σημαντικούς λειτουργικούς ρόλους στη φυσιολογία και την παθοφυσιολογία των αγγειακών κυττάρων (9).

Ως οξειδωτική αποπληξία ή κακοποίηση (οξειδωτικό stress) περιγράφεται η βλάβη που προκαλείται στα κύτταρα από την οξείδωση μακρομορίων ως αποτέλεσμα υπερπαραγωγής οξειδωτικών παραγόντων ή και ένδειας αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Η σύγχρονη βιβλιογραφία εμπλουτίζεται συνεχώς με αποδείξεις του ρόλου της οξειδωτικής αποπληξίας στην παθογένεια διαφόρων καρδιαγγειακών νοσημάτων, συμπεριλαμβανομένης της αρτηριακής υπέρτασης και των επιπλοκών της (10-13).

Η αρτηριακή υπέρταση καθεαυτή, ανεξάρτητα από την αιτιολογία (ιδιοπαθής, νεφροαγγειακή, από αλατοκορτικοειδή) επιδρά κατ' αρχάς δυσμενώς επί του ενδοθηλίου και το μετατρέπει σε δυσλειτουργικό. Πέρα από το μηχανικό ερέθισμα, άλλοι παράγοντες σχετιζόμενοι με την αιτιολογία ορισμένων συνηθών μορφών υπέρτασης, κυριώτατα δε η αγγειοτασίνη II, προξενούν δυσλειτουργική εκτροπή των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω διέγερσης των οικείων



**Εικόνα 13.5: Μηχανισμοί κυτταρικής δυσλειτουργίας και νέκρωσης από το οξειδωτικό και το νιτρωειδές στρες.** Το οξειδίο του αζώτου (NO) και το υπεροξειδικό ανιόν (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) αντιδρούν μεταξύ τους και δημιουργούν την υπεροξεινιτρική ρίζα (ONOO<sup>-</sup>) η οποία προκαλεί κυτταρική βλάβη μέσω πολύπλοκων μηχανισμών. **(α)** Προκαλείται υπεροξειδωση των λιπιδίων, αδρανοποίηση ενζύμων και πρωτεϊνών, ενεργοποίηση των MMPs (Matrix Metalloproteinases:Μεταλλοπρωτεϊνάσες στρώματος). **(β)** Ελαττώνεται το ΔΨ (Δυναμικό μεμβράνης) στα μιτοχόνδρια και απελευθερώνονται οι προ-αποπτωτικοί παράγοντες cyt c (cytochrome c: κυτόχρωμα c) και AIF (Apoptosis Inducing Factor:Παράγοντας προάγων την απόπτωση). **(γ)** Οι οξειδωτικές ρίζες διασπούν τους δεσμούς του DNA καθώς διεγείρουν την PARP {poly (ADP-Ribose) Polymerase 1: Πολύ (ριβοζο-ADP) πολυμεράση 1}. Ήπιες βλάβες στο DNA διεγείρουν τους μηχανισμούς επανόρθωσης. Αντίθετα, σε καταστάσεις οξειδωτικού και νιτρωειδούς στρες, η υπερενεργοποιηθείσα PARP μεταφέρει μονάδες ADP-ριβόζης (μικρά πορτοκαλί σφαιρίδια) από τις NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide: Νικοτιναμίδιο αδενινο- δινουκλεοτίδιο) στις πυρηνικές πρωτεΐνες εξαντλώνοντας τα αποθέματα τόσο της NAD όσο και της ATP (Adenosine Triphosphate :Τριφωσφορική αδενοσίνη). Το αποτέλεσμα είναι η επιβράδυνση της γλυκόλυσης και η δυσχέρεια της μιτοχονδριακής αναπνοής, γεγονότα που οδηγούν στην κυτταρική δυσλειτουργία και τον κυτταρικό θάνατο. Παράλληλα, οι μονάδες PAR{poly (ADP-Ribose): Πολύ (ριβοζο-ADP)}διασπώνται από την υδρολυτική δράση της PARG {poly (ADP-Ribose) glycohydrolase: Πολύ (ριβοζο-ADP) γλυκούδρολάση} σε ελεύθερα πολυμερή PAR.

*Trends Pharmacol. Sci.* 26,2005

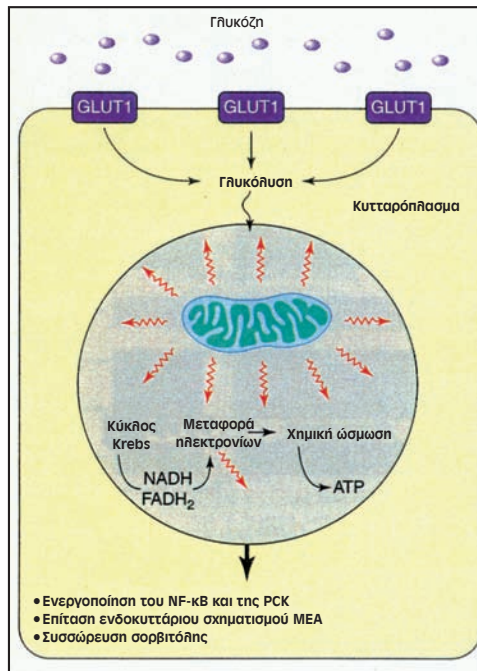
χυμικών υποδοχέων. Επίσης, η αυξημένη αρτηριακή πίεση προάγει τη γονιδιακή έκφραση των κυτταροκινών στο επίπεδο του ενδοθηλιακού κυττάρου και διεγείρει την ανάπτυξη της φλεγμονής στο αγγειακό τοίχωμα (14).

Η έννοια της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, αναστολή της αγγειοδιασταλτικής, αντιθρομβωτικής, αντιπηκτικής, αντιφλεγμονώδους, αντιυπερπλαστικής και αντιαθηρωματικής λειτουργίας του και ενεργητική προαγωγή των ακριβώς αντίθετων δραστηριοτήτων κατόπιν όχι μόνο αναστολής της παραγωγής και έκκρισης των προστατευτικών παραγόντων αλλά και της παραγωγής και έκκρισης ειδικών προς τούτο παραγόντων (13,15,16).

Η τελεολογική σημασία των διαδικασιών αυτών συνίσταται στο γεγονός ότι αποτελούν εντοπισμένη απάντηση σε περιορισμένης έκτασης βλαπτικούς παράγοντες οπότε αποσκοπούν στο να καταστείλουν τους παράγοντες αυτούς και ενδεχομένως να απομονώσουν την περιοχή. Ενδέχεται, όμως, να αποτελούν γενικευμένη απάντηση σε παράγοντα που απειλεί άμεσα τη ζωή. Στην πρώτη περίπτωση, ο οργανισμός αντεπεξέρχεται με ήσσοнос σημασίας απώλειες, ενώ στη δεύτερη επιτυγχάνεται βραχυπρόθεσμη παράταση επιβίωσης με την ελπίδα της εν τω μεταξύ προσφοράς βοήθειας. Η γενικευμένη, όμως, και μεσο-μακροπρόθεσμη διατήρηση των παραπάνω διαδικασιών είναι πάντοτε επιζήμια έως ολέθρια, ανάλογα με την έντασή τους(17).

Μέσα στα πλαίσια της δυσλειτουργίας τους, τα ενδοθηλιακά κύτταρα υπερεκφράζουν το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης (ΜΕΑ) που εγκαθιστά μηχανισμό θετικής ανατροφοδότησης. Ακόμη, συνθέτουν με αυξημένο ρυθμό την ενδοθηλίνη 1 (ΕΤ-1) που εγκαθιστά επίσης μηχανισμό ανατροφοδότησης με την αγγειοτασίνη ΙΙ. Τέλος, το οξειδωτικό στρες προάγει την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ, ο οποίος με τη σειρά του προάγει το μηχανισμό απόπτωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων (17,18).

Η δυσλειτουργική έκκριση των μορίων προσκόλλησης και των κυτταροκινών προκαλεί τη χημειοταξία και την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και τη φλεγμονώδη αντίδραση. Η αγγειοτασίνη ΙΙ προάγει τη συσσώρευση των μονοκυττάρων και των μακροφάγων στο αγγειακό τοίχωμα, διότι διεγείρει την παραγωγή από τις λείες μυϊκές ίνες της πρωτεΐνης-1 που προσελκύει τα μονοκύτταρα ( MAP-1: Monocyte Attractant Protein-1) και την έκφραση του μορίου-1 προσκόλλησης των αγγειακών κυττάρων (VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule-1). Τόσο τα μονοκύτταρα όσο και τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα ανήκουν στην ομάδα των κυττάρων της φλεγμονής. Όταν ενεργοποιηθούν, τα πολυμορφοπύρρηνα απελευθερώνουν οξειδωτικές ρίζες που με τη σειρά τους, όπως ήδη αναφέρθηκε, συμβάλλουν στον τραυματισμό του ενδοθηλίου και στην καρδιαγγειακή νόσο. Τα μονοκύτταρα επίσης αποτελούν ουσιώδεις παράγοντες για την ανάπτυξη των αθηρωματικών βλαβών. Όταν διεγείρονται, προάγεται η πρόσφυσή τους στο ενδοθήλιο η οποία συμβάλλει επίσης στην



**Εικόνα 13.6: Αυξημένη μιτοχονδριακή παραγωγή οξειδωτικών ριζών επί υπεργλυκαιμίας.**

Καταγράφονται οι μηχανισμοί αυξημένης παραγωγής οξειδωτικών ριζών. Όπου ΜΕΑ (Μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτασίνης), GLUT1 (Non Insulin dependent glucose transport: Μη ινσουλινοεξαρτώμενη μεταφορά γλυκόζης), AGE (Advanced Glycation End products: Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης), NF-κΒ (Nuclear Factor-κΒ: Πυρηνικός παράγοντας-κΒ), PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C).

*Trends Pharmacol. Sci. 21,2000*

καρδιαγγειακή νόσο. Κατά την υπέρταση και τον σακχαρώδη διαβήτη αυξάνεται η οξειδωτική αντίδραση των πολυμορφοπυρήνων και των μονοκυττάρων (10,19).

Άμεσο αποτέλεσμα της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου υπό την επίδραση της αρχικής διαταραχής και των ανατροφοδοτικών κύκλων, αλλά και έμμεσο αποτέλεσμα της επιστράτευσης κυττάρων φλεγμονής είναι η παραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος. Η επαγωγή σύνθεσης αυτού του οξειδωτικού παράγοντα δεν αποτελεί προνόμιο μόνο του δυσλειτουργικού ενδοθηλίου στο αγγειακό τοίχωμα, αλλά συμβαίνει και στις λείες μυϊκές ίνες και διαμεσολαβείται από προϊόντα της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Η αγγειοτασίνη II την πραγματοποιεί μέσω διέγερσης των υποδοχέων AT<sub>1</sub>. Το συντιθέμενο υπεροξειδικό ανιόν από κοινού με την ενδοθηλίνη-1 και την αγγειοτασίνη II επιδρά στις αγγειακές λείες μυϊκές ίνες των οποίων αυξάνει τον τόνο, ενώ μακροχρόνια προκαλεί υπερτροφία και υπερπλασία με αποτέλεσμα, συν τω χρόνω, αναδιαμόρφωση του αγγείου. Οι λείες μυϊκές ίνες ανταποκρινόμενες στους παράγοντες που προκάλεσαν

τη διέγερσή τους, συνθέτουν και αυτές με τη σειρά τους υπεροξειδικό ανιόν και δημιουργούν νέο κύκλο θετικής ανατροφοδότησης (17).

Από την άλλη πλευρά, το υπεροξειδικό ανιόν αποικοδομεί το NO που είναι φυσιολογικό προϊόν των ενδοθηλιακών κυττάρων, ιδιαίτερα κρίσιμο για την προστατευτική λειτουργία τους. Η ταχύτητα της αντίδρασης αυτής είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από την ταχύτητα δέσμευσης του υπεροξειδικού ανιόντος με την υπεροξειδική δισμουτάση, που αποτελεί και αντίδραση εξουδετέρωσης. Η προκαλούμενη ένδεια NO είναι υπεύθυνη για μερικές από τις εκδηλώσεις δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου. Ακόμη, το υπεροξειδικό ανιόν, ανάλογα με το ρυθμό παραγωγής του, καθίσταται άμεσα υπεύθυνο για την πρόκληση ποικίλων ιστικών βλαβών (12,16).

Τέλος, οι ιδιαίτερες ανταγωνιστικές δράσεις του υπεροξειδικού ανιόντος στη νεφρική κυκλοφορία και τη διούρηση έχουν άμεση σχέση με την παθολογία και την εξέλιξη της αρτηριακής υπέρτασης, αφού οι νεφροί είναι τα όργανα που προσδιορίζουν την τιμή της αρτηριακής πίεσης (18,20,21).

### **Έλεγχος παραγωγής του υπεροξειδικού ανιόντος**

Η αγγειακή NADPH αποτελεί ιδιοσυστατικό (constitutional) ένζυμο, το οποίο όμως δέχεται οδωτικές επιδράσεις από χυμικούς παράγοντες όπως η αγγειοτασίνη II, ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (PDGF: Platelet Derived Growth Factor), η θρομβίνη, ο νεκρωτικός των όγκων παράγοντας (TNF- $\alpha$ : Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ), η υπεργλυκαιμία, τα γλυκοκορτικοειδή και τα αλατοκορτικοειδή, καθώς, επίσης, και μηχανικές επιδράσεις. Η αγγειακή NADPH έχει χαμηλότερη ενεργότητα σε σχέση με τη NADPH των φαγοκυττάρων και διαφορετική εξειδίκευση ως προς το υπόστρωμα, είναι δε διαρκώς ενεργός. Φαίνεται ακόμη ότι υφίσταται θετική ανατροφοδότηση υπό την επίδραση του ήδη συντεθέντος υπεροξειδικού ανιόντος (22).

Οι λείες μυϊκές ίνες των αγγείων διαθέτουν NADPH παρόμοια με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Στην περίπτωση αυτή έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη στο μόριό της μιας πρωτεΐνης Mox1 η οποία φαίνεται ότι έχει μιτογόνο δράση (22).

Από όλους τους παραπάνω παράγοντες, τουλάχιστον σε ό,τι αφορά την αρτηριακή υπέρταση, τον κυριότερο ρόλο διαδραματίζει η αγγειοτασίνη II. Μέσω της διέγερσης των AT<sub>1</sub> υποδοχέων και της επακολουθούμενης υδροξυλίωσης της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PIP<sub>2</sub>: Phosphatidyl Inositol Biphosphate), το ένα από τα προϊόντα, η διακυλογλυκερόλη (DAG: Diacylglycerol), ενεργοποιεί ένα ένζυμο με κεντρικό ρόλο, την πρωτεϊνική κινάση C (PKC: Protein Kinase C). Μία από τις λειτουργίες στις οποίες εμπλέκεται η PKC είναι η όδωση της σύνθεσης της NADP. Είναι αξιοσημείωτο ότι την παραγωγή της DAG προκαλούν και πολλοί άλλοι νευροχημικοί παράγοντες (9, 23,24).

Ανάλογος μηχανισμός εμπλοκής της PKC αλλά και αυξημένης σύνθεσης



του MEA παρατηρείται στα κύτταρα και επί υπεργλυκαιμίας, με παράλληλη ενεργοποίηση του φλεγμονογόνου μεταγραφικού παράγοντα NF-κB (25).

Η παραγωγή του υπεροξειδικού ανιόντος στα αγγεία επί υπερτάσεως καταλύεται καθ' υπεροχήν από την οξειδάση της NADP (φωσφορυλιωμένη NAD), συνεπικουρούντων και άλλων ενζύμων που περιλαμβάνουν τη συνθετάση του NO, την ξανθινο-οξειδάση και την κυκλοοξυγενάση (9).

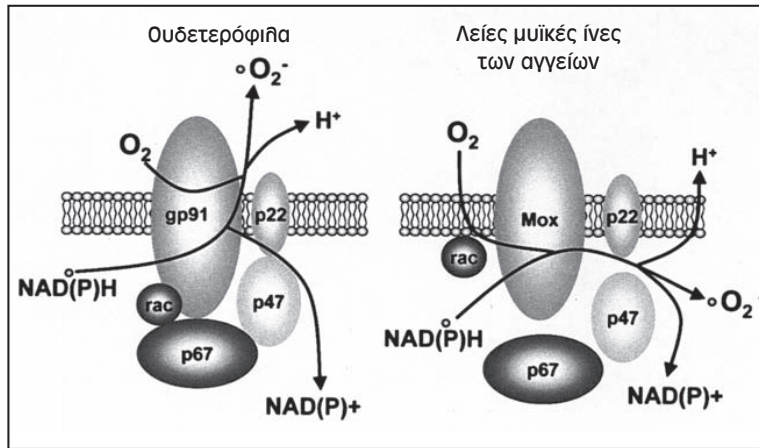
Η αγγειοτασίνη II πλειορρυθμίζει τα επίπεδα του mRNA που ευθύνονται για την παραγωγή της υπομονάδας p22<sup>phox</sup> η οποία αποτελεί κρίσιμο συστατικό του ενζύμου. Η παραγωγή της ίδιας υπομονάδας αποτελεί επίσης ανταπόκριση θετικής ανατροφοδότησης σε σήμα προερχόμενο από το υπεροξειδικό ανιόν, διότι με τη χορήγηση της SOD επί οχήματος ηπαρίνης μειώνεται η παραγωγή του αντίστοιχου mRNA καθώς και η αρτηριακή πίεση σε επίμυες. Με την προχορήγηση λοσαρτάνης (αποκλειστής των AT<sub>1</sub>-υποδοχέων) προλαμβάνεται τόσο η αύξηση του mRNA όσο και της αρτηριακής πίεσης (10,23).

Άλλες παρατηρήσεις αποδεικνύουν ότι η αγγειοτασίνη II αυξάνει την παραγωγή και άλλων δομικών υπομονάδων του ενζύμου, όπως είναι η p67<sup>phox</sup> και η gp91<sup>phox</sup>, γεγονός που προλαμβάνεται με τον αποκλεισμό των AT<sub>1</sub>-υποδοχέων. Επί αρτηριονεφρικής υπερτάσεως επιβεβαιώνεται η σχέση αγγειοτασίνης II και οξειδωσης της NADPH. Σε υπερτασικά νεφρεκτομηθέντα πειραματόζωα η αύξηση παραγωγής του υπεροξειδικού ανιόντος αποδίδεται σε υπερπαραγωγή ιστικής (αγγειακής) αγγειοτασίνης II συνεπεία της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (23).

Σημαντικές μελέτες για τον γενετικό προσδιορισμό της δραστηριότητας της NADPH έχουν γίνει σε επίμυες. Σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει σε μη αυτομάτως καθιστάμενους υπερτασικούς επίμυες, σε γενετικώς επιρρεπείς σε αρτηριακή υπέρταση επίμυες η χορήγηση της αγγειοτασίνης II προκαλεί ισχυρή επαγωγή της παραγωγής του υπεροξειδικού ανιόντος (10).

Έχει αποδειχθεί η ύπαρξη πέντε διαφορετικών αλληλομόρφων της περιοχής που είναι υπεύθυνη για την παραγωγή της υποομάδας p22<sup>phox</sup> στο αγγειακό τοίχωμα των αυτομάτως υπερτασικών επίμυων. Ανάλογοι πολυμορφισμοί που αφορούν το γονίδιο της υποομάδας p27<sup>phox</sup> έχουν διαπιστωθεί σε ανθρώπους πάσχοντες από αθηροσκλήρωση. Ανάλογος πολυμορφισμός έχει συσχετισθεί με την ενδοθηλιογενή στεφανιαία αγγειοδιαστολή. Θεωρείται πολύ πιθανή η συσχέτιση τέτοιων πολυμορφισμών με την επιρρέπεια για στεφανιαία νόσο ασθενών με ιδιοπαθή υπέρταση (7,22).

Οι NOXs (non-phagocytic NAD(P)H oxidase: μη φαγοκυτταρική οξειδάση της NADPH) αποτελούν μια νέα κατηγορία των οξειδασών της NAD(P)H που αφορούν το αγγειακό τοίχωμα και συμβάλλουν στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και της αρτηριακής υπέρτασης. Σε αντίθεση με τις υπεροξειδάσες των ουδετερόφιλων που απελευθερώνουν κατά εκρηκτικά κύματα το υπεροξειδικό ανιόν, οι αγγειακές NOXs παράγουν συνεχώς χαμηλά επίπεδα υπεροξειδικού

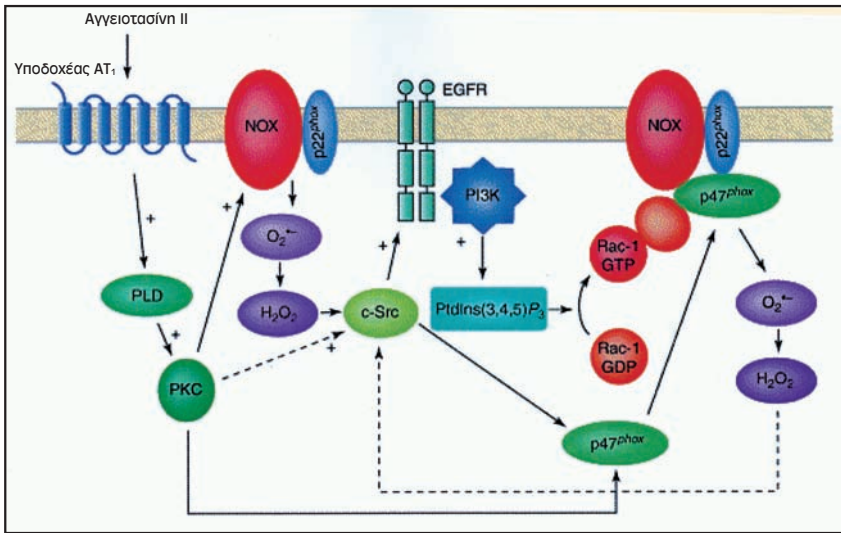


**Εικόνα 13.7: Δομή του μορίου της NAD(P)H. Αριστερά-ουδετερόφιλα.** Τα gp91phox και p22phox δημιουργούν το τμήμα μεταφοράς των ηλεκτρονίων της οξειδάσης και τα p47phox και p67phox είναι κυτταροπλασματικά στοιχεία που αντιδρούν με τις δύο παραπάνω πρωτεΐνες για να ρυθμίσουν την ενεργότητά τους. Η μικρού ΜΒ rac-πρωτεΐνη χρησιμεύει επίσης ως λειτουργικός ρυθμιστής. **Δεξιά-Λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος.** Τμήματα της οξειδάσης των ουδετερόφιλων τα οποία έχουν διαπιστωθεί και στις αγγειακές λείες μυϊκές ίνες. Δεν έχουν επαρκώς καθορισθεί οι λειτουργικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στις υπομονάδες αυτές. Όπου (O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Υπεροξειδικό ανιόν).

*Am. Heart Assoc./Circ. Res.- Medline-Internet, 2005*

ανιόντος που δρα αυτοκρινώς και παρακρινώς. Μέχρι σήμερα έχουν μελετηθεί πέντε είδη NOXs, εκ των οποίων οι NOX1, NOX2 (γνωστή και ως gp91<sup>phox</sup>), NOX4 και NOX5 απαντούν στο ενδοθήλιο και οι NOX1, NOX4, και NOX5 στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος. Είναι επίσης γνωστό ότι η ενεργότητα της NOX1 ρυθμίζεται από δύο πρωτεΐνες, την οργανωτική NOX και την ενεργοποιητική NOX (26).

Προσφάτως εκτιμηθείσα ως αξιόλογη πηγή του υπεροξειδικού ανιόντος είναι η συνθετάση του NO (NOS). Αξιόλογες πειραματικές εργασίες έχουν αποδείξει ότι η NOS είναι εξίσου ικανή να συνθέτει από την L- αργινίνη υπεροξειδικό ανιόν και NO, η δε φυσιολογική, συντριπτικά υπερέχουσα δεύτερη λειτουργία της καθορίζεται από την επαρκή παρουσία τετραϋδροβιοπτερίνης (BH<sub>4</sub>). Επί ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας ποικίλης αιτιολογίας, όπως επί υπερχοληστερολαιμίας, η χορήγηση της BH<sub>4</sub> μειώνει την παραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος. Σε προϋπερτασικούς επίμυες της ποικιλίας των αυτομάτως υπερτασικών έχει ανευρεθεί υπερπαραγωγή του υπεροξειδικού ανιόντος αποδιδόμενη σε δυσλειτουργούσα σύνθεση του NO (12).



**Εικόνα 13.8: Διέγερση από την αγγειοτασίνη των αγγειακών (NOXs) της NADPH.** Η διέγερση του υποδοχέα-AT<sub>1</sub> της αγγειοτασίνης II οδηγεί στη φωσφορυλίωση της p47<sup>phox</sup>. Οι σπουδαιότερες σημασιές αντιδράσεις που μεσολαβούν είναι η ενεργοποίηση της PLD (Phospholipase D: Φωσφολιπάση D), της PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C) και της τυροσινικής κινάσης cSrc. Η φωσφορυλίωση της p47<sup>phox</sup> προάγει τη σύνδεσή της με τα στοιχεία της οξειδάσης στην κυτταρική μεμβράνη και συγκεκριμένα με την p22<sup>phox</sup>. Η κινάση cSrc διεγείρει επίσης τον υποδοχέα EGFR (Epidermic Growth Factor Receptor: Υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα) ο οποίος με τη σειρά του οδηγεί στην ενεργοποίηση της PI3K (Phosphatidylinositol 3-Kinase: Κινάση 3 της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης) και της RAC-1, η οποία είναι μια μικρή πρωτεΐνη που συνδέεται με την GTP. Η μετατόπιση της RAC-1 προς την κυτταρική μεμβράνη ενεργοποιεί ακόμη περισσότερο την οξειδάση και διατηρεί τη δράση της. Οι μηχανισμοί αυτοί οδηγούν σε φλεγμονή και δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και μακροπρόθεσμα σε πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος και σε αγγειογένεση. Όπου Υπεροξειδικό ανιόν (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), Ptd (3,4,5)P<sub>3</sub> (Phosphatidylinositol (3,4,5) Triphosphate: Τριφωσφορική (3,4,5) φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη).

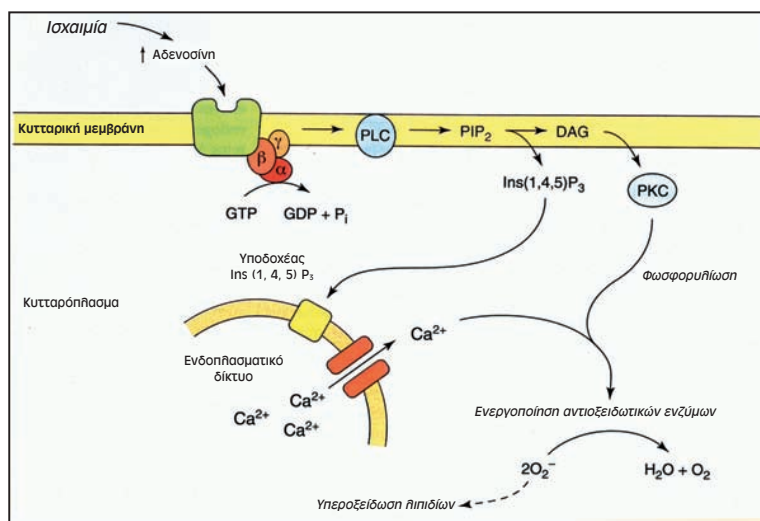
*Trends Pharmacol. Sci, 2003*

### Ενδογενείς μηχανισμοί εξουδετέρωσης των οξειδωτικών ουσιών

Η παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων στους υγιείς οργανισμούς σχεδόν εξισορροπείται με τη δράση των αντιοξειδωτικών συστημάτων άμυνας. Η ισορροπία αυτή, βέβαια, δεν είναι τέλεια, με αποτέλεσμα να υπάρχει μια συνεχής βλαπτική ενέργεια άλλοτε άλλου βαθμού.

Οι προστατευτικοί μηχανισμοί που ο οργανισμός διαθέτει για την αντιμετώπιση και εξουδετέρωση των ελεύθερων οξειδωτικών ουσιών και ριζών μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής (1,6,8,24,27-29):

Την πρώτη γραμμή άμυνας αποτελούν ένζυμα που καταλύουν την αναγωγή των EOP που παράγονται κατά τη μη ελεγχόμενη μονοσθενή αναγωγή του μοριακού οξυγόνου. Η υπεροξειδική δεσμουτάση (SOD) καταλύει

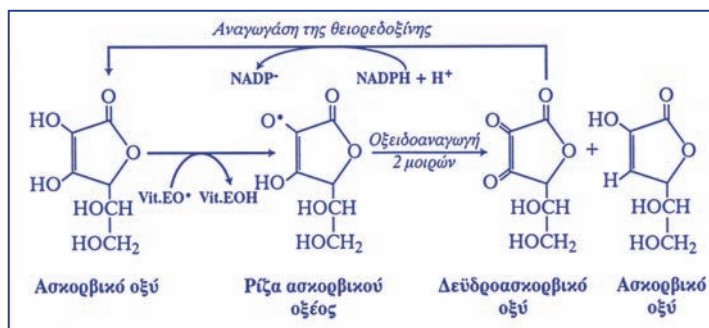


**Εικόνα 13.9: Προτεινόμενος μηχανισμός ενεργοποίησης των αντιοξειδωτικών ενζύμων από την αδενοσίνη.** Η αδενοσίνη η οποία εκλύεται κατά τις ισχαιμικές καταστάσεις διεγείρει πιθανόν τους  $A_3$  –υποδοχείς της στην κυτταρική μεμβράνη. Η ενεργοποίηση των υποδοχών αυτών προάγει τη διέγερση του συστήματος της PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C), την απελευθέρωση του  $Ca^{2+}$  από τις ενδοκυττάρια αποθήκες και την ενεργοποίηση της κινάσης PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C) από τη σχηματιζόμενη DAG (Diacylglycerol:Διακυλογλυκερόλη). Η PKC προάγει τη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση των αντιοξειδωτικών ενζύμων και περιορίζει ως εκ τούτου την οξειδωση των μεμβρανικών λιπιδίων.

*Trends Pharmacol. Sci.* 16,1995

τη μετατροπή του  $O_2^-$  σε  $H_2O$ . Η καταλάση είναι επίσης ένα ενζυμο που καταλύει τη μετατροπή του  $H_2O_2$  σε  $H_2O$  και  $O_2$ . Η υπεροξειδάση της ανηγμένης γλουταθειόνης (Px-GSH) καταλύει την αντίδραση της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) προς οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) και αναχθέν υδροϋπεροξειδιο. Η Px-GSH δεν παρουσιάζει εξειδίκευση προς το υδροϋπεροξειδιο που μπορεί να είναι από  $H_2O_2$  έως και  $LO_2$ . Τέλος, το ίδιο ένζυμο είναι απαραίτητο για τις επιδιορθώσεις του DNA από βλάβες που προκαλούν διάφοροι παράγοντες, μεταξύ των οποίων και η οξειδωτική κακοποίηση.

Η σερουλοπλασμίνη οξειδώνει τον δισθενή σίδηρο ( $Fe^{2+}$ ) προς τρισθενή ( $Fe^{3+}$ ) και παρεμποδίζει την εξαρτώμενη από το  $Fe^{2+}$  ή το χαλκό ( $Cu^+$ ) υπεροξειδωση των λιπιδίων. Τέλος, η αδενοσίνη που παράγεται σε ισχαιμικές καταστάσεις διεγείρει την ενδοκυττάρια φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Ο μηχανισμός διαμεσολαβείται από τη διέγερση του συστήματος της PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C) και τη φωσφορυλίωση των ενζύμων από την κινάση PKC. Με το μηχανισμό αυτό ασκεί προστατευτικό ρόλο από τις οξειδωτικές ρίζες που σχηματίζονται αθρόα κατά την επαναϊμάτωση (30).



**Εικόνα 13.10: Οξείδωση του ασκορβικού οξέος κατά την αναγέννηση της α-τοκοφερόλης.**

Η αντιοξειδωτική δράση του ασκορβικού οξέος συνίσταται κυρίως στην αναγέννηση της α-τοκοφερόλης και του β-καροτενίου. Κατά την αντίδραση αυτή, το ασκορβικό οξύ μετατρέπεται σε ασκορβιλική ρίζα. Από την ασκορβιλική ρίζα αναγεννάται το ασκορβικό οξύ παρουσία της NADH αναγωγάσης.

Γ. Παπαγεωργίου. Βιοχημεία Ελεύθερων ριζών, αντιοξειδωτικά και λιπιδική υπεροξειδωση, 2005

Η δεύτερη γραμμή άμυνας του οργανισμού αποτελείται από μια πληθώρα μη ενζυμικών συστημάτων με αντιοξειδωτικές λιπόφιλες ή υδρόφιλες ουσίες.

Η α-τοκοφερόλη, κλάσμα της βιταμίνης E, σπάζει την αλυσίδα υπεροξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων που προκαλείται από τις ΕΟΡ. Αυτό γίνεται γιατί δίνει ένα  $H_2$  και ανορθώνει τους διπλούς δεσμούς στο λιπαρό οξύ, ενώ η ίδια μετατρέπεται σε υδατοδιαλυτή α-τοκοφερολική ρίζα. Η τελευταία αντιδρά με το ασκορβικό οξύ, δηλαδή τη βιταμίνη C, και αναγεννάται, ενώ το ασκορβικό οξύ μετατρέπεται σε ασκορβιλική ρίζα.

Το ασκορβικό οξύ αποτελεί ένα υδατοδιαλυτό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων στο κυτταρόπλασμα και τον εξωκυττάριο χώρο. Η αντιοξειδωτική του δράση συνίσταται κυρίως στην αναγέννηση της α-τοκοφερόλης και του β-καροτενίου. Από την ασκορβιλική ρίζα αναγεννάται το ίδιο παρουσία της NADH αναγωγάσης.

Οι θειόλες είναι επίσης εκκαθαριστές των ΕΡΟ, ενώ τα καροτινοειδή όχι μόνο ασκούν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, αλλά μπορούν να προστατεύουν εύκολα υδρόφοβα μόρια που δεν μπορούν να πλησιάσουν οι τοκοφερόλες. Η τρανσφερίνη και η λακτοφερίνη δεσμεύουν  $Fe^{2+}$  και μετριάζουν τη δράση της λιπιδικής υπεροξειδάσης. Η απτοσφαιρίνη και η αιμοπηξίνη δεσμεύουν την αιμοσφαιρίνη που κυκλοφορεί σε ελεύθερη μορφή, ενώ η αλβουμίνη δεσμεύει ισχυρά ιόντα του  $Cu^+$  και ασθενέστερα του  $Fe^{2+}$ . Η γλυκόζη εκκαθαρίζει ρίζες OH και το ουρικό οξύ δεσμεύει  $Fe^{2+}$  και  $Cu^+$ .

Ως τρίτη γραμμή άμυνας του οργανισμού θεωρούνται οι μηχανισμοί αποκατάστασης των προσβληθεισών δομών. Ο οργανισμός προσπαθεί να αποκαταστήσει τις βλάβες αυτές είτε με επιδιορθώσεις στο επίπεδο του DNA είτε με αντικαταστάσεις των τρωθέντων μορίων, όπως συμβαίνει με τις περισσότερες οξειδωθείσες πρωτεΐνες.

### Προϊόντα εξουδετέρωσης του υπεροξειδικού ανιόντος

Η υπερπαραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος, όταν η παρουσία της SOD είναι επαρκής, οδηγεί σε ανάλογη σύνθεση υπεροξειδίων του υδρογόνου προς το σκοπό της δέσμευσης του ανιόντος με την προοπτική ότι το υπεροξείδιο του υδρογόνου θα αναχθεί τελικά μέσω της καταλάσης σε νερό. Υπολογίζεται ότι ένα τυπικό ανθρώπινο κύτταρο παράγει περίπου  $3 \times 10^9$  μόρια  $H_2O_2$  ωριαίως. Επειδή, όμως, η ικανότητα της καταλάσης είναι πεπερασμένη, είναι δυνατόν να υπερκορεσθεί το ένζυμο και το  $H_2O_2$  να διαφύγει, και μάλιστα ενδοκυτταρίως, σε αντίθεση με το υπεροξειδικό ανιόν. Η διάχυση του  $H_2O_2$  προς τον μυϊκό χιτώνα σχετίζεται με τις αντιδράσεις των λείων μυϊκών ινών και την υπερτροφία τους.

Το NO αποτελεί εκκαθαριστή του υπεροξειδικού ανιόντος με αποτέλεσμα τον γνωστό καταβολισμό του πρώτου παρουσία του δευτέρου προς υπεροξεινιτρική ρίζα ή υπεροξεινιτρικό ανιόν, που αποτελεί ένα από τα γνωρίσματα της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Η επαγωγή της σύνθεσης του υπεροξειδικού ανιόντος από την αγγειοτασίνη II φαίνεται ότι αποτελεί τη δικαιολογία των ευρημάτων της ερευνητικής ομάδας σε μελέτη παραγωγής NO στην οποία μετέχουν οι συγγραφείς. Στα πειράματα αυτά επώασθηκε αορτή βοός με ακέραιο ενδοθήλιο. Η προσθήκη της αγγειοτασίνης II δεν προκάλεσε μεταβολή στην παραγωγή NO, παρουσία όμως της λοσαρτάνης αυξήθηκε η παραγωγή κατά 70 % (31).

Το υπεροξεινιτρικό ανιόν που παράγεται κατά την αντίδραση NO με το διαφυγόν εκ της υπεροξειδικής δισμουτάσης υπεροξειδικό ανιόν είναι εντόνως οξειδωτικός παράγοντας. Μεταξύ άλλων, οξειδώνει το αραχιδονικό οξύ και στους νεφρούς απελευθερώνει το ισοπροστανοειδές  $F_2a$  που αποτελεί ισχυρό ενδογενικό αγγειοσυσπαστικό παράγοντα, ιδιαίτερα των απαγωγών αρτηριδίων, καθώς επίσης και αντινατριουρητικό παράγοντα. Κατά συνέπεια, θεωρείται σημαντικός υπερτασιογόνος παράγοντας. Τα ισοπροστανοειδή συνδέονται πιθανώς προς ιδίους υποδοχείς, αλλά παράλληλα παρέχουν διασταυρούμενη αντίδραση με τους υποδοχείς της θρομβοξανής ( $TXA_2$ :Thromboxane). Η διαδικασία αυτή ανοίγει έναν ακόμη δρόμο που συνδέει την αγγειοτασίνη II, τους οξειδωτικούς παράγοντες και την αρτηριακή υπέρταση. Έχει διαπιστωθεί πειραματικά σε χοίρους, ότι πολύ χαμηλές δόσεις αγγειοτασίνης II διεγείρουν τις οξειδωτικές διαδικασίες και αυξάνουν τα ισοπροστανοειδή του πλάσματος (32).

### Οι οξειδωτικές διεργασίες στην καρδιακή ανεπάρκεια

Η καρδιακή ανεπάρκεια αποτελεί όψιμη επιπλοκή της σοβαρής αρτηριακής υπέρτασης, ιδιαίτερα όταν συνυπάρχουν άλλες καταστάσεις ευοδούμενες από την αρτηριακή υπέρταση, όπως η στεφανιαία νόσος.

Οι αιμοδυναμικές διαταραχές επηρεάζουν τη συσταλτικότητα των καρδιομυοκυττάρων και την ολόπλευρη (global) λειτουργικότητα της αριστερής κοιλίας. Το ίδιο αποτέλεσμα έχουν οι άμεσες μυοκαρδιακές βλάβες που οφείλονται σε διάχυτη ή διάσπαρτη ιστική καταστροφή, αλλά -μετά από ένα χρονικό διάστημα ανεπιτυχούς προσαρμογής του ενεργού μυοκαρδίου- και οι περιοχικές νεκρώσεις επί ισχαιμικής νόσου. Το απώτερο τελικό αποτέλεσμα είναι η εκδήλωση συστολικής καρδιακής ανεπάρκειας εξαρτημένης από το μέγεθος του βλαπτικού παράγοντα.

Παράλληλα, όμως, τόσο οι αιμοδυναμικές διαταραχές όσο και οι άμεσες μυοκαρδιακές βλάβες, στα πλαίσια της επιστράτευσης δυνάμεων για τη βραχυ-μεσοπρόθεσμη ενίσχυση της ολόπλευρης λειτουργικότητας, προκαλούν κινητοποίηση νευροορμονικών και χυμικών μηχανισμών. Παρά την προσωρινή αντιρρόπηση, τελικά οι μηχανισμοί αυτοί οδηγούν σε λειτουργική και δομική υποβάθμιση το μυοκάρδιο, με αποτέλεσμα την απώλεια της συσταλτικότητας των καρδιομυοκυττάρων και την πρόκληση καρδιακής ανεπάρκειας εξελισσόμενης ανεξάρτητα από την έκταση της αρχικής βλάβης. Ο αποπτωτικός θάνατος των μυοκαρδιακών κυττάρων πιστεύεται ότι είναι ένας αποκαλυπτικός παράγοντας που σηματοδοτεί τη μετάβαση από την αντιρροπούμενη καρδιακή υπερτροφία στην αντλιακή ανεπάρκεια (33).

Το οξειδωτικό και το νιτριοξειδές στρες έχουν ρόλο στην ανάπτυξη της καρδιακής ανεπάρκειας. Η αυξημένη σύνθεση των ελεύθερων οξειδωτικών ριζών στο μυοκάρδιο διεγείρεται από τις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες και από το σύστημα της ξανθοξειδάσης κατά την επαναιμάτωση μετά την ισχαιμία. Ανεπάρκεια των αντιοξειδωτικών μηχανισμών όπως της γλουταθειονικής υπεροξειδάσης, της καταλάσης και της υπεροξειδικής δισμουτάσης, καθώς και ελάττωση των συγκεντρώσεων της βιταμίνης E, του ασκορβικού οξέος και της γλουταθειόνης, προάγουν την αύξηση των ελεύθερων οξειδωτικών ριζών στο μυοκάρδιο. Πηγές των ριζών αυτών είναι, μεταξύ άλλων, η ξανθίνη, η NAD(P)H, η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια και τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα. Το υπερπαραγόμενο κατά την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας NO, λόγω αυξημένης έκφρασης και ενεργότητας της iNOS (inducible NO Synthase: επαγόμενη συνθετάση του NO) αντιδρά με το υπεροξειδικό ανιόν και σχηματίζει την ιδιαίτερα κυτταροτοξική υπεροξεινιτρική ρίζα. Η iNOS μπορεί επίσης να παραγάγει και υπεροξειδικό ανιόν, όταν υπάρχει ανεπάρκεια βασικών παραγόντων στο υπόστρωμά της. Η διέγερση της δράσης των μεταλλοπρωτεϊνών και της PARP-1 {poly (ADP-Ribose) Polymerase 1: Πολύ (ριβοζο-ADP) πολυμεράση 1} από την υπεροξεινιτρική ρίζα, αποτελεί έναν βασικό παράγοντα απώλειας δομικών στοιχείων για το μυοκάρδιο (2,22).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, κατά την καρδιακή ανεπάρκεια υπάρχει εκτεταμένη έκλυση κυτταροκινών και παράλληλα παραγωγή οξειδωτικών ριζών. Επί του ενδοθηλίου, η επίδραση των παραπάνω παραγόντων είναι ανταγωνιστική. Οι

οξειδωτικές ρίζες προάγουν τη δραστηριότητα της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO, πιθανώς λόγω της εν συνεχεία δέσμευσης και καταβολισμού του NO. Αντίθετα, οι κυτταροκίνες καταστέλλουν τη δραστηριότητα της συνθετάσης του NO. Το, τελικό, όμως αποτέλεσμα μέσα από τους πολύπλοκους αυτούς μηχανισμούς είναι η σοβαρή μείωση του διαθέσιμου NO (34).

Ειδικότερα, οι υπό συζήτηση κυτταροκίνες (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) επενεργώντας στα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούν τον πρωτεϊνικό επαγωγέα της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (EDIP: Endothelial Dysfunction Inducer Protein) που είναι μία πρωτεΐνη 60 kDa. Μεταξύ των άλλων δραστηριοτήτων, η εν λόγω πρωτεΐνη δεσμεύει και αποσταθεροποιεί το mRNA για τη σύνθεση της eNOS και τοιούτο-τρόπως προκαλεί την έκπτωση της σύνθεσης του NO (34,35).

Πρέπει, όμως, να τονισθεί ότι τα αποτελέσματα της δυσμενούς δράσης των κυτταροκινών και κατ' εξοχήν του TNF- $\alpha$  δεν περιορίζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, διότι πλην αυτών η παρουσία της eNOS έχει επισημανθεί στο ενδοκάρδιο, τα καρδιομυοκύτταρα, το μυοκάρδιο των κόμβων και το εν γένει ερεθισματοπαγώ σύστημα, καθώς και σε έμμορφα στοιχεία του αίματος (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, αιμοπετάλια). Είναι ως εκ τούτου προφανές ότι η δυσμενής επίδραση των κυτταροκινών, ακόμη και μόνο στη σύνθεση του NO εξεταζόμενη, είναι εκτεταμένη.

Η εγκατάσταση συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας σε λίαν προχωρημένα στάδια υπερτασικής καρδιοπάθειας έχει διαπιστωθεί πειραματικά ότι μέσω διαφόρων παράλληλων μηχανισμών οδηγεί σε μιτοχονδριακές βλάβες των ουδετερόφιλων, με αποτέλεσμα την απόπτωση των εν λόγω κυττάρων και την αμυντική και ανοσολογική δυσλειτουργία.

Οι κυτταροκίνες (ιδίως η IL $_6$  και ο TNF- $\alpha$ ) μέσω της έκκρισης οξειδωτικών παραγόντων προβαίνουν σε οξείδωση λιπιδίων. Η τελευταία προκαλεί οξείδωση των ενζύμων της αναπνευστικής αλυσού που αυξάνει τη μιτοχονδριακή διαπερατότητα και οξείδωση, καθώς και οξείδωση, του μιτοχονδριακού DNA που επίσης διαταράσσει το σύστημα και οδηγεί στην αύξηση της ωσμωτικής πίεσης και στη ρήξη των μιτοχονδρίων, σε συνδυασμό με τους υπόλοιπους μηχανισμούς. Ο παράγων TNF- $\alpha$  μέσω της δράσης επί της πολυμεράσης της πολύ-ADP-ριβόζης οδηγεί σε μείωση του NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide: Νικοτινάμιδο αδενινο δινουκλεοτίδιο) με απότοκο τη μείωση της διαθέσιμης ATP, όπως ήδη έχει αναφερθεί. Η μείωση της ATP διανοίγει, ως γνωστόν, διαύλους εισόδου K $^+$  προς τα μιτοχόνδρια. Τούτο έχει ως αποτέλεσμα τη μιτοχονδριακή αποπόλωση. Η συμφόρηση προάγει τη σύνθεση κορτικοστεροειδών που προκαλούν αποπόλωση των μιτοχονδρίων (2). Η αποπόλωση των μιτοχονδρίων μειώνει την κινούσα δύναμη για την είσοδο των H $^+$  μέσω του διαύλου που συνδέεται με τη συνθετάση της ATP. Έτσι τείνει να αποσυνδεθεί η οξειδωτική διεργασία από την παραγωγή της ATP. Παράλληλα μειώνεται η κινούσα δύναμη



για την είσοδο  $\text{Ca}^{2+}$  στα μιτοχόνδρια. Αρχικά, ο μηχανισμός αυτός κινητοποιούμενος επί βραχείας ισχαιμίας ενεργεί προστατευτικά (preconditioning: εξοικείωση) απέναντι σε επαπειλούμενη επανάληψη της μυοκαρδιακής ισχαιμίας. Είναι προφανές ότι ανάλογοι μηχανισμοί ισχύουν για πολλές άλλες κατηγορίες κυττάρων (2).

Παράλληλα, η αγγειοτασίνη II, της οποίας ο ρόλος στην ανάπτυξη του οξειδωτικού στρες αναπτύχθηκε επαρκώς έχει, όπως επίσης αναπτύχθηκε, και αλληλεξάρτηση με τη σύνθεση και απελευθέρωση της ενδοθηλίνης-1 η οποία με τη σειρά της αποτελεί τον ισχυρότερο ενδογενή αγγειοσυσπαστικό παράγοντα. Η τελευταία είναι επίσης βασικός παράγοντας καταστολής της καρδιακής λειτουργίας, ενώ προάγει και την κυτταρική νέκρωση (36).

## Φαρμακολογικές παρεμβάσεις

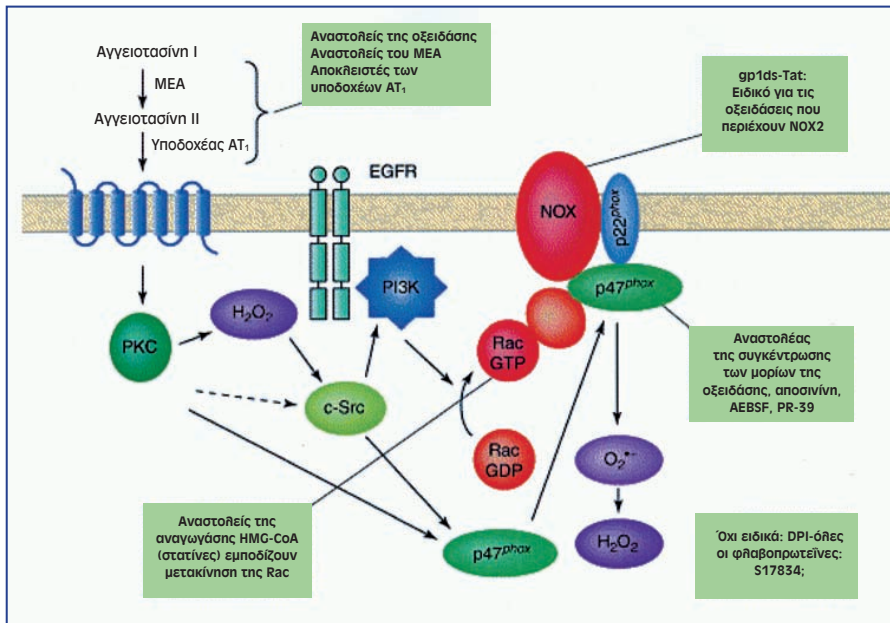
### *Αντιυπερτασική δράση αντιοξειδωτικών παραγόντων*

Από τα παραπάνω αναμένεται θεωρητικά ότι η χορήγηση αντιοξειδωτικών παραγόντων θα πρέπει να έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αγγειοτασίνης II σε άτομα με αρτηριακή υπέρταση. Το γεγονός έχει επιβεβαιωθεί σε πειραματόζωα. Η βιβλιογραφία που αναφέρεται στον άνθρωπο περιορίζεται ουσιαστικά σε αναφορές για ήπια αντιυπερτασική δράση της πυκνογενόλης (37).

Η πυκνογενόλη είναι ένα εκχύλισμα που αποτελείται από ένα μείγμα φλαβονοειδών που με τη σειρά τους αποτελούν μία ομάδα από τις πλέον κοινές ενώσεις φυτικής προέλευσης (20,37-39).

Έχει διαπιστωθεί ότι η πυκνογενόλη διεγείρει τη δομική ενδοθηλιακή eNOS και με το μηχανισμό αυτό αυξάνει τα επίπεδα του NO το οποίο, όπως ήδη αναπτύχθηκε, πέραν της αγγειοδιασταλτικής του δράσης αναχαιτίζει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος, τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων και την οξείδωση των LDL λιποπρωτεϊνών. Η τελευταία δράση θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική διότι αποτρέπει το σχηματισμό των πλάκων κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Ανασταλτικός είναι, επίσης, ο ρόλος της πυκνογενόλης στη σύνθεση της  $\text{TXA}_2$ . Η τελευταία, πέρα από τον κατ' εξοχήν τόπο σύνθεσής της, που είναι τα αιμοπετάλια, συντίθεται από το αγγειακό τοίχωμα και από διάφορους άλλους ιστούς, μεταξύ των οποίων και ο νεφρικός. Η  $\text{TXA}_2$  εκτός της γνωστής διεγερτικής της δράσης στα αιμοπετάλια έχει και αγγειοσυσπαστικές δράσεις. Επίσης, προάγει την κατακράτηση νατρίου από τους νεφρούς, διότι μεταβάλλει τη σπειραματική διήθηση ενισχύοντας τον σωληναριοσπειραματικό μηχανισμό ανατροφοδότησης (20,37).

Η πυκνογενόλη έχει, επίσης, ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες δεσμεύοντας οξειδωτικές ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο και το άζωτο. Με τον



**Εικόνα 13.11: Φαρμακολογικές ανασταλτικές παρεμβάσεις στις αγγειακές NOXs της NADPH.**

Οι αποκλειστές των  $AT_1$ -υποδοχέων της αγγειοτασίνης II και οι αναστολείς του MEA εμποδίζουν την από την αγγειοτασίνη II πυροδοτούμενη βιοχημική οδό των NOXs [non-phagocytic NAD(P) oxidase: μη φαγοκυτταρική οξειδάση της NADPH]. Οι στατίνες εμποδίζουν τη σύνθεση της διφωσφορικής γερανυλγερανύλης και με το μηχανισμό αυτό αναστέλλουν τη σύνδεση της RAC (μικρή πρωτεΐνη που συνδέεται με την GTP) με την κυτταρική μεμβράνη. Το πεπτιδίο gp91ds-Tat αναστέλλει τη σύνδεση μεταξύ της  $gp91^{phox}$ , γνωστής και ως NOX2, με την  $p47^{phox}$  η οποία προάγει τα οξειδωτικά φαινόμενα. Η απομισίνη, η με το κωδικό όνομα PR-39 και η AEBSF (Aminoethyl Benzenesulfonofluoride) που είναι επίσης γνωστή και ως refabloc εμποδίζουν τη σύνδεση της  $p47^{phox}$  με την  $p22^{phox}$ . Τέλος, η PPI (Diphenyl Iodinium) δρα ανασταλτικά στις φλαβοπρωτεΐνες. Όπου EGFR (Epidermic Growth Factor Receptor: Υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα),  $O_2^-$  (Υπεροξειδικό ανιόν), PI3K (Phosphatidylinositol 3-Kinase: Κινάση 3 της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης), PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C)

*Trends Pharmacol. Sci, 2003*

τρόπο αυτό προστατεύει τις κυτταρικές μεμβράνες από το οξειδωτικό στρες το οποίο, μεταξύ άλλων, οδηγεί στην απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος με τις γνωστές βλαβερές συνέπειες που ήδη αναπτύχθηκαν. Με την προστασία των μεμβρανών επιτυγχάνεται και η ομαλή λειτουργία της  $Na^+ / K^+$  ΑΤΡάσης, η ανταλλαγή  $Na^+ / Ca^{2+}$  και η δυνατότητα δέσμευσης του  $Ca^{2+}$  (20,37,39).

Υπάρχουν, επίσης, αναφορές σύμφωνα με τις οποίες η πυκνογενόλη ασκεί ήπια ανασταλτική ενέργεια στη δράση του ενζύμου MEA και κατ' επέκταση στην αύξηση των επιπέδων της αγγειοτασίνης II, της οποίας ο ρόλος στην υπέρταση και την εμφάνιση του οξειδωτικού στρες είναι γνωστός. Παράλληλα, η πυκνογενόλη ασκεί και αντιφλεγμονώδη δράση μέσω διαφόρων μηχανι-

σμών. Οι παραπάνω ενέργειες της πυκνογενόλης θεωρούνται ευεργετικές για την προφύλαξη από τις σωματικές βλάβες που έχουν μια χρόνια πορεία και εξέλιξη και σχετίζονται με την πρόοδο της ηλικίας. Η αρτηριοσκλήρυνση ανήκει σε αυτές και ο ρόλος της στην ανάπτυξη της υπέρτασης είναι γνωστός (20,37,38).

Παρόμοιες φυτικές ενώσεις θα μπορούσαν να έχουν κλινική εφαρμογή σε παθήσεις του καρδιαγγειακού συστήματος που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες.

Παράλληλα έχει διαπιστωθεί ότι τόσο η λοσαρτάνη όσο και η ιρβεσαρτάνη, αποκλειστές των  $AT_1$ -υποδοχέων της αγγειοτασίνης II, αναστέλλουν την αθηρωματική διαδικασία καταστέλλοντας το ενδοαγγειακό οξειδωτικό stress και την παραγωγή οξειδωτικών ριζών. Υπάρχουν επίσης ευρήματα που συνηγορούν στο ότι και οι αναστολείς του MEA ασκούν ευεργετική επίδραση ενάντια στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Και οι δύο αυτές κατηγορίες φαρμάκων θα πρέπει να θεωρηθούν ως μία νέα αντιοξειδωτική στρατηγική, διότι στοχεύουν το οξειδωτικό στρες στην πηγή του που είναι η ενεργοποίηση της NADH, δηλαδή της ανηγμένης μορφής του NAD, από την αγγειοτασίνη II (18,19,23).

Επίσης αποκλειστές των διαύλων του  $Ca^{2+}$ , όπως η τριμεταζιδίνη, έχουν παρουσιάσει ελπιδοφόρες αντιοξειδωτικές δράσεις. Τέλος, έχει διαπιστωθεί ότι οι στατίνες δρουν κατασταλτικά στη γονιδιακή έκφραση της υπομονάδας  $nox1$  της NAD(P)H, όχι όμως και στην αντίστοιχη έκφραση της υπομονάδας  $p22^{rhoX}$ . Παράλληλα, αυξάνουν τη γονιδιακή έκφραση της καταλάσης (40).

### **Καρδιακή ανεπάρκεια και αντιοξειδωτικοί παράγοντες**

Οι προσπάθειες αντιμετώπισης της καρδιακής ανεπάρκειας με τα συνήθη αντιοξειδωτικά δεν ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικές είτε γιατί αντιδρούσαν ασθενώς με το υπόστρωμά τους είτε γιατί η δοσολογία δεν ήταν επαρκής. Χρειάζονται προσεγγίσεις με πιο αποτελεσματικά αντιοξειδωτικά μέσα με υψηλές τιμές αντίδρασης, με εκλεκτικότητα προς τα μυοκαρδιακά ένζυμα που παράγουν οξειδωτικές ρίζες και με παρεμβάσεις στα κύρια βιοχημικά μονοπάτια που διαμεσολαβούνται από το οξειδωτικό και το νιτριτοειδές στρες (2,41).

Η ουδετεροποίηση της υπεροξεινιτρικής ρίζας και η αναστολή της δράσης των μεταλλοπρωτεϊνών και της PARP αποτελούν σήμερα στόχους για φαρμακολογική έρευνα και παρέμβαση. Καταλυτικές ουσίες που θα διασπών την υπεροξεινιτρική ρίζα έχουν δώσει σε πειραματικό επίπεδο ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Παράγωγα της ομάδας των τετρακυκλινών εμφανίζονται να έχουν ανασταλτικές δράσεις στις μεταλλοπρωτεϊνάσες, ενώ αναστολείς της PARP-1 έχουν περάσει σε κλινικές δοκιμασίες. Ως γνωστόν, οι οξειδωτικές ρίζες διασπών τους δεσμούς του DNA καθώς διεγείρουν την PARP-1, ενώ σε καταστάσεις οξειδωτικού και νιτριτοειδούς στρες η υπερενεργοποιηθείσα PARP-1 μεταφέρει μονά-

δες ADP-ριβόζης από τις NAD στις πυρηνικές πρωτεΐνες εξαντλώντας τα αποθέματα τόσο της NAD όσο και της ATP. Ο μηχανισμός αυτός οδηγεί τα κύτταρα στην εξασθένηση και τη νέκρωση.

Υπενθυμίζεται ότι φάρμακα όπως η καρβεδιλόλη και η νεμπιβολόλη που ανήκουν στους β-αδρενεργικούς αποκλειστές που έχουν επιπλέον και αντιοξειδωτική δράση έχουν περάσει στην κλινική πράξη. Τέλος, προσπάθειες γίνονται και προς την πλευρά των αναστολέων της ξανθινοοξειδάσης. Αναστολείς του ενζύμου αυτού όπως η αλλοπουρινόλη και η οξυπουρινόλη έχουν δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Δοκιμασίες γίνονται και με αναστολείς της NAD(P)H όπως η απομυκίνη, η οποία όμως παρουσίασε ασθενή δράση αποκλειστή.

Θα ήταν παράλειψη να μη γίνει αναφορά και στα τρόφιμα εκείνα τα οποία περιέχουν ουσίες που δεσμεύουν τις οξειδωτικές ρίζες, όπως είναι τα διάφορα φρούτα και ιδιαίτερα τα εσπεριδοειδή, λαχανικά όπως τα μπρόκολα, τα κουνουπίδια και τα καρότα και, τέλος, το κόκκινο κρασί και το πράσινο τσάι.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Κόκκας Β. :Οξειδωτικό stress και αρτηριακή υπέρταση. Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν. 20:117-123,2002
2. Pacher P, Schulz R, Liaudet L, Szabo C.: Nitrosative stress and pharmacological modulation of heart failure. *Sci.* 26:302-310,2005
3. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Κόκκας Β., Μισσοπούλου-Κόκκα Α.:Ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες και καρδιαγγειακό σύστημα. *Αρτηριακή Υπέρταση* 6:58-69,1997
4. Grynberg A. and Demaison L.: Fatty oxidation in the heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1996, 28 (Suppl. 1): 11-17.
5. Halliwell B. and Gutteridge J.: *Free radicals in biology and medicine.* Oxford University Press, Oxford 1999.
6. Παπαγεωργίου Γ.: Βιοχημεία ελεύθερων ριζών, αντιοξειδωτικά και λιπιδική υπεροξειδωση. University Studio Press.Θεσσαλονίκη, 2005
7. Stuehr D.: Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 37:339-359,1997
8. Muller G., Goettsch C., Morawietz H.Q: Oxidative stress and endothelial dysfunction. *Hamostaseologie.* 27:5-12, 2007
9. Griendling K., Sorescu D., Lassegue B. and Ushio-Fukai M.: Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20: 2175-2183, 2000
10. Harrison D.: Endothelial function and oxidant stress. *Clin. Cardiol.* 20 (Suppl.II) : 11-17, 1997
11. Yasunari K., Maeda K., Nakamura M., Yoshikawa J.: Oxidative stress in leukocytes is a possible link between blood pressure, blood glucose, and C-reacting protein. *Hypertension* 39:777-780, 2002
12. Cai H. and Harrison D.: Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. The role of oxidant stress. *Circ. Res.* 87:840-844, 2000
13. Heitzer T., Schlinzig T., Krohn K., Meinertz T., Munzel T.: Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 104: 2673-2678, 2001
14. Chae C., Lee R., Rifai N., Ridker P.: Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension* 38:399-403,2001
15. Luscher T. and Barton M.: Biology of the endothelium. *Clin. Cardiol.* 20 (Suppl. II) : 3-10, 1997
16. Panza J.: Endothelial dysfunction in essential hypertension. *Clin. Cardiol.* 20 (Suppl.II): 26-33,1997
17. Aoki M., Nata T., Morishita R., Matsushita H.: Endothelial apoptosis induced by oxidative stress through activation of NF-κB. *Hypertension* 38:48-55,2001
18. Ortiz M.C., Manriquez M., Romero J. and Juncos L.: Antioxidants block

- angiotensin II –induced increases in blood pressure and endothelin. *Hypertension* 38:655-659,2001
19. Munzel T. and Keaney J.: Are ACE inhibitors a “magic bullet” against oxidative stress/ *Circulation* 104: 1571- 1574, 2001
  20. Fitzpatrick D., Bing B., Rohdewald P.: Endothelium- dependent vascular effects of pycnogenol. *J. Cardio. Pharmacol.* 32:509-515, 1998
  21. Katusic Z.: Superoxide anion and endothelial regulation of arterial tone. *Free Rad Bio Med.* 20:443-448,1996
  22. Bayraktutan U., Blayney L., Shah A.: Molecular characterization and localization of the NAD(P)H oxidase components gp91-phox and p22-phox in endothelial cells. *Vasc. Biol.* 20:1903-1908,2000
  23. Nickenig G., Harrison D.: The AT<sub>1</sub> – type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis. Part I: Oxidative stress and atherogenesis. *Circulation* 105:393-396,2002
  24. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press. Θεσσαλονίκη, 2003
  25. Schmid A., Stern D.: A radical approach to the pathogenesis of diabetic complications. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:367-369,2000
  26. Cai H., Griendling K., Harrison D.: The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:471-475, 2003
  27. Marcus R., Coulston A.: Water-soluble vitamins. The B complex and ascorbic acid. In: Hardman J., Limbrid L. (eds) “Goodman and Gilman’s. The Pharmacological Basis of Therapeutics”. McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp1752-1772,2001
  28. Bannister J., Bannister W., Rotilio G.: Aspects of structure, function, and applications of superoxide dismutase. *CRC Crit. Rev. Biochem.* 22:111-180,1987
  29. Τρακατέλλης Α.: Βιοχημεία. Θεσσαλονίκη, 1992
  30. Ramkumar V., Nie Z., Rybak L., Maggirwar S.: Adenosine, antioxidant enzymes and cytoprotection. *Trends Pharmacol. Sci.* 16:283-285,1995
  31. Myronidou M., Kokkas B., Kouyoumtzis A., Gregoriadis N., Loumbropoulos A., Mylonas I., Mirtsou-Fidani V. and Papadopoulos C.L.: Losartan increases NO production by the bovine aortic wall that is stimulated by angiotensin II. *Eur. J. Inflamm.* 3:113-117,2003
  32. Khan B., Navalkar S., Khan Q., Rahman S and Parthasarathy S.: Irbesartan, an angiotensin type 1 receptor inhibitor, regulates the vascular oxidative state in patients with coronary artery disease. *J. Am. Col. Cardiology* 38:1662-1667,2001
  33. Fortuno M.A., Ravassa S., Fortuno A., Zalba G., Diez J.: Cardiomyocyte apoptotic cell death in arterial hypertension. *Hypertension* 38:1400-1412,2001
  34. Lopez Fare A. and Casado S.: Heart failure, redox alterations, and endothelial dysfunction. *Hypertension* 38: 1400-1405,2001
  35. Nickenig G. and Harrison D.: The AT<sub>1</sub> – type angiotensin receptor in oxidative

- stress and atherogenesis. Part II: AT<sub>1</sub> receptor regulation. *Circulation* 105:530-536,2002
36. Monti L., Allibardi S., Piati P.M., Valsecchi G., Costa S. and Pozza G.: Triglycerides impair postischemic recovery in isolated hearts. Roles of endothelin-1 and trimetazidine. *Am. J. Physiol.* 281: 1122-1130,2001
  37. Hosseini S., Lee J., Sepulveda R., Rohdewald P., Watson R.: A randomized, double blind, placebo-controlled, prospective, 16 week crossover study to determine the role of pycnogenol in modifying blood pressure in mildly hypertensive patients. *Nutr. Res.* 21:1251-1260,2001
  38. Blaszo G., Gaspar R., Gabor M., Ruve H., Rohdewald P.: ACE inhibition and hypotensive effect of a procyanidins containing extract from the bark of pinus pinaster Sol. *Pharmaceut. Pharmacol. Lett.* 1: 8-11,1996
  39. Κόκκας Β. και Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Ενέργειες των φλαβονοειδών και ιδιαίτερα της πυκνογενόλης στο καρδιαγγειακό σύστημα. *Αρτηριακή υπέρταση.* 8:48-54,1999
  40. Wassmann S., Laufs U., Muller K.: Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vivo and in vitro. *Thromb. Vasc. Biol.* 22:300-307,2002
  41. Southan G., Szabo C.: Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Curr. Med. Chem.* 10:321-340,2003





## ΔΕΚΑΤΟ ΤΕΤΑΡΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### **ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ ΚΑΙ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ**

Β. Α. Κόκκας και Κ. Λ. Παπαδόπουλος

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Το ενδοθήλιο προστατεύει την ανατομία και τη λειτουργία των αγγείων και διατηρεί τη ρευστότητα του αίματος. Η λύση της συνεχείας ή η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου εκθέτει τα αγγεία σε βλαπτικές επιδράσεις ανάλογες προς την έκταση και την ένταση της ενδοθηλιακής βλάβης. Η αυξημένη παρουσία οξειδωτικών ριζών κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και η συνεπεία αυτής οξείδωση των LDL προς oxLDL φαίνεται να αποτελούν την κυριότερη αιτία της συμπορευόμενης με τις διαδικασίες αυτές δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου. Η δυσλειτουργία αυτή εκδηλώνεται με ανατροπή της ισορροπίας μεταξύ αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσπαστικών ουσιών, που συντίθενται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, σε βάρος των πρώτων. Οι βλαπτικοί παράγοντες είναι ποικίλοι και συμπίπτουν με εκείνους που ενεργοποιούν άμεσα τα αιμοπετάλια και προδιαθέτουν στην ανάπτυξη της αγγειακής νόσου. Κυρίως ελαττώνονται τα ποσά του συντιθέμενου και απελευθερούμενου οξειδίου του αζώτου και αυξάνουν τα αντίστοιχα ποσά της ενδοθηλίνης-1. Οι φαρμακολογικοί παράγοντες που υποβοηθούν την ορθή λειτουργία του ενδοθηλίου περιλαμβάνουν τους αποκλειστές των διαύλων του  $Ca^{2+}$ , τους αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης, τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα και τα αντιοξειδωτικά φάρμακα.*

#### **Εισαγωγή**

Είναι γνωστό και αναπτύχθηκε εκτενέστατα στα προηγούμενα κεφάλαια ότι το ενδοθήλιο ρυθμίζει τον βασικό αγγειακό τόνο και την αγγειακή αντίδραση

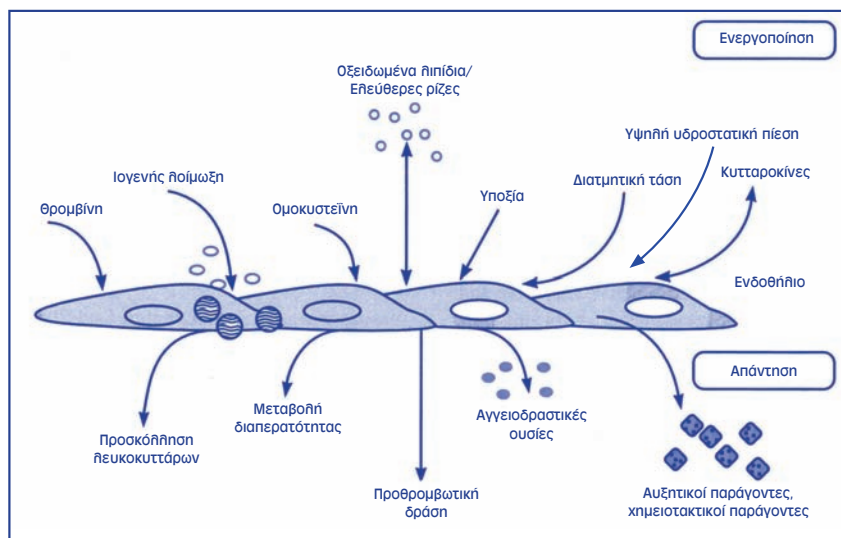
τόσο υπό φυσιολογικές όσο και υπό παθολογικές συνθήκες. Το ενδοθήλιο δεν είναι απλώς ένας εκλεκτικός ημιδιαπερατός φραγμός μεταξύ κυκλοφορούντος αίματος και αγγειακού τοιχώματος, αλλά συγχρόνως λειτουργεί ως ένας αισθητήρας ο οποίος ανιχνεύει αιμοδυναμικές αλλαγές και χημικά σήματα και αποτελεί τον πλέον εκτεταμένο ενδοκρινή αδέν. Σε απάντηση των ερεθισμάτων αυτών, τα ενδοθηλιακά κύτταρα απαντούν με τη σύνθεση και απελευθέρωση αγγειοδραστικών ουσιών και αυξητικών παραγόντων οι οποίοι με τη σειρά τους ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος. Παράλληλα, το φυσιολογικό ενδοθήλιο συνιστά μια αντιθρομβωτική επιφάνεια, ενώ σε περιπτώσεις ιστικής βλάβης συμμετέχει στην όλη φλεγμονώδη διαδικασία αυξάνοντας, μεταξύ άλλων, τη διαπερατότητα του και εκφράζοντας στην επιφάνειά του πολλαπλά μόρια προσκόλλησης.

Έχει ήδη αναπτυχθεί ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν τόσο αγγειοδιασταλτικές, ουσίες, όπως είναι το οξειδίο του αζώτου (NO), η προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>) και ο ενδοθηλιακός υπερπολωτικός παράγοντας (EDHF: Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor), όσο και αγγειοσυσπαστικούς παράγοντες, όπως είναι η ενδοθηλίνη-1, η αγγειοτασίνη II, η θρομβοξάνη (TXA<sub>2</sub>) και η προσταγλανδίνη H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>). Οι δύο τελευταίες ενώσεις είναι προϊόντα του βιοχημικού δρόμου της κυκλοοξυγενάσης (COX:Cyclooxygenase), ενώ προϊόν της ίδιας βιοχημικής οδού είναι και το υπεροξειδικό ανιόν το οποίο προκαλεί επίσης αγγειοσύσπαση τόσο άμεσα όσο και μέσω της εξουδετέρωσης του NO προς υπεροξυνιτρική ρίζα (1,2,3).

Το NO, εκτός από τις αγγειοδιασταλτικές του δράσεις, έχει δράσεις αντιθρομβωτικές και αντιμιτωτικές και δρα ανασταλτικά στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων. Αντίθετα, οι ενέργειες της ενδοθηλίνης-1 είναι αγγειοσυσπαστικές όταν το ενδοθήλιο δυσλειτουργεί, ενώ η ίδια ουσία προάγει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών και των ινοβλαστών του μέσου χιτώνα των αγγείων, την αύξηση της γονιδιακής έκφρασης των μορίων προσκόλλησης και δρα ως χημειοτακτικός παράγοντας των μακροφάγων. Η ενδοθηλίνη-1 διασπάται από την ουδέτερη ενδοπεπτιδάση που διασπά και τα αγγειοδιασταλτικά νατριουρητικά πεπτίδια (4,5,6).

### Γενεσιουργά αίτια

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου επέρχεται ως συνέπεια της δράσης βλαπτικών παραγόντων του καρδιαγγειακού συστήματος και προηγείται της ανάπτυξης της αθηρωμάτωσης. Η παθολογική αυτή κατάσταση του ενδοθηλίου αποτελεί έναν πρώιμο δείκτη της αθηρωμάτωσης και αφετηρία ανάπτυξης των παθήσεων του καρδιαγγειακού συστήματος. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία συμμετέχει ενεργά στην ανάπτυξη αυτής της αγγειακής βλάβης προάγοντας



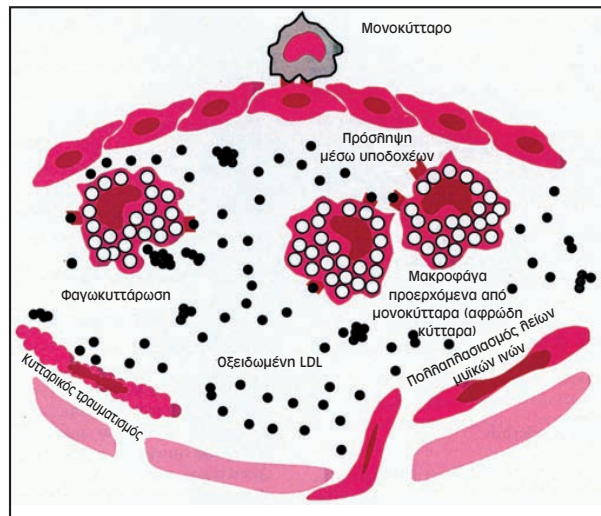
**Εικόνα 14.1:** Αίτια ανάπτυξης ενός δυσλειτουργικού ενδοθηλίου. Καταγράφονται οι κυριότεροι διεγερτικοί και τραυματικοί παράγοντες οι οποίοι ενοχοποιούνται για τη μετατροπή του ενδοθηλίου σε δυσλειτουργικό.

*Fuster V. et al (eds). Atherosclerosis and coronary artery disease, 1996*

τόσο τους πρώιμους όσο και τους μεθύτερους μηχανισμούς της αθηρωμάτωσης. Μεταξύ των μηχανισμών αυτών περιλαμβάνονται η πλειορύθμιση της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης, η αυξημένη έκκριση χημειοκινών, η προσκόλληση των λευκοκυττάρων, η αυξημένη ενδοθηλιακή διαβατότητα, η επίταση της οξείδωσης των LDL ( Low Density Lipoprotein) λιποπρωτεϊνών, η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η προαγωγή της πολύπλοκης δράσης των κυτταροκινών, και ο πολλαπλασιασμός, μετανάστευση και μεταπλασία των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Επί ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, η ισορροπία μεταξύ αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσυσπαστικών παραγόντων ανατρέπεται σε βάρος των πρώτων. Ιδιαίτερη είναι η ανατροπή της ισορροπίας μεταξύ του NO και της ενδοθηλίνης-1 εις βάρος του πρώτου.

Παράγοντες που προάγουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης όπως η LDL χοληστερόλη, η ομοκυστεΐνη, ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρταση, το κάπνισμα και η απουσία οιστρογόνων, προάγουν επίσης και τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου με μηχανισμούς αλληλένδετους και αλληλεξαρτώμενους.

Η αυξημένη παρουσία οξειδωτικών ριζών κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και η συνεπεία αυτής οξείδωση των LDL, τόσο του πλάσματος όσο και εκείνων που έχουν διηθήσει τον υπενδοθηλιακό χώρο, προς oxLDL αποτελεί βασικό βήμα προς την αθηρογένεση. Το ίδιο βήμα φαίνεται να αποτελεί και την κυριότερη αιτία της συμπορευόμενης με τις διαδικασίες αυτές δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου.



**Εικόνα 14.2: Ο ρόλος των oxLDLs κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης.** Αμέσως μόλις οξειδωθούν οι LDLs, ως oxLDLs, πλέον, τραυματίζουν ή διεγείρουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα και επιτείνουν το μεταβολισμό τους επιτρέποντας την είσοδο περισσότερων μακρομορίων του πλάσματος, ενώ ανατρέπουν το ισοζύγιο μεταξύ αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσυσπαστικών ουσιών σε βάρος των πρώτων. Επίσης, οι oxLDLs διευκολύνουν την είσοδο των μονοκυττάρων καθώς προάγουν την απελευθέρωση χημειοτακτικών παραγόντων και αυξάνουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης. Τέλος, η πρόσληψη των oxLDLs από τα μονοκύτταρα που έχουν μετατραπεί σε μακροφάγα μετατρέπεται τα τελευταία σε αφρώδη κύτταρα.

*Fuster V. et al (eds) "Atherosclerosis and coronary artery disease", 1996*

Το κάπνισμα προάγει τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου κυρίως μέσω των οξειδωτικών παραγόντων που περιέχονται στον καπνό. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα οι παράγοντες αυτοί προάγουν την οδό των πεντοζών, την έξοδο από της γλουταθειόνης, την ελάττωση της ATP και την απελευθέρωση του MEA (Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτασίνης). Επίσης προάγουν την αύξηση της ξανθοοξειδάσης στο πλάσμα, ενζύμου υπεύθυνου για την παραγωγή οξειδωτικών ριζών, και την προσκόλληση των λευκοκυττάρων. Με το κάπνισμα ελαττώνεται η σύνθεση του NO και αυξάνεται η συγκέντρωση της ADMA (Asymmetric Dimethyl-Arginine: Ασύμμετρος διμεθυλο-αργινίνη) η οποία ανταγωνίζεται, όπως έχει ήδη αναπτυχθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, την L-αργινίνη (7,8).

Το κάπνισμα είναι γνωστό ότι δημιουργεί βλάβες στα αγγεία και τις προϋποθέσεις για ισχαιμικά και θρομβωτικά επεισόδια. Μεταξύ άλλων, προάγεται η απελευθέρωση της θρομβοξάνης με αποτέλεσμα τη διέγερση των αιμοπεταλίων και την εκφύλιση του ενδοθηλίου. Ποιος είναι, όμως, ο ρόλος της νικοτίνης και πόσο συμμετέχει στα φαινόμενα αυτά;

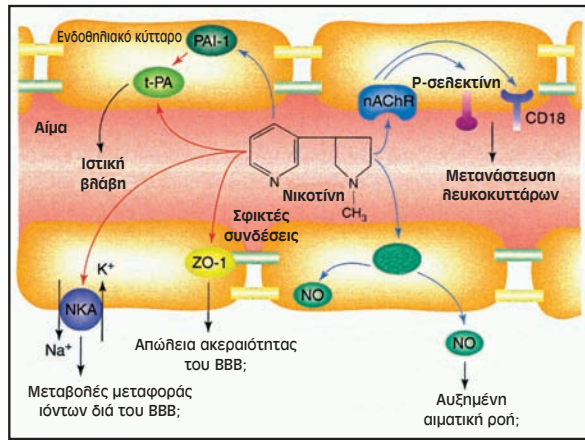
Η νικοτίνη δεν προκαλεί οξεία αγγειοδραστικά και μιτογόνα φαινόμενα, προάγει όμως βαθμιαία την αποφολίδωση του ενδοθηλιακού χιτώνα με απο-

τέλεσμα ο αναγεννώμενος λόγω ανωριμότητας για ικανό χρόνο, να υστερεί σε αμυντικές ικανότητες. Ως εκ τούτου, μακροπρόθεσμα η νικοτίνη δημιουργεί προβλήματα στην ενδοθηλιακή λειτουργία, αυξάνει τον τόνο των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος, ενώ παράλληλα αυξάνει και τη διαβατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, καθώς ελαττώνει τη γονιδιακή έκφραση των πρωτεϊνών ZO-1 (zonule occludens-1: πρωτεΐνες αποκλειστές της ζώνης-1) που αποτελούν και το δείκτη των σφικτών συνδέσεων μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων στα τριχοειδή του εγκεφάλου. Οι δράσεις αυτές φαίνεται να οφείλονται στο γεγονός ότι η νικοτίνη διεγείρει ενδοκυττάριας οδούς από τις οποίες άλλες εξαρτώνται από την ακετυλοχολίνη και άλλες όχι. Πειραματικά δεδομένα σε ζώα έχουν δείξει ότι η νικοτίνη μακροχρόνια εξαντλεί τα αποθέματα του t-PA (tissue Plasminogen Activator: Ιστικός Ενεργοποιητής του Πλασμινογόνου) και αυξάνει της συγκεντρώσεις του PAI (Plasminogen Activator Inhibitor: Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου), ενώ ελαττώνει την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή από το NO (9).

Με το κάπνισμα εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος περισσότερα από 200 γνωστά δηλητήρια, μεταξύ των οποίων και αυξημένες ποσότητες μονοξειδίου του άνθρακα (CO). Το τελευταίο συνδέεται με την αιμοσφαιρίνη προς την οποία παρουσιάζει συγγένεια 200-250 φορές μεγαλύτερη από το οξυγόνο, μειώνει τη δυνατότητά της να συνδέεται με το οξυγόνο και προκαλεί ιστική υποξυγοναιμία, γεγονός το οποίο έχει ιδιαίτερη σημασία για τις ήδη ισχαιμούσες περιοχές. Η σύνδεση του CO με την καρδιακή μυοσφαιρίνη, προς την οποία έχει μεγαλύτερη συγγένεια σε σχέση με την αιμοσφαιρίνη, προκαλεί καρδιακή καταστολή και υποτασικά φαινόμενα που επιδεινώνουν την ιστική υποξία. Παράλληλα, προξενεί βλάβες στο ενδοθήλιο προάγοντας την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Μεταξύ άλλων, προκαλεί την υπεροξειδωση των λιπιδίων και προάγει τη φλεγμονογόνο συμπεριφορά των λευκοκυττάρων (8,10,11).

Η αθηρογονικότητα που παρατηρείται κατά τον σακχαρώδη διαβήτη οφείλεται σε πολλαπλούς μηχανισμούς μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται οι μεταβολές των συγκεντρώσεων των λιποπρωτεϊνών και η έντονη παρουσία των αθηρογόνων μορφών τους, όπως οι μικρές πυκνές LDL. Παράλληλα, η γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών επηρεάζει και τις πρωτεΐνες που δομούν το αγγειακό τοίχωμα αυξάνοντας τις πιθανότητες για οξειδωτικές βλάβες. Η γλυκοζυλίωση των LDL προσβάλλει τη δυνατότητα αναγνώρισής τους από τους υποδοχείς τους και τις καθιστά πλέον επιρρεπείς σε οξειδωτικούς μετασχηματισμούς (12).

Η ομοκυστεΐνη, που είναι γνωστός αθηρωματογόνος παράγοντας, αποτελεί ενδιαμέσο προϊόν μεταβολισμού της μεθειονίνης το οποίο κατ' αρχάς αυτοοξειδώνεται και στη συνέχεια οξειδώνει τις λιποπρωτεΐνες LDL. Η ομοκυστεΐνη εκτός του ότι συμβάλλει στην παραγωγή ελεύθερων οξειδωτικών ριζών συγχρόνως εξασθενεί και τα αντιοξειδωτικά συστήματα του οργανισμού. Παράλληλα, δρα



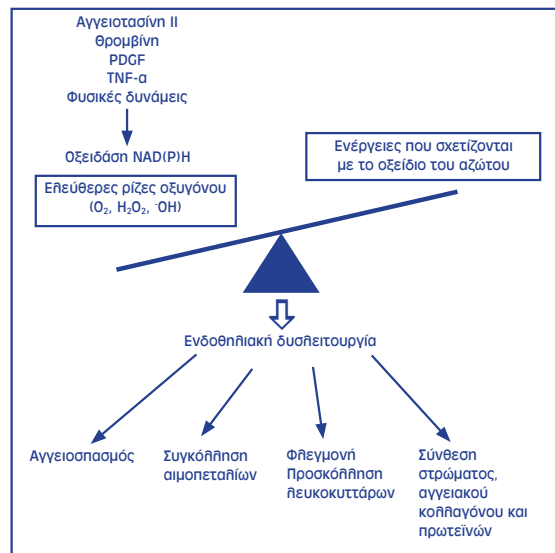
**Εικόνα 14.3: Επιδράσεις της νικοτίνης στην αιματική κυκλοφορία του εγκεφάλου.** Η νικοτίνη ασκεί πολλές βλαβερές δράσεις στα αγγεία του εγκεφάλου. Ιδιαίτερα επηρεάζει δυσμενώς τις προστατευτικές δράσεις του ενδοθηλίου έναντι των θρομβωτικών φαινομένων. Μεταξύ άλλων η νικοτίνη εξαντλεί τα απόθέματα του t-PA (tissue Plasminogen Activator:ιστικός Ενεργοποιητής του πλασμινογόνου) και αυξάνει τις συγκεντρώσεις του PAI (Plasminogen Activator Inhibitor: Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου) ενώ ελαττώνει την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή από το NO. Προάγει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης (P-σελεκτίνη, CD18) και διεγείρει τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων. Παράλληλα επηρεάζει δυσμενώς την ακεραιότητα του φραγμού αίματος-εγκεφάλου. Μηχανισμοί διεγείρονται ή αναβαθμίζονται (μπλε βέλη) και άλλοι αναστέλλονται ή υποβαθμίζονται (κόκκινα βέλη). Όπου NAChR (Nicotinic Acetylcholine Receptor: Νικοτινικός υποδοχέας της ακετυλχολίνης), NKA (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase: Αντί-α Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>), NO (nitric Oxide: Οξείδιο του αζώτου), NOS (NO Synthase: Συνθετάση του NO), ZO-1 (zonula occludens-1: Πρωτεΐνες αποκλειστές της ζώνης-1), BBB (Blood Brain Barrier:Φραγμός αίματος-εγκεφάλου).

*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*

ανταγωνιστικά προς την πρωτεΐνη C, ενώ ενισχύει παράγοντες πήξης του αίματος όπως είναι ο V και ο XII. Με τη δράση της ουσίας αυτής το ενδοθήλιο καθίσταται δυσλειτουργικό όσον αφορά τόσο την προαγωγή της αγγειοδιαστολής όσο και την προφύλαξη από τα θρομβωτικά φαινόμενα (13).

### Μηχανισμοί ανατροπής των ισορροπιών

Κατά την εξέλιξη της αθηροσκληρυνσης παρατηρείται βαθμιαίως επιδεινούμενη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Ο κύριος και βασικός μηχανισμός, αλλά όχι και ο μοναδικός, σχετίζεται με την ελαττωμένη σύνθεση του NO. Υπάρχουν διαταραχές στο μηχανισμό σύνθεσης του NO, ελαττωμένη ενεργότητα της eNOS, δυσκολίες στη διάχυση του NO προς τον μυϊκό χιτώνα, ταχεία διάσπασή του και μετατροπή του σε υπεροξυνιτρική ρίζα από το υπεροξειδικό οξυγόνο που απελευθερώνεται από τα μακροφάγα και τα άλλα φλεγμονώδη κύτταρα. Παράλληλα υπάρχει αύξηση της ενεργότητας του MEA ή άλλως ACE (Angiotensin



**Εικόνα 14.4: Αγγειοδραστικές ουσίες επί ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας.** Σχεδιάγραμμα στο οποίο καταγράφεται η ανατροπή της ισορροπίας μεταξύ αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσυσταλτικών παραγόντων. Επίσης καταγράφονται οι συνέπειες της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. *Nuro Vital Online, Internet-Medline 2005*

Coverting Enzyme) και του ECE (Endothelin Covering Enzyme) που δημιουργούν τις ενεργούς μορφές της αγγειοτασίνης II και της ενδοθηλίνης-1 (4,14-18).

Ιδιαίτερα η υπερχοληστερολαιμία ανατρέπει μέσω πολύπλοκων μηχανισμών την υφιστάμενη ισορροπία μεταξύ αγγειοδιασταλτικού NO και της αγγειοσυσταλτικής ενδοθηλίνης-1. Η οξείδωση της LDL προς oxLDL φαίνεται ότι αποτελεί και το κομβικό σημείο για την ανάπτυξη της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (6).

Το πρώτο σημάδι αρτηριοσκλήρυνσης εμφανίζεται με τη μορφή λιπωδών ραβδώσεων. Αυτό οφείλεται στο σχηματισμό ενός ετεροτριμερούς συμπλόκου "πρωτεογλυκάνης θειικής ηπαράνης- LDL - Ca<sup>2+</sup>" στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και το υπενδοενδοθηλιακό στρώμα. Οι αλλοιώσεις αυτές δεν οδηγούν υποχρεωτικά σε αθηρωμάτωση. Είναι όμως θέμα χρόνου και παρουσίας ελεύθερων οξειδωτικών ριζών η οξείδωση ή η ακετυλίωση των LDL. Παράλληλα, η αυξημένη παρουσία του Ca<sup>2+</sup> και η παγίδευσή του κοντά στους μη ειδικούς διαύλους Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> μπορεί να οδηγήσει σε ελαττωμένη είσοδο Ca<sup>2+</sup> στο ενδοθηλιακό κύτταρο και σε μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του ιόντος αυτού, με αποτέλεσμα την αδυναμία ενεργοποίησης της eNOS (endothelial NO Synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO) που οδηγεί σε ελαττωμένη παραγωγή NO και την αύξηση του αγγειακού τόνου. Με την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης και την επιδείνωση της δυσλειτουργίας του

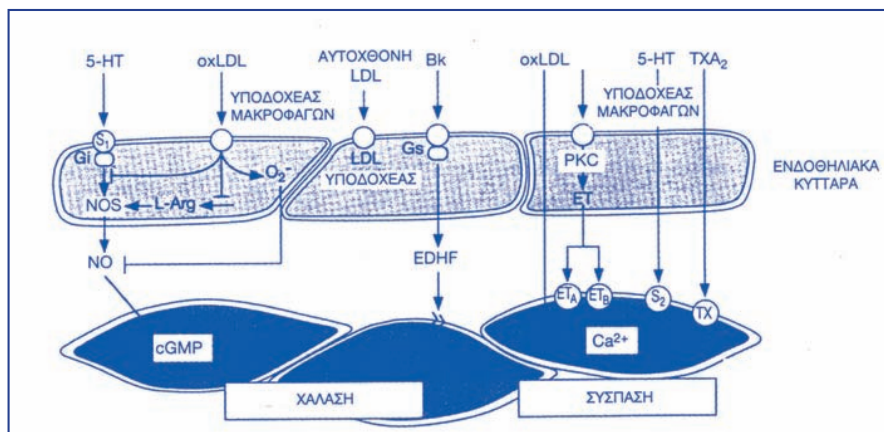
ενδοθηλίου επέρχεται προοδευτικά περαιτέρω ελάττωση της παραγωγής αγγειοδιασταλτικών ουσιών, μεταξύ των οποίων και του NO (19-21).

Η ελάττωση του συντιθέμενου NO δεν οφείλεται μόνο στον παραπάνω αναφερθέντα μηχανισμό, αλλά γίνεται μέσω του συνδυασμού πολλαπλών μηχανισμών. Η λιποπρωτεΐνη LDL αναστέλλει τη γονιδιακή έκφραση της NOS. Οι oxLDL επηρεάζουν αρνητικά τα επίπεδα της sGC (soluble Guanylate Cyclase: διαλυτή γουανυλοκυκλάση) και με το μηχανισμό αυτό περιορίζουν το υπόστρωμα δράσης του NO, ενώ παράλληλα αυξάνουν την ευαισθησία των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος στις αγγειοσυσπαστικές ουσίες. Παράλληλα, τόσο η LDL όσο και η oxLDL αποτελούν τραυματιογόνα αίτια για το ενδοθήλιο και αναστέλλουν την απελευθέρωση τόσο του NO όσο και του παράγοντα EDHF. Η μετατροπή του NO σε υπεροξεινιτρική ρίζα αποτελεί μια επιπλέον αιτία. Τέλος, φαίνεται να συνυπάρχουν ανεπάρκεια του υποστρώματος και προβληματικός μεταβολισμός της L-αργινίνης. Η ανεπάρκεια του υποστρώματος οφείλεται στο γεγονός ότι επί ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας κυκλοφορεί ένα τροποποιημένο αμινοξύ, το οποίο αποκαλείται ADMA (Asymmetric Dimethylarginine: Ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη) που ανταγωνίζεται τη δράση της L-αργινίνης και κατ'επέκταση και τη σύνθεση του NO (22).

Παράλληλα, παρατηρείται αυξημένη σύνθεση και δράση της ενδοθηλίνης-1. Πιστεύεται ότι η λιποπρωτεΐνη LDL προάγει τη γονιδιακή έκφραση της ενδοθηλίνης-1. Η έκφραση της ενδοθηλίνης προάγεται επίσης από τη νοραδρεναλίνη, την αγγειοτασίνη II, τη θρομβίνη, τις φλεγμονογόνους κυταροκίνες TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α: Νεκρωτικός αυξητικός παράγοντας-α) και ιντερλευκίνες-1 και 2 (IL-1, IL-2), και, τέλος, από τον παράγοντα TGF-β (Transforming Growth Factor-β: Μετατρεπτικός των Όγκων Παράγοντας-β). Πρόκειται για φλεγμονογόνους παράγοντες οι οποίοι αναπτύσσουν δράση κατά την αθηρωμάτωση, η οποία είναι πλέον γενικά αποδεκτό ότι αποτελεί μια τυπική φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος. Ανάλογη αυξημένη έκφραση της ενδοθηλίνης-1 παρατηρείται και επί υποξίας, κατάστασης η οποία είναι μία από τις συνέπειες της αθηρωμάτωσης. Η ET-1 πιστεύεται ότι συμμετέχει στην όλη παθολογία της νόσου εξαιτίας των αγγειοσυσπαστικών και υπερπλαστικών ενεργειών που ασκεί στο αγγειακό τοίχωμα. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα στις περιπτώσεις αυτές παρουσιάζουν αύξηση του mRNA που μεταφέρει τον κώδικα προς τα ριβοσωμάτια για τη σύνθεση της ET-1 (23,24).

Στα αθηρωματικά στεφανιαία αγγεία, παράλληλα με την ελάττωση των συντιθέμενων NO και PGI<sub>2</sub> και την αύξηση, αντίστοιχα, της ET-1, έχει διαπιστωθεί η αυξημένη έκφραση της ουροτασίνης II (urotensin II) στις περιοχές των αθηρωματικών πλακών που διηθούνται από τα μακροφάγα. Πιστεύεται ότι η ουροτασίνη II δρα στους UT-υποδοχείς των λείων μυϊκών ινών οι οποίοι ανήκουν στην κατηγορία των GPCR-υποδοχέων, στους οποίους έχει γίνει εκτενής





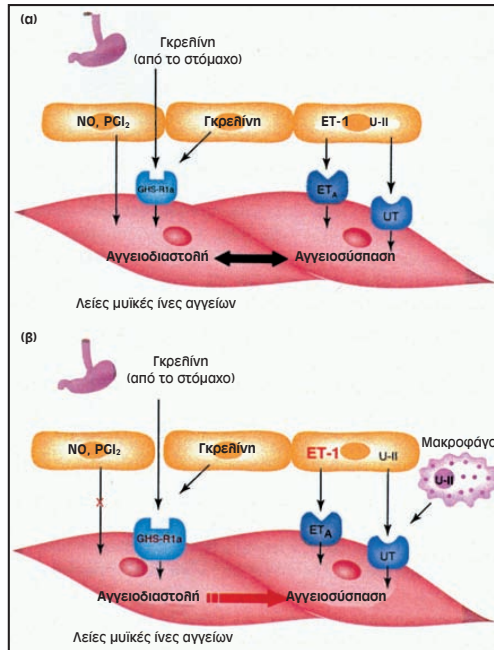
**Εικόνα 14.5: Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου επί υπερλιπιδαιμίας και αθηροσκλήρωσης.** Η oxLDL (οξειδωθείσα LDL) διεγείρει τους υποδοχείς των μακροφάγων, επηρεάζει αρνητικά τη σύνθεση του οξειδίου του αζώτου (NO) και διεγείρει τη σύνθεση της ενδοθηλίνης-1 (ET-1). Το αποτέλεσμα είναι η περισυσοχη των αγγειοσυσπαστικών ουσιών έναντι των αγγειοδιασταλτικών. Όπου 5-HT (5-hydroxytryptamine:5-υδροξυτρυπταμίνη), S<sub>1</sub> και S<sub>2</sub> (υποδοχείς της 5-υδροξυτρυπταμίνης), G<sub>i</sub> (G<sub>i</sub>-protein: G<sub>i</sub>-πρωτεΐνη) eNOS (endothelial NO Synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO), L-Arg. (L-Arginine:L-αργινίνη), G<sub>s</sub> (G<sub>s</sub>-protein: G<sub>s</sub>-πρωτεΐνη), PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C), ET<sub>A</sub> και ET<sub>B</sub> (υποδοχείς της ενδοθηλίνης-1), TX (υποδοχέας της θρομβοξανθίνης). *Clin. Cardiol.* 20(Suppl.II), 1997

αναφορά σε άλλα κεφάλαια, και επιτείνει την αγγειοσύσπαση. Αντίθετα, η έκφραση των υποδοχέων της ισχυρά αγγειοδιασταλτικής γκρελίνης είναι πλειορυθμισμένη και πιστεύεται ότι αυτός είναι ένας αντιρροπιστικός μηχανισμός έναντι τόσο της ET-1 όσο και της ουροτασίνης II (19,25).

Οι τοπικά παραγόμενοι EDRFs, στους οποίους έχει ήδη γίνει αναφορά, από υγιείς νησίδες του ενδοθηλίου έχουν τη δυνατότητα να ασκούν αγγειοπροστατευτική δράση, καθώς η υπερπόλωση την οποία προκαλούν μεταφέρεται τόσο ακτινωτά προς τα βαθύτερα στρώματα του μυϊκού τοιχώματος όσο και κατά μήκος αυτού με διαδρομή προς τα απομακρυσμένα αγγεία, όπου το ενδοθήλιο είναι κατεστραμμένο, διεγείροντας και στα σημεία αυτά την αγγειοδιαστολή (26).

Ως γνωστόν, οι EDRFs πέρα από την αγγειοδιασταλτική τους δράση ασκούν και αντιφλεγμονώδεις δράσεις δρώντας ανασταλτικά στους μηχανισμούς της αθηρωμάτωσης, ενώ διατηρούν την αιματική ροή, ιδιαίτερα στα στεφανιαία, κατά το οξειδωτικό στρες (26).

Αντίθετα, το παραγόμενο από τις υγιείς νησίδες του ενδοθηλίου NO δρα τοπικά και αδυνατεί να μεταφερθεί σε απομακρυσμένα αγγεία. Υπάρχει, όμως, και η άποψη ότι σε καταστάσεις δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου ή ανεπαρκούς δράσης της eNOS, η αιμοσφαιρίνη μπορεί να φορτωθεί με NO το οποίο είτε πα-



**Εικόνα 14.6:** Δυνητική συμβολή της γκρελίνης και της ουροτασίνης II στον αγγειακό τόνο. (α) **Υγιείς αρτηρίες.** Αγγειοδιασταλτική δράση ασκούν το οξείδιο του αζώτου (NO), η προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>) και η γκρελίνη και αγγειοσυσπαστική η ενδοθηλίνη-1 (ET-1) και η ουροτασίνη II (U-II). (β) **Αθηρωματικές αρτηρίες.** Οι ισορροπίες αυτές ανατρέπονται σε βάρος των αγγειοδιασταλτικών ουσιών.

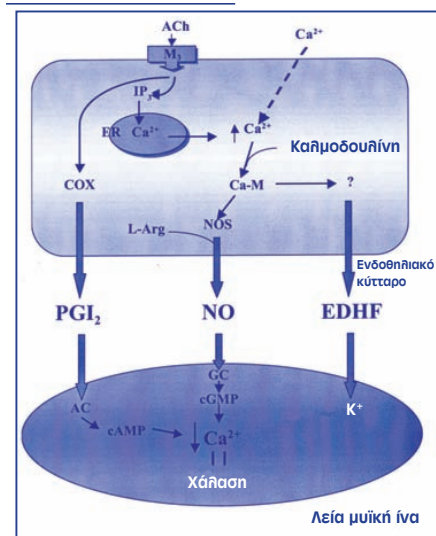
*Trends Pharmacol. Sci.* 26,2005

ράγεται από τις παραπάνω αναφερθείσες υγιείς νησίδες του ενδοθηλίου είτε εισπνέεται ή είναι προϊόν επαγωγής της iNOS (inducible NO synthase: επαγόμενη συνθετάση του NO). Στις περιπτώσεις αυτές η αιμοσφαιρίνη μεταφέρει το NO σχηματίζοντας τη S-νιτροζοαιμοσφαιρίνη. Στη συνέχεια και καθώς η αιμοσφαιρίνη αποδίδει το οξυγόνο στους ιστούς, η δέσμευση του NO αποσταθεροποιείται και αυτό αποδίδεται στο αγγειακό τοίχωμα μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς. Με τον τρόπο αυτό η αιμοσφαιρίνη φαίνεται να ασκεί προστατευτικό ρόλο (27).

Υπάρχει, βέβαια, και η άποψη ότι το NO μπορεί μεν να μεταφέρεται από την αιμοσφαιρίνη, ωστόσο και στην περίπτωση αυτή οι αυξημένες ρίζες οξυγόνου το αδραντοποιούν μετατρέποντάς το σε υπεροξεινιτρική ρίζα (26).

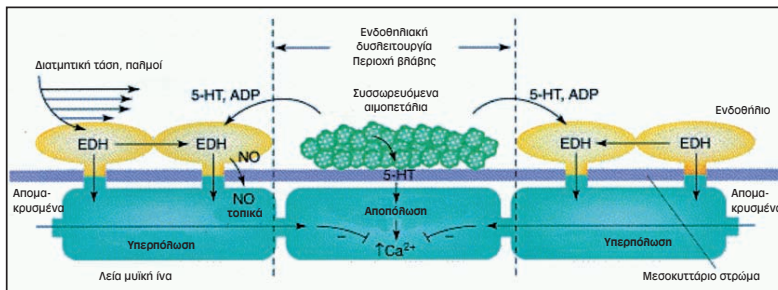
### Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία από τις συνέπειες της αθηρωμάτωσης

Η υπερπλασία του αγγειακού τοιχώματος και η δυσλειτουργία του εναπομεί-



**Εικόνα 14.7: Ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή.** Από τους τρεις αγγειοδιασταλτικούς και αγγειοπροστατευτικούς παράγοντες που συντίθενται από το ενδοθηλιακό κύτταρο, δηλαδή την προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>) το οξείδιο του αζώτου (NO) και τον υπερπολωτικό παράγοντα, μόνο ο τελευταίος εξακολουθεί να ασκεί προστατευτικό ρόλο σε καταστάσεις δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου από αίτια όπως είναι η αθηρωμάτωση.

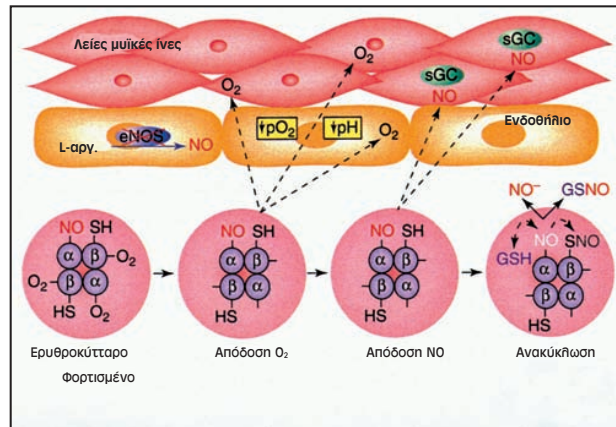
*Medicina 39, 2003*



**Εικόνα 14.8: Προτεινόμενοι τοπικοί και απομακρυσμένοι μηχανισμοί αγγειοπροστασίας από τους υπερπολωτικούς παράγοντες του ενδοθηλίου.**

Τα αιμοπετάλια τα οποία προσκολλώνται στην περιοχή της βλάβης του ενδοθηλίου απελευθερώνουν την 5-υδροξυτρυπταμίνη (5-HT) και τη διφωσφορική αδενοσίνη (ADP: Adenosine Diphosphate), την ισταμίνη και τον αυξητικό παράγοντα PDGF (Platelet Derived Growth Factor: Αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων) και προάγουν, μεταξύ άλλων, τη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος. Το παραγόμενο από ορισμένους από τους παράγοντες αυτούς (5-HT, ADP) καθώς και από τη διατμητική τάση οξείδιο του αζώτου (NO) δρα μόνο τοπικά ως αγγειοδιασταλτικός και αντιαιμοπεταλιακός παράγοντας. Αντίθετα, το υπερπολωτικό ρεύμα που δημιουργείται από το ενδοθήλιο (EDH: Endothelium Derived Hyperpolarization) υπό την επίδραση ανάλογων παραγόντων, μπορεί και δρα ανασταλτικά τόσο τοπικά όσο και απομακρυσμένα, κατά συνέχεια του μυϊκού τοιχώματος.

*Trends Pharmacol. Sci. 23, 2002*



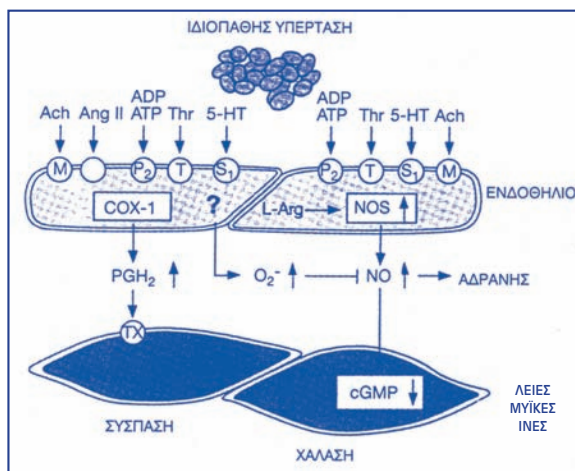
**Εικόνα 14.9:** Προτεινόμενοι μηχανισμοί απόδοσης του οξειδίου του αζώτου από την αιμοσφαιρίνη σε παθολογικές καταστάσεις. Σε καταστάσεις δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου ή ανεπαρκούς δράσης της eNOS (endothelial NO synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO), η αιμοσφαιρίνη (Hb) μπορεί να φορτωθεί με οξειδίου του αζώτου (NO) είτε γιατί αυτό παράγεται από υγιείς νησίδες του ενδοθηλίου είτε γιατί αυτό εισπνέεται ή γιατί συντίθεται λόγω επαγωγής της iNOS (inducible NO synthase: επαγόμενη συνθετάση του NO). Κατά τη φάση εξισορρόπησης, το NO προάγει την απόδοση του οξυγόνου στους ιστούς, πλην όμως η απόδοση του οξυγόνου αποσταθεροποιεί το νιτροζύλιο του σιδήρου, με τη μορφή του οποίου μεταφέρεται το NO, και προάγει την απόδοση και του NO. Ο μηχανισμός αυτός είναι αντιρροποστικός αλλά αμφιβόλου λειτουργικής απόδοσης, γιατί αφενός επιτρέπει την ανακύκλωση της Hb και την απαλλαγή του ερυθρού αιμοσφαιρίου από το NO, καθώς αποσταθεροποιεί το νιτροζύλιο του σιδήρου, αφετέρου επανακατευθύνει το NO προς το αγγειακό τοίχωμα. Όπου GSNO (S-nitrosoglutathione: S-νιτροζυλογλουταθειόνη), α (α-Globin: α-σφαιρίνη), β (β-Globin: β-σφαιρίνη), sGC (soluble Guanylyl Cyclase: διαλυτή γουανυλοκυκλάση).

*Trends Pharmacol. Sci 23, 2002*

ναντος ενδοθηλίου είναι οι βασικοί παράγοντες που αυξάνουν τον τόνο και τη δυσκαμψία του αγγειακού τοιχώματος κατά την αθηρωμάτωση. Είναι όμως και οι βασικοί παράγοντες για την ανάπτυξη της αρτηριακής υπέρτασης.

Η αύξηση της αρτηριακής πίεσης επηρεάζει δυσμενώς την παραγωγή ενδοθηλιογενών αγγειοδιασταλτικών παραγόντων όπως είναι η  $PGI_2$ , το NO και ο EDHF. Η αύξηση της υδροστατικής πίεσης, μέσω των τασεοεξαρτώμενων μηχανισμών, αφενός μειώνει τη σύνθεση της  $PGI_2$  και του NO, αφετέρου διεγείρει την παραγωγή οξειδωτικών ριζών. Ειδικότερα η αύξηση της υδροστατικής πίεσης και της τάσης αίρει τη φυσιολογική υπερπόλωση του ενδοθηλιακού κυττάρου και μειώνει την είσοδο του  $Ca^{2+}$  που είναι απαραίτητο για την ενεργοποίηση του ενδοθηλιακού κυττάρου.

Στα υπερτασικά άτομα υπάρχει μια συνολικά σε όλο το σώμα μειωμένη παραγωγή NO και μειωμένη ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή. Το σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης (RAA) που παρουσιάζει αυξημένη δραστηριότητα σε πολλές περιπτώσεις υπερτάσεων, πέραν των άμεσων



**Εικόνα 14.10: Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου επί υπερτάσεως.** Η διέγερση της κυκλοοξυγενάσης (COX:Cyclooxygenase) από την ακετυλοχολίνη (ach:acetylcholine) μέσω των M-υποδοχέων, από την αγγειοτασίνη II (Ang.II: Angiotensin), από τις ATP (Adenosine Triphosphate:Τριφωσφορική αδενοσίνη) και ADP (Adenosine Diphosphate:Διφωσφορική αδενοσίνη) μέσω των P<sub>2</sub>-υποδοχέων (Purinergetic:πουρινεργικοί), από τη θρομβίνη (Thr: Thrombin) μέσω των T-υποδοχέων και από την 5-υδροξυτρυπταμίνη (5-HT: 5-hydroxytryptamine) μέσω των S<sub>1</sub>-υποδοχέων δεν προάγει μέσω του ενζύμου αυτού τη σύνθεση της αγγειοδιασταλτικής προστακυκλίνης αλλά τη σύνθεση της προσταγλανδίνης H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>: Prostaglandin H<sub>2</sub>) η οποία συσπά τις λείες μυϊκές ίνες μέσω των υποδοχέων TX της θρομβοξανθίνης. Παράλληλα, υπάρχει υστέρηση του διεγερτικού αποτελέσματος των ATP, ADP, Thr, 5-HT και ach επί της eNOS (endothelial NO Synthase: ενδοθηλιακή συνθετάση του NO) που από την L-αργινίνη (L-Arg.: L-Arginine) σχηματίζει το αγγειοδιασταλτικό οξειδίο του αζώτου (NO). Επίσης, η αυξημένη σύνθεση οξειδωτικών ριζών (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) έχει ως αποτέλεσμα την εξουδετέρωση του περιορισμένης σύνθεσης οξειδίου του αζώτου (NO). Το αποτέλεσμα είναι να υπερσχύουν οι αγγειοσυσπαστικές ουσίες που επιτείνουν την αύξηση της αρτηριακής πίεσης. *Clin. Cardiol. 20(Suppl.II), 1997*

αγγειοσυσπαστικών δράσεων που ασκεί, διεγείρει την παραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος καθώς αυξάνει τόσο την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί τη NADPH όσο και την ενεργότητα της οξειδάσης της NADPH. Το υπεροξειδικό ανιόν εξουδετερώνει το NO μετατρέποντάς το σε υπεροξεινιτρική ρίζα. Επίσης, η υπεροξεινιτρική ρίζα εξουδετερώνει με τη σειρά της την τετραϋδροπτερίνη, η οποία αποτελεί βασικό συμπάραγοντα σύνθεσης του NO. Παράλληλα, το ίδιο το σύστημα RAA αυξάνει τη σύνθεση της ενδοθηλίνης στο αγγειακό επίπεδο (28,29).

Το οξειδωτικό στρες το οποίο παίζει επίσης σπουδαίο ρόλο στην παθογένεια της υπέρτασης, προάγει την ελάττωση της ενδοθηλιακής διαθεσιμότητας του NO μέσω της εξουδετέρωσής του από τις οξειδωτικές ρίζες. Παράλληλα, οι μηχανισμοί διάνοιξης των διαύλων του K<sup>+</sup> και του Ca<sup>2+</sup> που εξαρτώνται από το ασβέστιο και είναι απαραίτητοι για τη δράση του υποπολωτικού παράγο-

να EDHF δεν λειτουργούν επαρκώς στα υπέρτασικά άτομα. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία διότι εξουδετερώνεται ένας αντισταθμιστικός παράγοντας στην έλλειψη του NO (30).

Οι οξειδωτικές ρίζες αναστέλλουν, επίσης, τη σύνθεση της PGI<sub>2</sub> με αποτέλεσμα να εκκρίνεται η αγγειοσυσπαστική και προθρομβωτική PGH<sub>2</sub> που αποτελεί προβαθμίδα της PGI<sub>2</sub>. Επίσης, συντίθεται μέσω παρακαμπτικών βιοχημικών οδών και η θρομβοξάνη (TXA<sub>2</sub>) η οποία απελευθερώνεται και ασκεί και αυτή με τη σειρά της αγγειοσυσπαστικές και ισχυρές προθρομβωτικές δράσεις. Επιπρόσθετα, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αντιδρούν με το NO, το οποίο εξουδετερώνουν. Τέλος, οι ίδιες οι οξειδωτικές ρίζες καθώς ενεργούν αυτοκρινώς και παρακρινώς στα ενδοθηλιακά κύτταρα διεγείρουν τη σύνθεση και την έκκριση των παραγόντων που εκφράζουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και η ενδοθηλίνη. Τέλος, οι οξειδωτικές ρίζες και ιδιαίτερα το υπεροξειδικό ανιόν επιτείνουν τη διέγερση των αιμοπεταλίων (31-35).

Αποτελέσματα όλων αυτών των μηχανισμών είναι η περαιτέρω αύξηση του αγγειακού τόνου, η μείωση της ικανότητας χαλιναγώγησης των αγγειοσυσπαστικών ερεθισμάτων, η μειονεξία των μηχανισμών αναστολής της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και η δημιουργία ενός φαύλου κύκλου.

Τόσο η αθηρωμάτωση των στεφανιαίων όσο και αυτή καθαυτή η υπέρταση οδηγούν, αν δεν αντιμετωπισθούν, στην καρδιακή ανεπάρκεια. Επί καρδιακής ανεπάρκειας αναπτύσσεται επίσης ενδοθηλιακή δυσλειτουργία ή επιδεινώνεται η υπάρχουσα μέσω τριών επιπρόσθετων μηχανισμών (31-37).

Ο πρώτος αναπτυσσόμενος μηχανισμός οφείλεται στη διακοπή λειτουργίας των διαύλων του K<sup>+</sup> στις αρτηρίες, η οποία είναι αποτέλεσμα της ελαττωμένης τριβής του αίματος λόγω μειωμένης καρδιακής παροχής. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε άρση της υπερπόλωσης στα ενδοθηλιακά κύτταρα με συνέπεια την ελάττωση της εισόδου του Ca<sup>2+</sup> γιατί σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει στα άλλα κύτταρα, οι διαύλοι αυτοί του Ca<sup>2+</sup> στα ενδοθηλιακά κύτταρα ανοίγουν σε φάση υπερπόλωσης. Η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup> είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των ενζύμων που προάγουν τη σύνθεση της προστακυκλίνης (PGI<sub>2</sub>) και του NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ως εκ τούτου, μένει χωρίς ανταγωνισμό η σύνθεση και η έκκριση ενδοθηλίνης-1.

Ο δεύτερος μηχανισμός που αναπτύσσεται οφείλεται στην αύξηση της φλεβικής πίεσης η οποία διατείνει τα ενδοθηλιακά κύτταρα και προάγει την παραγωγή ελεύθερων οξειδωτικών ριζών με όλες τις γνωστές και ήδη αναπτυχθείσες συνέπειες, ενώ συγχρόνως διεγείρει την παραγωγή και απελευθέρωση της ET-1.

Τέλος, ο τρίτος μηχανισμός αφορά την κινητοποίηση του άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης λόγω της νεφρικής ισχαιμίας με όλες τις γνωστές συνέπειες. Μεταξύ αυτών, η συντιθέμενη αγγειοτασίνη II προάγει τη σύνθεση της ενδοθηλίνης-1. Επίσης, η αγγειοτασίνη II διεγείρει τη σύνθεση και έκκριση

του χημειοτακτικού παράγοντα PAF (Platelet Activating Factor: Ενεργοποιητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων).

### Λειτουργικές και δομικές διαταραχές

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου οδηγεί σε αγγειοσύσπαση, σε αλλοιώσεις της υφής του αγγειακού τοιχώματος και αυξημένη θρομβογεννητικότητα. Οι μεταβολές στη σύνθεση των διαφόρων ενδοθηλιακών παραγόντων συνοδεύονται, προϋπόθεση της δυσλειτουργίας από μεταβολές των αντίστοιχων mRNA (14,38).

Όσον αφορά τον αγγειακό τόνο, η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου χαρακτηρίζεται από διαταραχή της ισορροπίας των από το ενδοθήλιο συντιθεμένων αγγειοδραστικών ουσιών εις βάρος των αγγειοδιασταλτικών. Η αύξηση της κυκλοφορούσης ενδοθηλίνης-1 αποτελεί αξιόπιστο δείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Οι λειτουργικές αυτές διαταραχές αναπτύχθηκαν ήδη επαρκώς (39).

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου ακολουθείται από δομικές αλλοιώσεις του αγγειακού τοιχώματος που επηρεάζουν δυσμενώς τον αγγειακό τόνο. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το ενδοθήλιο αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών της μέσης στιβάδας. Καθώς το ενδοθήλιο αρχίζει να δυσλειτουργεί, παρατηρείται μια αθρόα σύνθεση μορίων προσκόλλησης στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων που επάγεται από την ενδοθηλίνη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να προσκολλώνται σε αυτήν φαγοκύτταρα και να ενεργοποιούνται. Τα τελευταία συνθέτουν και απελευθερώνουν οξειδωτικές ρίζες και φλεγμονογόνες κυτταροκίνες όπως είναι ο παράγοντας TNF-α ο οποίος προάγει την απόπτωση. Παράλληλα τόσο τα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και τα αιμοπετάλια που προσκολλώνται στις περιοχές που το ενδοθήλιο έχει καταστραφεί συνθέτουν και απελευθερώνουν διάφορους αυξητικούς παράγοντες όπως η αγγειοτασίνη-II, ο bFGF (basic Fibroblastic Growth Factor: βασικός ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας) και ο PDGF (Platelet Derived Growth Factor: Αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων). Οι διαδικασίες αυτές, μη αναστελλόμενες από υγιές ενδοθήλιο, οδηγούν σε υπερπλασία τις λείες μυϊκές ίνες του μέσου χιτώνα που διαφοροποιούνται, μεταναστεύουν στον μέσο χιτώνα και μετατρέπονται σε φαγοκύτταρα που συμμετέχουν στη δόμηση των αθηρωματικών πλακών. Συνυπάρχει, ως εκ τούτου, μια αλληλουχία φαινομένων απόπτωσης και υπερπλασίας διαφόρων στοιχείων του αγγειακού τοιχώματος που οδηγεί σε πάχυνση και αλλοίωση της δομής του τελευταίου (38-40).

Η προϊούσα ανεξέλεγκτη αύξηση των αυξητικών παραγόντων επί ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας παράλληλα με τα αποπτωτικά φαινόμενα προάγουν την αναδιαμόρφωση (remodeling) του αγγειακού τοιχώματος, την υπερτροφία αυτού, την αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων, την αύξηση της καρδιακής υστεροφόρτισης και τη μείωση εν γένει της καρδιακής και ιστικής άρδευσης (38-40).

## Φάρμακα

Οι φαρμακολογικοί παράγοντες που υποβοηθούν την ορθή λειτουργία του ενδοθηλίου περιλαμβάνουν τους αποκλειστές διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$ , τους αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης, τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα και τα αντιοξειδωτικά φάρμακα (41).

Η υπολιπιδαιμική αγωγή έχει ευνοϊκά αποτελέσματα στη λειτουργία του ενδοθηλίου. Οι στατίνες βελτιώνουν τη λειτουργία του ενδοθηλίου και αυξάνουν τη σύνθεση του NO. Δεν είναι, όμως, γνωστό αν πρόκειται για άμεσες ενέργειες ή για έμμεσες λόγω πτώσης των επιπέδων της LDL. Είναι γνωστό ότι οι στατίνες πέρα από τις υπολιπιδαιμικές ενέργειές τους έχουν και δράσεις αντιφλεγμονώδεις, αντιαιμοπεταλιακές αλλά και διεγερτικές στη γονιδιακή έκφραση της NOS. Μειονέκτημά τους που πρέπει να συνεκτιμάται είναι η αρνητική τους δράση στα αναγωγικά συστήματα του οργανισμού. Εντούτοις, οι πλειοτροπικές δράσεις των στατινών διαφέρουν μεταξύ τους και δεν έχουν πλήρως διευκρινισθεί. Ως εκ τούτου, η επιλογή μιας στατίνης δεν είναι δυνατόν επί του παρόντος να βασίζεται στις παραπάνω πλειοτροπικές δράσεις (41-43).

Το μηχανικό ερέθισμα το οποίο προκαλείται από την αυξημένη αρτηριακή πίεση επάγει τη σύνθεση του MEA στους διάφορους χιτώνες του αγγειακού τοιχώματος με αποτέλεσμα την αυξημένη σύνθεση της αγγειοσυσπαστικής αγγειοτασίνης II και την αυξημένη αποδόμηση της αγγειοδιασταλτικής βραδυκινίνης. Οι αναστολείς του MEA βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία σε ασθενείς με στεφανιαία ανεπάρκεια, ενώ ορισμένα από τα παράγωγα αυτά διεγείρουν και τη γονιδιακή έκφραση της eNOS (41,44,45).

Οι αποκλειστές των διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  πέρα από την αγγειοδιασταλτική τους δράση, καθώς αποκλείουν τους τύπου L-διαύλους στις λείες μυϊκές ίνες, έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία επί υπερτάσεως, μάλιστα παρά το γεγονός ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα στερούνται των διαύλων αυτών. Τούτο αποδίδεται στις άλλες ευεργετικές δράσεις των φαρμάκων αυτών όπως είναι η μείωση της οξειδωσης των φωσφολιπιδίων των LDL, η μείωση της χημειοταξίας των μακροφάγων και της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα, η αναστολή της διέγερσης των αιμοπεταλίων, η μείωση της σύνθεσης του αναστολέα του πλασμινογόνου PAI και η αύξηση του αριθμού των υποδοχέων της LDL, γεγονός που συνεπάγεται την αυξημένη δέσμευση των λιποπρωτεϊνών αυτών και την εστεροποίησή τους. Άξιο, επίσης, αναφοράς είναι το γεγονός του επιτυχούς συνδυασμού των αναστολέων του MEA και των αποκλειστών των διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  (26,41,46).

Η επικράτηση των αγγειοσυσπαστικών παραγόντων κατά την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία προάγει, μεταξύ άλλων, και την αύξηση του  $\text{Ca}^{2+}$  στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος. Η αύξηση του ιόντος αυτού συμβάλλει στον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών κατά την



εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Η ευεργετική δράση των φαρμάκων αποκλειστών του  $Ca^{2+}$  στην ελάττωση της θνητότητας που σχετίζεται με την αθηρωμάτωση οφείλεται εν μέρει και στην ικανότητα των φαρμάκων αυτών να ελαττώνουν την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του  $Ca^{2+}$  στις λείες μυϊκές ίνες και κατά συνέπεια και τις παραπάνω περιγραφείσες επιπτώσεις (26,41,46).

Διάφορες ουσίες όπως η τριμεταζιδίνη και οι σουλφιδρυλικές ενώσεις εμποδίζουν το σχηματισμό των οξειδωτικών ριζών ή τις δεσμεύουν. Φυσικές αναγωγικές ουσίες πιθανόν να έχουν σημασία, όπως ο συνδυασμός βιταμινών C και E, αν και η χορήγησή τους δεν απεδείχθη ευεργετική ένεκα λόγων που χρήζουν διερεύνησης. Ιδιαίτερο ρόλο ενδεχομένως να έχουν οι τελευταίοι παράγοντες κατά τη διάρκεια της υποχοληστερολαιμικής θεραπείας με στατίνες, οι οποίες κατά μη ειδικό τρόπο εξασθενούν γενικότερα τα αναγωγικά συστήματα του οργανισμού. Νεότερης γενιάς β-αδρενεργικοί αποκλειστές, όπως η νεμιβολόλη και η καρβεδιλόλη, παράλληλα, με τον αποκλεισμό των β-υποδοχέων προάγουν την απελευθέρωση του NO, ενώ άλλες, όπως η καρβεδιλόλη, έχουν και αντιοξειδωτικές δράσεις και αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες.

Τέλος, όσον αφορά την έρευνα, παράλληλα με τους μη πεπτιδικούς αποκλειστές των υποδοχέων της ουροτασίνης II οι οποίοι ευρίσκονται σε φάσεις προκλινικών μελετών, το επιζητούμενο είναι η σύνθεση μικρού M.B, αγωνιστών των υποδοχέων της γκρελίνης ή προστασία της γκρελίνης που έχει ενδογενή προέλευση με τη σύνθεση αποκλειστών της πρωτεάσης που τη διασπά. Τέλος, συνεχίζεται η προσπάθεια σύνθεσης εκλεκτικών και κλινικά αποτελεσματικών αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της ενδοθηλίνης-1 (19,25).

Η ανάπτυξη, επίσης, φαρμάκων τα οποία θα δρουν ως εκλεκτικοί ευοδωτές των διαύλων  $K^+_{Ca}$  στα ενδοθηλιακά κύτταρα ή παραγώγων που θα βελτιώνουν την ηλεκτρική αγωγιμότητα μεταξύ των κυττάρων που παράγουν υπερπολωτικούς παράγοντες και των κυττάρων ενεργοποιητών, θα μπορέσει να δώσει λύσεις σε ανάλογες παθολογικές καταστάσεις των αγγείων (26,46).

Διαιτητικά συμπληρώματα με L-αργινίνη ή με πρόδρομες μορφές του αμινοξέος αυτού βελτιώνουν την απόδοση του ενδοθηλίου, όταν αυτό δυσλειτουργεί, ενώ δεν επηρεάζουν την ποσότητα του συντιθέμενου NO, όταν το ενδοθήλιο είναι φυσιολογικό. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η ποσότητα της L-αργινίνης στα φυσιολογικά ενδοθηλιακά κύτταρα είναι επαρκής για τη σύνθεση του NO.

Τα φλαβονοειδή είναι από τις πλέον κοινές ενώσεις φυτικής προέλευσης. Από την άλλη πλευρά, η πυκνογενόλη είναι ένα εκχύλισμα που αποτελείται από ένα μείγμα φλαβονοειδών. Πολλά φλαβονοειδή, όπως και η πυκνογενόλη, έχουν αγγειοδιασταλτικές ενέργειες που εξαρτώνται από το ενδοθήλιο και βελτιώνουν τη μικροκυκλοφορία, διότι ενισχύουν το αγγειακό τοίχωμα. Η πυκνογενόλη έχει επίσης ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες δεσμεύοντας οξειδωτικές ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο και το άζωτο. Παράλληλα,

το εκχύλισμα αυτό ασκεί και αντιφλεγμονώδη δράση μέσω διαφόρων μηχανισμών. Οι παραπάνω ενέργειες της πυκνογενόλης θα μπορούσαν να έχουν κλινική εφαρμογή σε παθήσεις του καρδιαγγειακού συστήματος που σχετίζονται με χρόνια φλεγμονή. Η αρτηριοσκλήρυνση ανήκει σε αυτές και ο ρόλος της στην ανάπτυξη της υπέρτασης είναι γνωστός (47).

Τα τελευταία χρόνια η επιστημονική κοινότητα έχει στρέψει την προσοχή της στις ευεργετικές ιδιότητες των ω-3-λιπαρών οξέων. Ήταν από παλαιά γνωστό ότι η διατροφή με ψάρια είχε ευεργετικές επιπτώσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα. Η παρουσία των λιπαρών αυτών οξέων στα ψάρια επιβεβαίωσε τις απόψεις αυτές. Τα ω-3-λιπαρά οξέα βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία διεγείροντας τη σύνθεση του NO, αυξάνοντας τα επίπεδα της λιποπρωτεΐνης HDL και ελαττώνοντας τα αντίστοιχα της λιποπρωτεΐνης LDL, καθώς και των τριγλυκεριδίων. Επιπλέον έχει ευρεθεί ότι ελαττώνουν την παραγωγή των ελεύθερων οξειδωτικών ριζών και άλλων φλεγμονογόνων παραγόντων. Η ποσότητα των ω-3-λιπαρών οξέων ποικίλλει από είδος σε είδος ψαριού· το κυριότερο από τα λιπαρά αυτά οξέα είναι το δοκοσαεξαενοϊκό οξύ (DHA: Docosahexaenoic acid) (8).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Heines W., Webb D.: Contribution of endogenous generation of endothelial vascular tone. *Lancet* 344:852-854,1994
2. Rubanyi G., Vanhoute P.: Superoxide anions and hypoxia inactivate endothelium derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.* 250:H822-H827,1986
3. Busse R., Edwards G., Feletou M., Fleming I.: EDHF. Bringing the concepts together. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:374-379,2002
4. Simon B., Noll B., Maisch B.: Endothelial dysfunction. Update and clinical implications. *Archives-Herz No1:62-71,1999*
5. Rizvi M., Myers P.: Nitric oxide modulates basal, endothelin induced coronary artery vascular smooth muscle cell proliferation, collagen levels. *J.Mol. Cell Cardiol.* 29:1779-1789,1997
6. Yanagisawa M.: The endothelin system. A new target for therapeutic intervention. *Circulation* 89:1320-1322,1994
7. Stafford R., Becker C.: Cigarette smoking and atherosclerosis. In: Fuster V. et al (eds) "Atherosclerosis and coronary artery disease". Lippincott-raven Publishers, Philadelphia pp 303-321-149,1996
8. Aging of your heart and blood vessels is risky. How to promote and maintain a healthy endothelium. *Health and Age.com, Google-Internet, 2007*
9. Hawkins B., Brown R., Davis T.: Smoking and ischemic stroke. A role for nicotine? *Trends Pharmacol. Sci.* 23:78-82,2002
10. Shochat G., Luchesi M.: Toxicity, carbon monoxide. *Medicine from WebMD, Google-Internet,2007*
11. Durante W., Johnson F., Johnson R.: Role of carbon monoxide in cardiovascular function. *J. Cell Mol. Med.* 10:672-686,2006
12. Aronson D., Rayfield E.: Diabetes and obesity. In: Fuster V. et al (eds) "Atherosclerosis and coronary artery disease". Lippincott-raven Publishers, Philadelphia pp 327-359,1996
13. Localzo J.: The oxidant stress of hyperhomocysteinemia. *J. Clin. Invest.* 98:5-7,1996
14. Smith C., Sun D., Hoegler C., Roth B., Zhang X., Zu X., Kobari Y., Prichard K., Sessa W., Hintze T.: Reduced gene expression of vascular endothelial NO synthase and cyclooxygenase-1 in heart failure. *Circ. Res.* 78:58-64,1996
15. Cooke I.: Nitric oxide synthase. Role in the genesis of vascular disease. *Ann. Rev. Med.* 48:489-509,1997
16. Zeiher A., Drexler H., Wollschlanger H., Just H.: Modulation of coronary vasomotor tone in humans. Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circul.* 89:45-51,1994
17. Harrison D., Freiman P., Amstrong M., Marcus M., Heistad D.: Alterations of vascular reactivity in atherosclerosis. *Circ. Res.* 61:1174-1180,1987
18. Hayakawa H., Raj L.: The link among nitric oxide synthase activity, endothelial

- function, and aortic and ventricular hypertrophy in hypertension. *Hypertension* 29:235-241,1997
19. A. Giumaraes S., Moura D.: Advances in vascular neuroeffector mechanisms. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:90-93,1999
  20. B. Coldring C., Narayan R., Lagadec P., Jeannin J.: Transcriptional inhibition of the inducible nitric oxide synthase gene by competitive binding of NF-κB/Rel proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 216:438-446, 1995
  21. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Π.Κ., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Οξείδιο του αζώτου ή νιτροξειδίο, καρδιαγγειακό σύστημα και φάρμακα: Επιθ. Κλιν. Φαρμακολογίας και Φαρμακοκινητικής. 18:149-162,2000
  22. Chisolm G., Penn M.: Oxidized lipoproteins and atherosclerosis. In: Fuster V. et al (eds) "Atherosclerosis and coronary artery disease". Lippincott-raven Publishers, Philadelphia pp 129-149,1996
  23. Δ. Haynes W, Webb D. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. *J.Hypertension* 1998;16:1081-1098
  24. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Κόκκας Β.: Ενδοθηλίνες και αρτηριακή υπέρταση. *Αρτηριακή υπέρταση.* 8:62-72,1999
  25. Maguire J., Devenport A.: Regulation of vascular reactivity by established and emerging GPCRs. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:448-454,2005
  26. Selemidis S., Cocks t.: Endothelium-dependent hyperpolarization as a remote antiatherogenic mechanism. *Trends Pharmacol. Sci* 23:213-220,2002
  27. Hoobs A., Gladwin M., Patel R., Ly D., Butler W., Butler A.: Heamoglobin. No transporter, No activator or None of the above? *Trends Pharmacol. Sci.* 23:406-411,2002
  28. Moreau P., d Uscio L., Shaw S.: Angiotensin II increases tissue endothelin and induces vascular hypertrophy. Reversal by ET (A)-receptor antagonist. *Circulation* 96:1593-1597,1997
  29. Pacher P., Schulz R., Liaudet L., Szabo C.: Nitrosative stres and pharmacological modulation of heart failure. *Sci.* 26:302-310,2005
  30. Takase H., Moreau P., Kung C.: Antihypertensive therapy prevents endothelial dysfunction in chronic nitric oxide deficiency. Effect of verapamil and trandolapril. *Hypertension* 27:25-30,1996
  31. H. Singh N., dhala A., Seneviraine C., Singal P.: Oxidative stress and heart failure. *Mol. Cell Biochem.* 147:77-81,1995
  32. Θ. Katz S., Krum H., Khan T., Kneth M.: Exercise induced vasodilatation in forearm circulation of normal subjects and patients with congestive heart failure. Role of endothelium derived nitric oxide. *J. Amer. Coll. Angiol.* 28:585-590,1996
  33. I. Schlant R., Sonnenbilick E., Katz A.: Pathophysiology of heart failure. In: Luscher T. (ed) "The endothelium in cardiovascular disease".Springer-Verlag, pp687-726,1995
  34. ΙΑ. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Κόκκας Β: Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επί καρδιακής ανεπάρκειας. *Αρτηριακή Υπέρταση* 6: 76-83,1997

35. IB. Clavell A., Burnett J.: The role of endothelin in congestive heart failure. In: Luscher T. (ed) "The endothelium in cardiovascular disease". Springer-Verlag, Berlin pp33-42,1995
36. ΣΤ. Baker D., VanLenten B., Fogelman A., Edwards P.: LDL scavenger and beta VLDL receptors on aortic endothelial cells. *Arteriosclerosis* 4:357-364,1994
37. Z. Pollman M., Yamada T., Horiuchi M., Gibbons G.: Vasoactive substances regulate vascular smooth muscle cell apoptosis. *Circ. Res.* 79:748-756,1996
38. Παπαδόπουλος Κ., Κόκκας Β.: Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επί καρδιακής ανεπάρκειας. *Αρτηριακή Υπέρταση* 16: 76-83,1997
39. Clavell A., Burnett J.: The role of endothelin in congestive heart failure. In: Luscher T. (ed) "The endothelium in cardiovascular disease". Springer-Verlag, Berlin pp 33-42,1995
40. Pollinan M., Yamada T., Horiuchi M., Cibbons G.: Vasoactive substances regulate vascular smooth muscle cell apoptosis. *Circ. Res.* 79:748-756,1996
41. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Αθηρογένεση, αρτηριοσκλήρωση και δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 13: 33-43,1995
42. Selwyn A., Braunwald E.: Ischemic heart disease. In: Braunwald E. et al (eds) "Harrison's Principles of Internal Medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 1399-1410,2001
43. Mahley R., Bersot T.: Drug therapy for hypercholesterolemia and dyslipidemia. In: Brunton L. (ed) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 933-966,2006
44. Libby P.: Prevention and treatment of atherosclerosis. In: Braunwald E. et al (eds) "Harrison's Principles of Internal Medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 1382-1386,2001
45. Jackson E.: Renin and angiotensin. In: Brunton L. (ed) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 789-821,2006
46. Nayler W.: Review of preclinical data of calcium channel blockers and atherosclerosis. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 33:S57-S11,1999
47. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Ενέργειες των φλαβονοειδών και ιδιαίτερα της πικνογενόλης στο καρδιαγγειακό σύστημα. *Αρτηριακή υπέρταση.* 8:48-54,1999



## ΔΕΚΑΤΟ ΠΕΜΠΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### **ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΕΠΙ ΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ**

Κ. Α. Παπαδόπουλος και Β. Α. Κόκκας

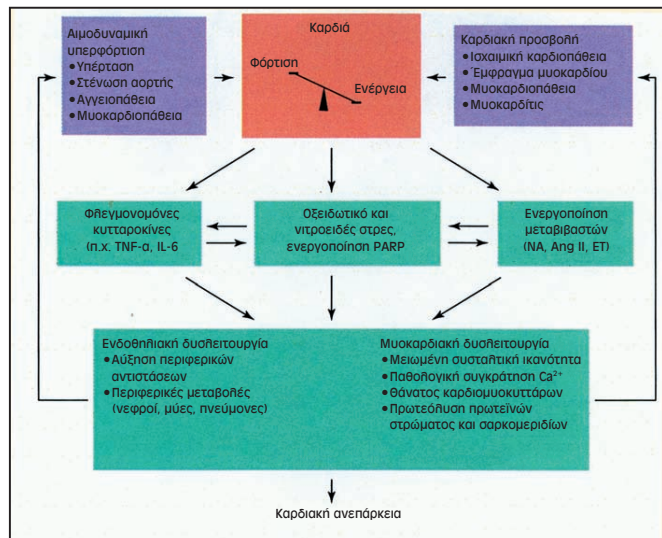
#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

*Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια παρατηρείται διαταραχή της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία παρατηρείται ήδη κατά τα πρώιμα στάδια της καρδιακής ανεπάρκειας και πιστεύεται ότι συμβάλλει στην προοδευτική επιδείνωση της τελευταίας. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου παρουσιάζεται με κύριες εκδηλώσεις την αγγειοσύσπαση, τη θρομβογονιτικότητα, και την αλλοίωση της υφής του αγγείου. Χαρακτηριστική είναι η ελάττωση της σύνθεσης των αγγειοδιασταλτικών παραγόντων και η αυξημένη σύνθεση της αγγειοσυσπαστικής ενδοθηλίνης-1. Η θεραπεία αποσκοπεί στη βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου η οποία θα οδηγήσει σε ελάττωση της θνητότητας από την καρδιακή ανεπάρκεια.*

#### **Εισαγωγή**

Από κλινικής πλευράς, ως καρδιακή ανεπάρκεια θα μπορούσε να χαρακτηριστεί η αδυναμία του καρδιακού μυός να προωθήσει προς την περιφέρεια το αίμα σε ρυθμούς ανάλογους με τις απαιτήσεις των μεταβολιζόντων ιστών και/ή η ανάγκη αυτό να πραγματοποιείται μέσα από έναν ανώμαλα αυξημένο κοιλιακό διαστολικό όγκο (1).

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία παρατηρείται ήδη κατά τα πρώιμα στάδια της καρδιακής ανεπάρκειας και πιστεύεται ότι συμβάλλει στην προοδευτική επιδείνωση της τελευταίας. Σε συμπτώματα παρουσία καρδιακής ανεπάρκειας έχουν διαπιστωθεί βιοχημικοί δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Οι εκδη-



**Εικόνα 15.1: Αίτια καρδιακής ανεπάρκειας.** Καταγράφονται τα αίτια της καρδιακής ανεπάρκειας και οι επιπτώσεις από την πάθηση αυτή, συμπεριλαμβανόμενης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Όπου PPAR {poly (ADP-Ribose) Polymerase 1: Πολύ (ριβοζο-ADP) πολυμεράση 1}, NA (Noradrenaline: Νοραδρεναλίνη), Ang (Angiotensine II: Αγγειοτασίνη II), ET (Endothelin-1: Ενδοθηλίνη-1).

*Trends Pharmacol. Sci.* 26, 2005

λώσεις της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας αυξάνουν με την εμφάνιση και την περαιτέρω επιβάρυνση της καρδιακής ανεπάρκειας. Επί πειραματοζώων έχει τεκμηριωθεί η παρουσία της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας προ των κλινικών εκδηλώσεων της καρδιακής ανεπάρκειας (2-4).

Η πρώιμη επί καρδιακής ανεπάρκειας εκδηλούμενη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία δεν πρέπει να συγχέεται με το συχνό γεγονός ότι πολλές από τις καταστάσεις που προηγούνται της καρδιακής ανεπάρκειας και σχετίζονται αιτιολογικά μεταξύ τους, όπως είναι η υπέρταση, η στεφανιαία νόσος και ο σακχαρώδης διαβήτης, προκαλούν δυσλειτουργία του ενδοθηλίου που θα μπορούσε να συνεργήσει με τους λοιπούς παράγοντες στην πρόκληση της καρδιακής ανεπάρκειας.

Κατά την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας, ο αγγειακός τόνος ρυθμίζεται από την εναλλαγή των επιδράσεων νευροορμονικών μηχανισμών και ενδοθηλιακών παραγόντων και χαρακτηρίζεται από κεντρική και περιφερική αγγειοσύσπαση, όπως επίσης και από την αντίσταση στην από το οξείδιο του αζώτου (NO) προαγόμενη αγγειοδιαστολή (5-10).



## Αγγειοδραστικοί και φλεγμονώδεις παράγοντες κατά την καρδιακή ανεπάρκεια

Η καρδιακή ανεπάρκεια κινητοποιεί πρωϊμότατα διάφορους νευροχυμικούς μηχανισμούς για αντιρροπιστικούς λόγους. Ορισμένοι από τους μηχανισμούς αυτούς οδηγούν στη σύνθεση μεγάλων ποσοτήτων ελεύθερων οξειδωτικών ουσιών στη γειτονιά των ενδοθηλιακών κυττάρων. Στους μηχανισμούς αυτούς περιλαμβάνονται η έκκριση κατεχολαμινών, φλεγμονογόνων κυτταροκινών, όπως είναι ο TNF- $\alpha$  και η ιντερλευκίνη IL-6, αλλά και άλλων κυτταροκινών όπως είναι η ιντερλευκίνη IL-2, και κυκλικών ενδοϋπεροξειδίων, ιδίως δε προσταγλανδίνης PGH<sub>2</sub>. Ακόμη δραστηριοποιείται η παραγωγή άλλων ουσιών όπως είναι η ενδοθηλίνη-1 και η αγγειοτασίνη II, που έχουν ως προορισμό να δρουν όχι μόνον ως αυτοκρινείς ή παρακρινείς αλλά και ως ενδοκρινείς παράγοντες (9,11-15).

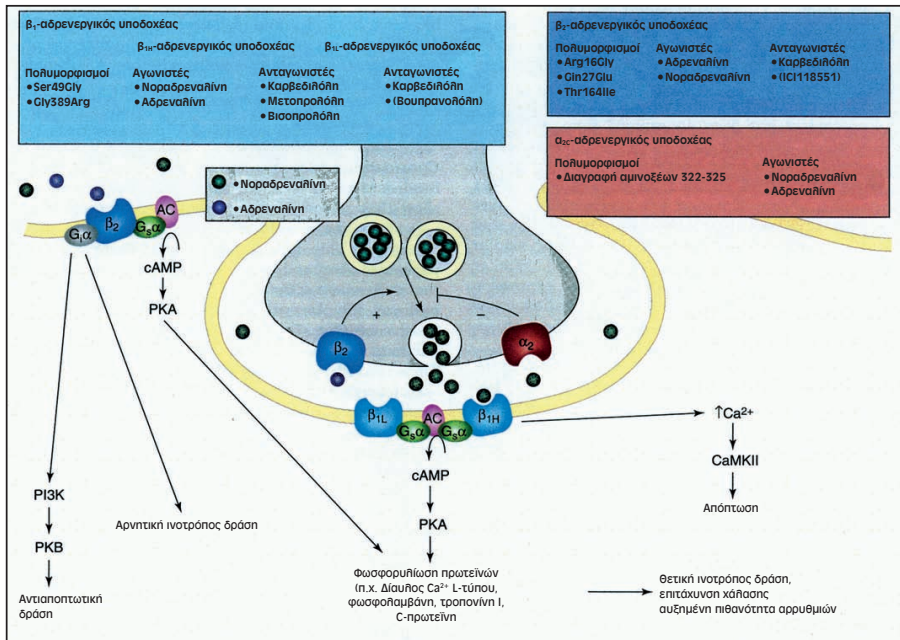
Από πλευράς αγγειοδραστικών μηχανισμών παρατηρείται, μεταξύ άλλων, η διέγερση της απελευθέρωσης των κυκλοφορουσών κατεχολαμινών, η διέγερση του άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης και η αυξημένη σύνθεση και απελευθέρωση της ενδοθηλίνης-1. Αντίθετα, μειώνεται η σύνθεση των ενδοθηλιοεξαρθρώμενων αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, ιδιαίτερα του οξειδίου του αζώτου (NO) (9,15).

Παράλληλα, κινητοποιούνται φλεγμονογόνοι παράγοντες με προεξάρχουσες τις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες TNF- $\alpha$  και ιντερλευκίνη IL-6. Όλοι οι παραπάνω αλληλοδιαπλεκόμενοι παράγοντες μετέχουν της ευθύνης για την προοδευτική επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας.

### Ο ρόλος των κατεχολαμινών

Κατά την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας αυξάνει η δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος καθώς και τα επίπεδα της νοραδρεναλίνης του αίματος, με αποτέλεσμα την έκδηλη ταχυκαρδία και άλλα καρδιοτοξικά προβλήματα που πυροδοτούνται κυρίως μέσω των  $\beta_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων. Από την υπερδιέγερση των  $\beta_1$  αλλά και των  $\beta_2$ -αδρενεργικών υποδοχέων παρατηρείται έλλειψη ελεύθερης ενέργειας λόγω ελαττωμένης ενεργότητας της κρεατινικής φωσφοκινάσης και της βραδείας επαναφωσφορυλίωσης της διφωσφορικής αδενοσίνης (ADP:Adenosine Diphosphate). Βαθμιαία παρατηρείται μια υποβάθμιση της λειτουργίας των  $\beta$ -αδρενεργικών υποδοχέων, ενώ το πρόβλημα του πολυμορφισμού που παρατηρείται στους υποδοχείς αυτούς και σε ορισμένα άτομα επιτείνει πολλές φορές τα προβλήματα. Αντίθετα, οι  $\beta_3$ -αδρενεργικοί υποδοχείς φαίνεται να έχουν αντιρροπιστικό ρόλο (14-16).

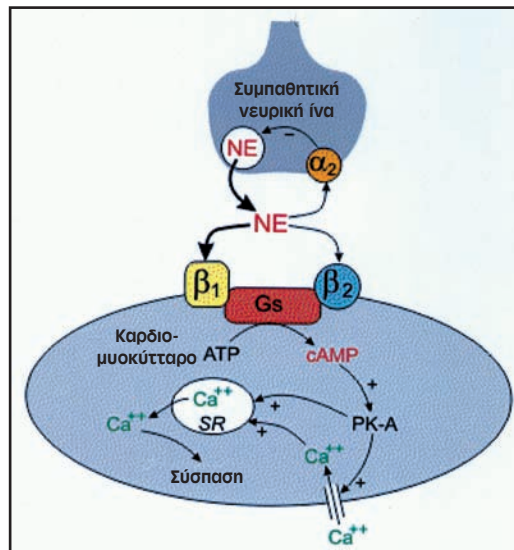
Στο φυσιολογικό μυοκάρδιο, και σε αντίθεση με τους  $\beta_1$ -αδρενεργικούς υποδοχείς οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τη θετική ινότροπη δράση, οι  $\beta_3$



**Εικόνα 15.2: Χαρακτηριστικά της καρδιακής νευρώσης από το συμπαθητικό σύστημα.** Η απελευθέρωση της νοραδρεναλίνης ρυθμίζεται θετικά από τους προσυναπτικούς β<sub>2</sub>-αδρενεργικούς υποδοχείς και αρνητικά από τους προσυναπτικούς α<sub>2</sub>-αδρενεργικούς υποδοχείς. Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια αυξάνει η δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, καθώς και τα επίπεδα της νοραδρεναλίνης του αίματος. Στο σχεδιάγραμμα καταγράφονται τα αποτελέσματα από την υπερδιέγερση των αδρενεργικών υποδοχέων καθώς και οι πολυμορφισμοί που παρατηρούνται σε αυτούς και επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά τη δράση τους. Όπου cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη), PKA (Protein Kinase A: Πρωτεϊνική κινάση Α), PKB (Protein Kinase B: Πρωτεϊνική κινάση Β), PI3K (Phosphatidylinositol-3-kinase: Κινάση της 3- φωσφατιδυλινωσιτόλης), CaMKII (Ca<sup>2+</sup>- Calmodulin-dependent protein Kinase II: Πρωτεϊνική κινάση II που εξαρτάται από Ca<sup>2+</sup>- καλμοδουλίνη). *Trends Pharmacol. Sci.* 26, 2005

αδρενεργικοί υποδοχείς ασκούν αρνητική ινотροπη δράση. Η διέγερση των υποδοχέων αυτών από τις κατεχολαμίνες οδηγεί στην ενεργοποίηση μιας ενδοθηλιακού τύπου συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου (eNOS: endothelial NO Synthase). Το συντιθέμενο NO περνά στα μυοκαρδιοκύτταρα και διεγείρει τη διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC: soluble Guanylcyclase) με αποτέλεσμα η σχηματιζόμενη cGMP (cyclic Guanosine Monophosphate) να προάγει τη χάλιαση των κυττάρων αυτών. Ο μηχανισμός αυτός είναι αντιρροπιστικός και σκοπεύει στο να περιορίζει τα αποτελέσματα της υπερβολικής διέγερσης των β<sub>1</sub> αδρενεργικών υποδοχέων από τις κατεχολαμίνες που διεκπεραιώνεται μέσω του συστήματος της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylyl cyclase) (14,16).

Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια υπάρχει μια απευαισθητοποίηση των β<sub>1</sub> και

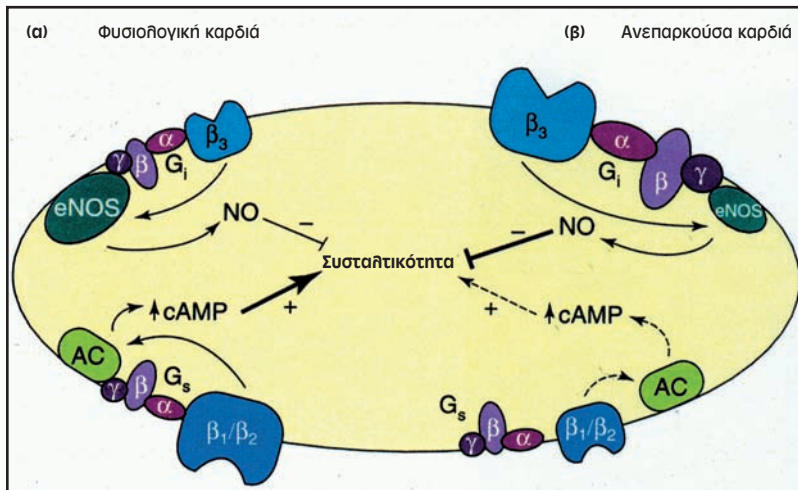


**Εικόνα 15.3: Μηχανισμοί θετικής inóτροπης δράσης των  $\beta_1$  και  $\beta_2$ -αδρενεργικών υποδοχέων.** Η νοραδρεναλίνη (NE: Norepinephrine) διεγείρει τους  $\beta_1$  και  $\beta_2$ -αδρενεργικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη του καρδιομυοκυττάρου. Οι υποδοχείς αυτοί ενεργοποιούν την  $G_s$ -πρωτεΐνη η οποία διεγείρει το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης. Το ενζυμικό αυτό σύστημα υδρολύει την ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη) σε cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη) η οποία ενεργοποιεί την PKA (Protein Kinase A: Πρωτεϊνική κινάση Α). Η PKA μέσω φωσφορυλιώσεων προάγει την είσοδο του  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα τόσο από τον εξωκυττάριο χώρο όσο και από το σαρκοπλασματικό δίκτυο (SR: Sarcoplasmic Reticulum) και κινητοποιεί το μηχανισμό της μυϊκής σύσπασης. Η αύξηση της NE στη συναπτική σχισμή διεγείρει τους  $\alpha_2$ -προσυναπτικούς αδρενεργικούς υποδοχείς στην απόληξη της συμπαθητικής ίνας με αποτέλεσμα να σταματά η απελευθέρωσή της.  
Klabunde R.: *Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin. Google-Internet, 2005*

$\beta_2$  αδρενεργικών υποδοχέων και αυτό οφείλεται στη φωσφορυλίωσή τους από την κινάση-1 των  $\beta$ -αδρενεργικών υποδοχέων ( $\beta$ ARK:  $\beta$ -adrenoceptor kinase). Αντίθετα, παρατηρείται μια πλειορύθμιση των  $\beta_3$ -αδρενεργικών υποδοχέων. Αυτό πιθανόν συμβαίνει για να αποφευχθεί περαιτέρω βλάβη των καρδιομυοκυττάρων από τις κυκλοφορούσες σε αυξημένη ποσότητα κατεχολαμίνες κατά τα αρχικά στάδια της καρδιακής ανεπάρκειας. Κατά την εξέλιξη, όμως, της νόσου, οι μηχανισμοί αυτοί καθίστανται καταχρηστικοί και τούτο οδηγεί σε περαιτέρω επιδείνωση της καρδιακής καταστολής (9,14,16).

### **Ο άξονας ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης**

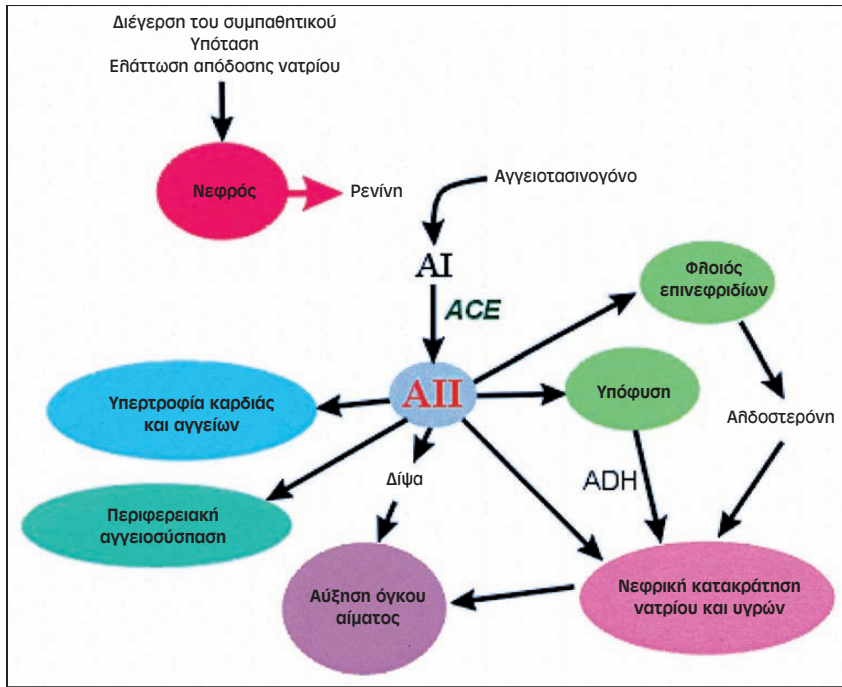
Η υποχρεωτική κατά την καρδιακή ανεπάρκεια πρώιμη μείωση της νεφρικής άρδευσης λόγω ανακατανομής της καρδιακής παροχής, κινητοποιεί την παραγωγή αγγειοτασίνης II μέσω υπερπαραγωγής νεφρογενούς ρενίνης. Κατά



**Εικόνα 15.4:** Μηχανισμοί θετικής και αρνητικής ινοτρόπου δράσης των β-αδρενεργικών υποδοχέων. **Αριστερά:** Στο φυσιολογικό μυοκάρδιο, οι β<sub>1</sub> και β<sub>2</sub>-αδρενεργικοί υποδοχείς ασκούν θετική ινοτρόπο δράση μέσω του συστήματος της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylcyclase). Αντίθετα, οι β<sub>3</sub>-αδρενεργικοί υποδοχείς ασκούν αρνητική ινοτρόπη δράση μέσω της ενεργοποίησης μιας ενδοθηλιακού τύπου συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου (eNOS) και της παραγωγής NO. **Δεξιά:** Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια, υπάρχει μια απευαισθητοποίηση των β<sub>1</sub> και β<sub>2</sub>-αδρενεργικών υποδοχέων. Αντίθετα, παρατηρείται μια πλειορύθμιση των β<sub>3</sub>-αδρενεργικών υποδοχέων. *Trends Pharmacol. Sci.* 21,2000

το στάδιο της αντιρρόπησης της καρδιακής ανεπάρκειας αποκαθίσταται η κατανομή της καρδιακής παροχής και βελτιωμένης της νεφρικής άρδευσης μειώνεται η έκκριση ρενίνης και η σύνθεση της αιματογενούς αγγειοτασίνης II. Ωστόσο, η παραγωγή διαφόρων κυτταροκινών στα αγγεία και ιδίως στο πάσχον μυοκάρδιο προάγει τη σύνθεση της ιστικής προέλευσης αγγειοτασίνης II. Στο τρίτο στάδιο της τελικής ρήξης της καρδιακής αντιρρόπησης μειούται εκ νέου η νεφρική άρδευση και συντίθενται μεγάλες ποσότητες αιματογενούς αγγειοτασίνης II λόγω της έκκρισης άφθονης ρενίνης.

Η αγγειοτασίνη αποτελεί χυμικό παράγοντα που διεγείρει τη σύνθεση και έκκριση δυσλειτουργικών ενδοθηλιογενών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένης της ισχυρά αγγειοσυσπαστικής ενδοθηλίνης σε όλη την έκταση των αγγείων μέχρι των τριχοειδών καθώς επίσης και των κατεχολαμινών στις οποίες έχει γίνει ήδη αναφορά. Παράλληλα, τόσο οι κατεχολαμίνες όσο και η ενδοθηλίνη-1 προάγουν την αυξημένη παρουσία της αγγειοτασίνης II, οι μεν πρώτες γιατί διεγείρουν την απελευθέρωση της ρενίνης, η δε δεύτερη διότι διεγείρει το MEA (Μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης). Επίσης, η αγγειοτασίνη II διεγείρει τη σύνθεση και έκκριση φλεγμονογόνων παραγόντων στους οποίους περιλαμβάνεται και ο χημειοτακτικός παράγοντας PAF (Platelet Activating Factor:



Εικόνα 15.5: Σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης. Καταγράφονται οι ενέργειες του άξονα αυτού ο οποίος διεγείρεται κατά την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας. Όπου AII (Angiotensin II: Αγγειοτασίνη II), ACE (Angiotensin Converting Enzyme: Μετατροπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης ή ΜΕΑ), ADH (Antidiuretic Hormone: Αντιδιουρητική ορμόνη) Klabunde R.: Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin. Google-Internet,2005

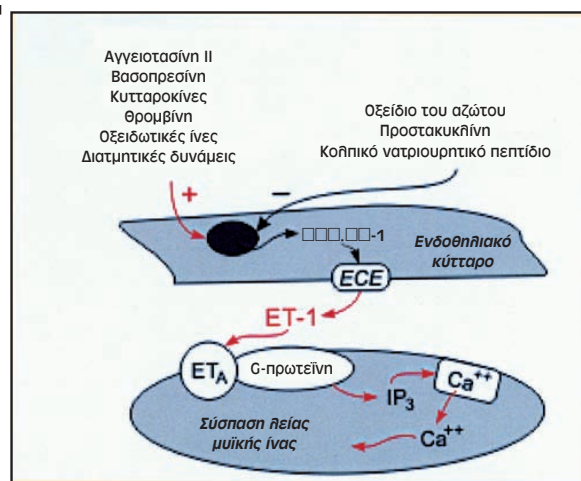
Ενεργοποιητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων) καθώς επίσης και την αθρόα παραγωγή οξειδωτικών ριζών (9,15).

Τα αυξημένα ποσά της κυκλοφορούσης αγγειοτασίνης II συμβάλλουν στην παρατηρούμενη αγγειοσυσπαση και μακροπρόθεσμα στην πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος, της δε αλδοστερόνης στην κατακράτηση νατρίου και ύδατος και μακροπρόθεσμα στην καρδιακή ίνωση.

### Η ενδοθελίνη-1

Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια παρατηρούνται, όπως ήδη αναφέρθηκε, αυξημένα κυκλοφορούντα ποσά ενδοθελίνης-1. Οι αιτίες είναι πολλές και μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η διεγερτική δράση της αγγειοτασίνης, ιδιαίτερα σε επίπεδο μετατροπτικού ενζύμου της ενδοθελίνης, η έλλειψη ανασταλτικής δράσης των αγγειοδιασταλτικών παραγόντων του ενδοθηλίου, οι οποίοι ανεπαρκούν, καθώς και η αυξημένη παρουσία οξειδωτικών ριζών.

Η ενδοθελίνη, με τη σειρά της, προκαλεί δράσεις στο μυοκάρδιο, οι οποίες



**Εικόνα 15.6:** Σύνθεση και απελευθέρωση της ενδοθηλίνης-1. Αγγειοσυσπαστική δράση. Καταγράφονται οι παράγοντες που προάγουν ή αναστέλλουν την απελευθέρωση της ενδοθηλίνης-1 (ET-1). Αγγειοτασίνη, κυτταροκίνες και οξειδωτικές ρίζες είναι αυξημένες κατά την καρδιακή ανεπάρκεια. Η σύσπαση των λείων μυϊκών ινών μεθοδεύεται από τον υποδοχέα-ET<sub>A</sub> της ET-1 με τη διέγερση της G<sub>q/11</sub>-πρωτεΐνης, το σχηματισμό της IP<sub>3</sub> (Inositol Triphosphate: Τριφωσφορική ινοσιτόλη) και την απελευθέρωση Ca<sup>2+</sup>. Όπου Big ET-1 (Μεγάλη ET-1), ECE (Endothelin Converting Enzyme: Μετατρεπτικό ένζυμο της ενδοθηλίνης ή ΜΕΕ).

*Klabunde R.: Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin. Google-Internet, 2005*

προάγουν την υπερτροφία του μυοκαρδίου αλλά και τη μετάπτωσή του σε ανεπάρκεις. Η ενδοθηλίνη προκαλώντας ιδιαίτερως σύσπαση των φλεβών αυξάνει την καρδιακή προφόρτιση. Προκαλεί, επίσης, υπερτροφία και υπερτονία των αρτηριών και αρτηριδίων και αυξάνει τις αντιστάσεις εξώθησης της αριστεράς κοιλίας. Τέλος, αποτελεί παράγοντα που προάγει την απόπτωση των κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των μυοκαρδιακών τοιούτων (17-19).

### Αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες

Η προοδευτική διάταση των καρδιακών κοιλοτήτων προάγει την απελευθέρωση των νατριουρητικών πεπτιδίων ANP (Atrial Natriuretic Peptide: Κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο) και BNP (Brain Natriuretic Peptide: Εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο). Τα πεπτίδια αυτά διεγείρουν αντίστοιχους υποδοχείς, στους οποίους έχει γίνει εκτενής αναφορά σε άλλα κεφάλαια, και προάγουν την αγγειοδιαστολή και τη νατριούρηση. Οι δράσεις αυτές παρόλο που είναι ευεργετικές διότι ελαττώνουν τις περιφερικές αντιστάσεις και δρουν κατασταλτικά στον άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης, δεν είναι επαρκώς ισχυρές για να εξουδετερώσουν τις αγγειοσυσπαστικές και λοιπές ενέργειες από την ενεργοποίηση των άλλων συστημάτων στα οποία έγινε ήδη αναφορά. Η παρουσία αυξημένων επιπέδων των ANP και BNP συνδέεται με δυσμενή πρόγνωση για την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας (9,15,20).

### Κυτταροκίνες

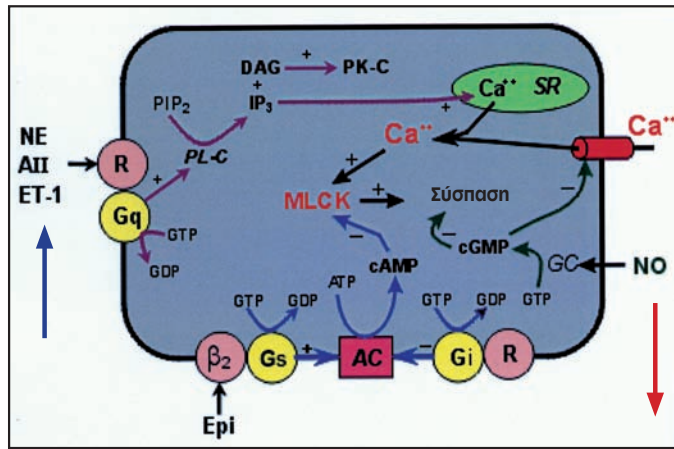
Ο τόπος σύνθεσης των κυτταροκινών κατά την καρδιακή ανεπάρκεια δεν είναι γνωστός, πλην όμως είναι γνωστό ότι το μυοκάρδιο είναι σε θέση να συνθέτει τον TNF-α, την IL-1 και την IL-6 όταν δέχεται διάφορα ερεθίσματα. Επίσης το TNF- mRNA και η αντίστοιχη πρωτεΐνη έχουν ανιχνευθεί στο μυοκάρδιο σε κατάσταση ανεπάρκειας, όχι όμως και στο υγιές. Πιστεύεται ότι τόσο το TNF-α mRNA όσο και η αντίστοιχη πρωτεΐνη TNF-α είναι αυτοπεριοριζόμενα (20-23).

Ο TNF-α και η ιντερλευκίνη IL-6 είναι τουλάχιστον δύο από τις κυριότερες φλεγμονογόνες κυτταροκίνες που ανιχνεύονται αυξημένες στην κυκλοφορία, καθώς εξελίσσεται η καρδιακή ανεπάρκεια. Η αύξηση της IL-6 οφείλεται προφανώς σε γονιδιακή διέγερση από τον TNF-α. Αντίθετα η IL-1 σε λίγες μελέτες έχει ανιχνευθεί στην κυκλοφορία. Δεν πρέπει, όμως, να λησμονείται ότι πρόκειται για μία κυτταροκίνη με αυτοκρινείς, παρακρινείς και εσωκρινείς ιδιότητες μόνο. Τέλος, η αύξηση των κυκλοφορουσών φλεγμονογόνων κυτταροκινών μπορεί να οφείλεται και σε ελαττωμένο καταβολισμό αυτών λόγω δέσμευσης τους από τους διαλυτούς υποδοχείς του TNF-α., sTNF-R1 (soluble TNF-Receptor1) και sTNF-R2, που αυξάνονται στο τριπλάσιο κατά την καρδιακή ανεπάρκεια (20,24).

Οι κυτταροκίνες αυτές δεν είναι η αιτία εμφάνισης της καρδιακής ανεπάρκειας, η αυξημένη όμως παρουσία τους κατά την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας επιδεινώνει την εξέλιξή της. Ιδιαίτερα, ο TNF-α εμφανίζεται τόσο στον καρδιακό ιστό όσο και στο κυκλοφορούν αίμα. Όπως ήδη αναφέρθηκε, επί καρδιακής ανεπάρκειας παρατηρείται αύξηση στην κυκλοφορία των υποδοχέων των κυτταροκινών αυτών στα πλαίσια μιας προσπάθειας προστασίας του οργανισμού δια δεσμεύσεως, μακροπρόθεσμα, όμως, ο παράγοντας επαναποδεσμεύεται από τα συμπλέγματα. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η αύξηση της μιας διαλυτής μορφής του υποδοχέα του TNF-α, δηλαδή του sTNF-R2, έχει κάποια προγνωστική αξία και πιθανόν να αποτελεί προγνωστικό σημείο δυσμενούς εξέλιξης (9,15,21,22,24).

### Παθογένεση του δυσλειτουργικού ενδοθηλίου

Το σύνολο όλων αυτών των βλαπτικών παραγόντων που αναφέρθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο κυκλοφορεί στο αίμα και καθιστά δυσλειτουργικό το ενδοθήλιο όχι μόνο των περιοχών όπου παράγονται αλλά γενικευμένα. Επιπλέον, οι παράγοντες αυτοί δρουν στα διάφορα όργανα μέσω του αρδεύοντος αυτά αίματος, προκαλώντας σε αυτά ανατομικές και λειτουργικές διαφοροποιήσεις.



**Εικόνα 15.7: Θετική ινότροπη δράση από τις αγγειοσυσπαστικές ουσίες που απελευθερώνονται κατά την καρδιακή ανεπάρκεια.** Κατά την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας αυξάνουν οι κυκλοφορούσες κατεχολαμίνες, ενώ διεγείρεται ο άξονας ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης και η απελευθέρωση της ενδοθηλίνης-1 (ET-1). Η ET-1, η αγγειοτασίνη II (AII) και η νοραδρεναλίνη διεγείρουν υποδοχείς (R: Receptor) που συνδέονται με τη  $G_{q/11}$ -πρωτεΐνη, η οποία με τη σειρά της διεγείρει το σύστημα της PLC (Phospholipase C: Φωσφολιπάση C). Ακολουθεί η υδρόλυση της  $PIP_2$  (Phosphatidylinositol Biphosphate: Διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη) προς  $IP_3$  (Inositol Triphosphate: Τριφωσφορική ινοσιτόλη) και DAG (Diacylglycerol: Διακυλογλυκερόλη). Η DAG ενεργοποιεί την PKC (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C) και η  $IP_3$  απελευθερώνει  $Ca^{2+}$  από το SR (Sarcoplasmic Reticulum: Σαρκοπλασματικό δίκτυο). Την ίδια ενέργεια ασκεί και το  $Ca^{2+}$  που εισέρχεται από τον εξωκυττάριο χώρο. Η νοραδρεναλίνη διεγείρει επίσης τους  $\beta_1$  και  $\beta_2$ -αδρενεργικούς υποδοχείς (R). Οι υποδοχείς αυτοί ενεργοποιούν την  $G_s$ -πρωτεΐνη η οποία διεγείρει το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenyl Cyclase), με αποτέλεσμα την υδρόλυση της ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη) προς cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη) η οποία ενεργοποιεί την PKA (Protein Kinase A: Πρωτεϊνική κινάση A). Η PKA μέσω φωσφορυλιώσεων προάγει την είσοδο του  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα τόσο από τον εξωκυττάριο χώρο όσο και από το SR. Το  $Ca^{2+}$  κινητοποιεί το μηχανισμό της μυϊκής σύσπασης. Ο αντιροποιστικός αυτός μηχανισμός στη συνέχεια ανατρέπεται λόγω απευαισθητοποίησης των  $\beta_2$ -αδρενεργικών υποδοχέων, με αποτέλεσμα να επικρατούν οι  $\beta_3$ -αδρενεργικοί υποδοχείς οι οποίοι ασκούν αρνητική ινότροπη δράση. Αρνητικά δρα στο σύστημα μυϊκής σύσπασης και η ενεργοποίηση των  $M_2$ -υποδοχέων από την ακετυλοχολίνη, καθώς και των  $A_1$ -υποδοχέων από την αδενοσίνη.

*Klabunde R.: Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin. Google-Internet, 2005*



Είναι γνωστό ότι η λύση της συνέχειας του ενδοθηλίου εκθέτει την αρτηρία σε βλαπτικούς παράγοντες σε ένταση ανάλογη προς την έκταση της βλάβης. Όταν το ενδοθήλιο είναι ακέραιο και υφίσταται την έντονη και παρατεταμένη επίδραση βλαπτικών παραγόντων ή αποτελείται από κύτταρα που αναγεννήθηκαν πρόσφατα (μέχρι 6 μηνών) ύστερα από αποφολίδωση, τότε καθίσταται δυσλειτουργικό και στην κατάσταση αυτή όχι μόνο δεν προστατεύει αλλά αντίθετα προκαλεί αρτηριακές βλάβες λειτουργώντας κατά τρόπο τελείως αντίθετο του φυσιολογικού. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου παρουσιάζεται με κύριες εκδηλώσεις τη θρομβογονητικότητα, την αγγειοσύσπαση και την αλλοίωση της υφής του αγγείου (5-9).

Ειδικότερα, επί καρδιακής ανεπάρκειας συνυπάρχει μια σωρεία μηχανισμών με τους οποίους προκαλείται η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Όλοι οι παρακάτω περιγραφόμενοι και αλληλοδιαπλεκόμενοι μηχανισμοί προάγουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και έχουν της ευθύνη για την προοδευτική επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας.

Στο αρτηριακό σκέλος της κυκλοφορίας η μείωση της τριβής του ρέοντος αίματος στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, λόγω μείωσης της καρδιακής παροχής, προκαλεί μέσω της ανενεργοποίησης των διαύλων του  $K^+$  άρση της υπερπόλωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Είναι γνωστό ότι στα ενδοθηλιακά κύτταρα το απαραίτητο  $Ca^{2+}$  για την ενεργοποίηση των λειτουργιών τους δεν εισέρχεται μέσω των διαύλων L αλλά μέσω άλλων διαύλων διανοιγόμενων κατά την υπερπόλωση και συγκλειόμενων κατά την αποπόλωση. Κατά συνέπεια, διακόπτεται η σύνθεση και έκκριση προστακυκλίνης ( $PGI_2$ : Prostacyclin) και NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και μένει άνευ ανταγωνισμού η σύνθεση και έκκριση ενδοθηλίνης-1 (9,17,25).

Στο φλεβικό σκέλος της κυκλοφορίας η αύξηση της φλεβικής πίεσης προκαλεί διάταση των ενδοθηλιακών κυττάρων, η οποία αποτελεί ερέθισμα για την παραγωγή ελεύθερων οξειδωτικών ριζών. Οι τελευταίες αναστέλλουν τη σύνθεση της  $PGI_2$  με αποτέλεσμα να εκκρίνεται η αγγειοσυσπαστική και προθρομβωτική προβαθμίδα της, η προσταγλανδίνη  $PGH_2$ , καθώς και η εκ παράκαμψης παραγόμενη θρομβοξάνη ( $TXA_2$ : Thromboxan) με ισχυρές ομόλογες ιδιότητες. Επιπρόσθετα, οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με το NO το οποίο εξουδετερώνουν. Τέλος, οι ίδιες ενεργώντας αυτοκρινώς και παρακρινώς στα ενδοθηλιακά κύτταρα διεγείρουν τη σύνθεση και έκκριση των παραγόντων που εκφράζουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται, όπως έχει αναφερθεί, και η ενδοθηλίνη-1 (11,18,25).

Μια επιπρόσθετη πηγή παραγωγής ελεύθερων οξειδωτικών ριζών είναι και η iNOS (inducible NO Synthase: επαγόμενη συνθετάση του NO), η οποία μπορεί και συνθέτει τις ρίζες αυτές αντί του NO, όταν έχουν εξαντληθεί τα αποθέματα της L-αργινίνης ή όταν λείπει ο βασικός συμπαράγοντας τετραϋδροπτερίνη που είναι απαραίτητος για τη σύνθεση του NO (26).

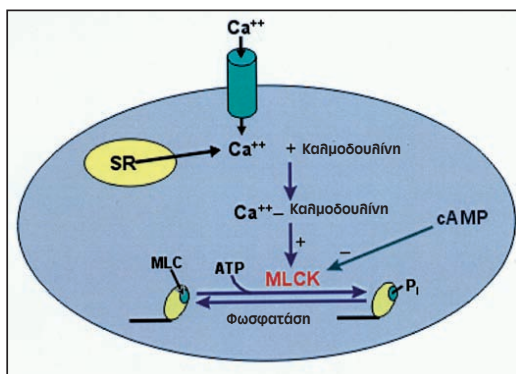
Ένας άλλος προτεινόμενος μηχανισμός ο οποίος εξηγεί την αντίσταση στο NO, στο βαθμό που αυτό συντίθεται, αφορά τους βιοχημικούς δρόμους που αυτό διεγείρει. Η cGMP φαίνεται ότι προάγει την αποφωσφορυλίωση της MLC (Myosin Light Chain: Ελαφρά άλυσος της μυοσίνης). Η αποφωσφορυλίωση αυτή γίνεται από τη φωσφατάση MLCP (Myosin Light Chain Phosphatase: Φωσφατάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης) η οποία αποτελείται από τρεις υπομονάδες. Η πρώτη υπομονάδα είναι της τάξης των 37 kDa και περιέχει την καταλυτική μονάδα, η δεύτερη υπομονάδα είναι της τάξης των 20 kDa και είναι άγνωστο τι λειτουργία επιτελεί και η τρίτη υπομονάδα, η οποία είναι της τάξης των 110-130 kDa, κατευθύνει τη φωσφατάση προς το υπόστρωμά της. Η υπομονάδα αυτή ονομάζεται ΜΥΡΤ1 (Myosin Phosphatase Targeting subunit 1:Υπομονάδα 1 της φωσφατάσης που στοχεύει τη μυοσίνη) και είναι υπεύθυνη για τη στόχευση της μυοσίνης. Εναλλακτική αποκοπή κατά τη φάση της σύνθεσης του mRNA οδηγεί στη σύνθεση τεσσάρων ισομόρφων. Η έκφραση του ισομόρφου LZ<sup>+</sup> ΜΥΡΤ1 είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη της αγγειοδιασταλτικής δράσης της cGMP, δεδομένου ότι η υπό της cGMP ενεργοποιούμενη πρωτεϊνική κινάση PKG τύπου Ia, για να ενεργοποιήσει τη MLCP είναι απαραίτητο η τελευταία να έχει στο μόριό της την υπομονάδα LZ<sup>+</sup>ΜΥΡΤ1. Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια παρατηρείται ελαττωμένη έκφραση της υπομονάδας LZ<sup>+</sup>ΜΥΡΤ1 και η κατάσταση αυτή εξηγεί εν μέρει την αντίσταση στην υπό του NO μεθόδευόμενη αγγειοδιαστολή (10,27,28).

Η ενδοθηλίνη ως αυτοκρινής και παρακρινής παράγοντας επάγει στα πλαίσια της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας τη σύνθεση και παρουσίαση στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων διαφόρων μορίων προσκόλλησης, επί των οποίων προσκολλώνται και ενεργοποιούνται τα φαγοκύτταρα. Μετά την ενεργοποίησή τους παράγουν αθρόως οξειδωτικές ρίζες και τον παράγοντα TNF-α. Ο τελευταίος ανατροφοδοτεί θετικά τη σύνδεση μορίων προσκόλλησης και συνεργεί με τον PAF με όλες τις περιγραφείσες δυσμενείς συνέπειες για τη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου. Παράλληλα, διεχεόμενος ο TNF-α προς το μυοκάρδιο εξασκεί έντονη αρνητική ινóτροπη ενέργεια, προάγοντας παράλληλα την απόπτωση. Το σύνολο των παραπάνω δράσεων συγκλίνει στην ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας και η κυκλοφορούσα ενδοθηλίνη-1 αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (9,15, 19).

### **Συνέπειες της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας**

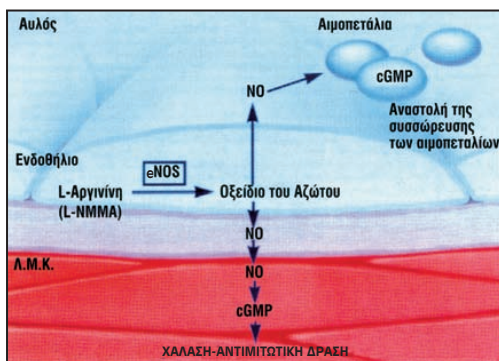
Οι απώτερες συνέπειες της αναπτυσσόμενης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όπως είναι ευνόητο, κατατείνουν στην επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένας φαύλος κύκλος.

Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια, η πλέον εμφανής εκδήλωση της αναπτυσ-



**Εικόνα 15.8: Ο ρόλος της φωσφατάσης στο μηχανισμό μυϊκής σύσπασης.** Το  $Ca^{2+}$  που εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα τόσο από τον εξωκυττάριο χώρο όσο και από το σαρκοπλάσματικό δίκτυο (SR: Sarcoplasmic Reticulum) συνδέεται με την καλμοδοουλίνη. Το σύμπλοκο “ $Ca^{2+}$ -καλμοδοουλίνη” ενεργοποιεί την κινάση της ελαφράς αλυσού της μυοσίνης (MLCK: Myosin Light Chain Kinase), η οποία φωσφορυλιώνει την ελαφρά άλυσο της μυοσίνης (MLC: Myosin Light Chain) και προάγει τη μυϊκή σύσπαση. Η φωσφατάση αποφωσφορυλιώνει τη MLC και προάγει τη μυϊκή χάλαση και την αγγειοδιαστολή. Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια παρατηρείται ελαττωμένη έκφραση της υπομονάδας  $LZ^+MYPT1$  της φωσφατάσης και αυτό εξηγεί εν μέρει την αντίσταση στην αγγειοδιαστολή που μεθοδεύει το NO (βλέπε κείμενο). Όπου ATP (Adenosine Triphosphate: Τριφωσφορική αδενοσίνη),  $P_i$  Φωσφορική ρίζα.

*Klabunde R.: Cardiovascular Physiology Concepts. Endothelin. Google-Internet,2005*



**Εικόνα 15.9: Μηχανισμοί δράσης στα αιμοπετάλια και τις λείες μυϊκές ίνες του οξειδίου του αζώτου που συντίθεται από το ενδοθήλιο.** Στα ενδοθηλιακά κύτταρα το οξειδίο του αζώτου (NO) αποτελεί παραπροϊόν της δράσης της eNOS (endothelial NO Synthase: ενδοθηλιακή συνθεάση του NO) στην L-αργινίνη. Το NO αυξάνει την cGMP (cyclic Guanine Monophosphate: κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη) τόσο στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων, όπου αφενός προάγει τη χάλαση αυτών αφετέρου ασκεί αντιμιτωτική δράση, όσο και στα αιμοπετάλια όπου αναστέλλει τη διέγερσή τους και τα θρομβωτικά φαινόμενα. Η ελαττωμένη έκφραση της υπομονάδας  $LZ^+MYPT1$  της φωσφατάσης σχετίζεται με την αντίσταση στην ούτως ή άλλως ανεπαρκή ποσότητα του συντιθέμενου NO κατά την καρδιακή ανεπάρκεια. Η ανεπαρκής, επίσης, ποσότητα του NO συμβάλλει τόσο στην υπέρσχυση των αγγειοσυσπαστικών ουσιών όσο και στα θρομβοφιλικά φαινόμενα.

*Parker-Davis,1995*



διαμόρφωση του μυοκαρδίου. Σε αυτό συνεργεί και TNF-α ο οποίος, όπως ήδη αναφέρθηκε, προάγει την απόπτωση. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία οδηγεί παράλληλα σε θρομβοφιλία και μείωση της ινωδόλυσης και με τον τρόπο αυτό ευνοεί την εκδήλωση εμφραγμάτων. Εκτός από την ένδεια ενδοθηλιακών παραγόντων, η φτωχότερη μυϊκή άσκηση συμβάλλει στη θρομβοφιλία και ιδίως στη μειονεκτική θρομβόλυση. Το γεγονός αυτό φαίνεται ότι συνδέεται με τη μείωση της υποτροπής εμφραγμάτων του μυοκαρδίου, όταν αντιμετωπίζεται επιτυχώς η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου (9,15).

### Θεραπευτικές εμπλοκές

Επί του παρόντος δεν υπάρχει γνωστή μέθοδος για την ταυτόχρονη αποκατάσταση του συνόλου των διαταρασόμενων ενδοθηλιακών λειτουργιών κατά τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Ακόμη η τελευταία έννοια δεν είναι ταυτόσημη με ομοιόμορφη διαταραχή όλων των λειτουργιών. Πιθανόν ανάλογα με το αίτιο να διαταράσσονται εκλεκτικά ορισμένες λειτουργίες. Συνεπώς, η θεραπευτική αντιμετώπιση κατατείνει στην αντιμετώπιση ορισμένων πτυχών του προβλήματος με επέμβαση σε μερικούς κείριους μηχανισμούς.

Επειδή το ενδοθηλιακό μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης αυξανόμενο κατά τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου πολλαπλασιάζει την παραγωγή αγγειοτασίνης II μετέχοντας σε φαύλο κύκλο και αποικοδομεί τη βραδυκινίνη που ενεργοποιεί τις φυσιολογικές λειτουργίες, η αναστολή του ενζύμου αναμένεται ότι επηρεάζει ευνοϊκά την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Ως θεραπευτικά αποτελέσματα της χορήγησης αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης που συνηγορούν για τέτοια δράση είναι αφενός η αύξηση της σωματικής ικανότητας, αφετέρου η μείωση των υποτροπών εμφραγμάτων (30).

Όμοια αποτελέσματα έχουν δειχθεί με τη χορήγηση αποκλειστών των υποδοχέων-AT<sub>1</sub> της αγγειοτασίνης II. Τα φάρμακα αυτά αποκλείουν τις δυσμενείς δράσεις της αγγειοτασίνης II η οποία παράγεται από το ενεργοποιημένο ΜΕΑ κατά την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

Η χορήγηση L-αργινίνης συνεπάγεται αύξηση παραγωγής NO το οποίο αποτελεί ένα από τα κύρια προϊόντα του καλώς λειτουργούντος ενδοθηλίου. Αναμένεται, ως εκ τούτου, να βελτιώνει ή να αποκαθιστά αρκετές εκφάνσεις της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (31).

Σε ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, η ενδοφλέβια χορήγηση L-αργινίνης βελτιώνει την ενδοθηλιακή αγγειοδιασταλτική λειτουργία, όπως διαπιστώνεται από την αύξηση της άρδευσης του αντιβραχίου με τη χορήγηση ακετυλοχολίνης ή την αντιδραστική υπεραϊμία. Ομοίως μειώνει τις συστηματικές αντιστάσεις και τη μέση αρτηριακή πίεση, αυξάνοντας παράλληλα τον όγκο παλμού και την καρδιακή παροχή, μολονότι υπήρξαν και αρνητικές παρατη-

ρήσεις. Η από του στόματος χορήγηση L-αργινίνης επί 6 εβδομάδες βελτίωσε την άρδευση κατά την άσκηση σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια με συνοδό υποκειμενική βελτίωση (32-36).

Σε ασθενείς με πνευμονική υπέρταση παρατηρείται ωσαύτως επιχώρια ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Τόσο σε ενήλικες με πρωτοπαθή πνευμονική υπέρταση όσο και σε ασθενείς με δευτεροπαθή τοιαύτη, συνεπεία μυοκαρδιακής νόσου, διαπιστώνεται η μειωμένη παρουσία συνθετάσης του NO. Η οξεία ενδοφλέβια χορήγηση L-αργινίνης μειώνει στους παραπάνω ασθενείς την πίεση στην πνευμονική αρτηρία αλλά μόνο παροδικά (35-41).

Η χορήγηση αντιοξειδωτικών παραγόντων (βιταμίνη E, ασκορβικό οξύ, αναστολείς οξειδώσεων όπως η προβουκόλη), πρέπει να παρεμβαίνει σε θεμελιώδεις αιτιολογικούς μηχανισμούς που προκαλούν αλλά και εκφράζουν τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Σε κλινικά επίπεδα διαπιστώθηκε ότι συνεπάγεται αύξηση της ικανότητας σωματικού έργου (5,42).

Η αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας δεν είναι θέμα του κεφαλαίου αυτού. Εντούτοις μπορούν συνοπτικά να αναφερθούν ορισμένες σκέψεις που κυριαρχούν στα ερευνητικά εργαστήρια και αφορούν τη μοριακή πλευρά της Φαρμακολογίας.

Η εισαγωγή των β-αδρενεργικών αποκλειστών έχει δώσει εδώ και αρκετά χρόνια μια νέα οδό αντιμετώπισης της πάθησης αυτής. Οι μηχανισμοί της θετικής ανταπόκρισης πολλών ασθενών δεν είναι ακριβώς γνωστοί. Η διέγερση αντιαποπρωτικών βιοχημικών οδών είναι μια άποψη για τις θετικές εκβάσεις. Αντίθετα, η ισχαιμική νόσος, η μεγάλη ηλικία και η ύπαρξη πολυμορφισμών στο επίπεδο των β-αδρενεργικών υποδοχέων μπορεί να είναι ανάμεσα στα αίτια των αρνητικών εκβάσεων. Οι πολυμορφισμοί αυτοί δεν έχουν πάντα αρνητική επίδραση. Ισομόρφα του β<sub>1</sub>-αδρενεργικού υποδοχέα με την παρουσία της Arg389 συνδυάζονται με βελτίωση του κλάσματος εξώθησης της αριστερής κοιλίας, όταν γίνεται αποκλεισμός του υποδοχέα αυτού. Επίσης, η παρουσία της Gly49 στον ίδιο υποδοχέα συνδυάζεται με ελαττωμένη θνητότητα. Τέλος, η ύπαρξη της Glu27 επιτρέπει την καλύτερη ανταπόκριση στην καρβεδιλόλη. Παράλληλα, η ύπαρξη δύο τύπων του β<sub>1</sub>-αδρενεργικού υποδοχέα, δηλαδή του β<sub>1H</sub> και του β<sub>1L</sub>, αυξάνει τους προβληματισμούς και δίνει νέους στόχους στην έρευνα (14).

Πολλή συζήτηση γίνεται σχετικά με το αν θα πρέπει να γίνεται αποκλεισμός και των β<sub>2</sub>-αδρενεργικών υποδοχέων. Είναι γνωστό ότι διέγερση των υποδοχέων αυτών οδηγεί σε αύξηση της έντασης συστολής και επίσπωση της χάλασης. Αυτό οφείλεται στην ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA: Protein Kinase A) η οποία φωσφορυλιώνει τη φωσφολαμβάνη και την τροπονίνη. Επίσης η διέγερση των ίδιων υποδοχέων δρα ανασταλτικά στην απόπτωση. Από την άλλη πλευρά, η διέγερση των υποδοχέων αυτών, όπως ήδη αναπτύχθηκε, ελαττώνει τη διαθέσιμη ενέργεια.

Η απευαισθητοποίηση των β-αδρενεργικών υποδοχέων είναι επίσης ένα πεδίο έρευνας. Οι κινάσες GRK (G protein-coupled Receptor Kinase: Κινάσες των υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνη) που φωσφορυλιώνουν και απενεργοποιούν τους β-αδρενεργικούς υποδοχείς έχουν ένα τμήμα στο μόριό τους, το βARKct. Το τμήμα αυτό ενώνεται κανονικά με το βγ-σύμπλοκο της G-πρωτεΐνης, ώστε να οδηγηθεί το μόριο της κινάσης GRK προς τον υποδοχέα. Η χορήγηση της βARKct πειραματικά έδρασε ανταγωνιστικά προς την κινάση GRK ως προς τον προσεταιρισμό του βγ-συμπλόκου της G-πρωτεΐνης. Ο ανταγωνισμός αυτός εμποδίζει το σχηματισμό του συμπλόκου "GRK- Gβγ" και άρα την αναστολή του κρίσιμου βήματος φωσφορυλίωσης και απευαισθητοποίησης του υποδοχέα. Πιθανόν να πρόκειται και για απ' ευθείας ανασταλτική δράση στο σύμπλοκο βγ της G-πρωτεΐνης, το οποίο δεν είναι γνωστό αν ασκεί τοξικές δράσεις επί καρδιακής ανεπάρκειας (14,43).

Επίσης, και με βάση τα όσα αναφέρθηκαν προηγουμένως, η γονιδιακή έκφραση των β<sub>3</sub>-αδρενεργικών υποδοχέων αυξάνει κατά την καρδιακή ανεπάρκεια. Δεν είναι ακριβώς γνωστό τι επιδράσεις έχει η επί μακρόν διέγερση των υποδοχέων αυτών στην εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας. Πιστεύεται και ερευνάται ότι εκλεκτικοί αποκλειστές των β<sub>3</sub>-αδρενεργικών υποδοχέων ίσως δώσουν στο μέλλον λύσεις για την αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας (14,16).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Braunwald E.: Heart failure. In: Braunwald E. et al (eds) "Harrison's Principles of Internal Medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 1318-1329, 2001
2. Diaz-Velez C., Garcia-Castineiras S., Mendoza-Ramos E., Hernandez-Lopez E.: Increased malondialdehyde in peripheral blood patients with congestive heart failure. *Amer. Heart J.* 131:146-152, 1996
3. Cannan C., McGoon M., Holmes D., Lerman A.: Altered coronary endothelial function in a patient with asymptomatic left ventricular dysfunction. *Int. J. Cardiol.* 53:147-151, 1996
4. Torre-Amione G., Kapadia S., Benedict C., Oral H.: Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 27:1201-1206, 1996
5. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Αθηρογένεση, αρτηριοσκλήρωση, δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 13:33-43, 1995
6. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Το ενδοθήλιο παράγοντας αγγειορύθμισης. *Αρχεία Ελλην. Ιατρικής* 5:311-315, 1994
7. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. *Ελλην. Καρδιολ. Επιθ.* 35:500-504, 1994
8. Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Αρτηριακή υπέρταση και περιφερική κυκλοφορία. Ο ρόλος του ενδοθηλίου. *Αρτηριακή Υπέρταση* 3:97-103, 1994
9. Παπαδόπουλος Κ.Λ., Κόκκας Β : Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επί καρδιακής ανεπάρκειας. *Αρτηριακή Υπέρταση* 6: 76-83, 1997
10. Karim S., Rhee A., Given A., Faulx M.: Vascular reactivity in heart failure. Role of myosin light chain phosphatase. *Circ. Res.* 95:612-619, 2004
11. Singh N., dhala A., Seneviraine C., Singal P.: Oxidative stress and heart failure. *Mol. Cell Biochem.* 147:77-81, 1995
12. Dzau V., Parker M., Lily L., Swartz S., Hollenberg N., Williams G.: Prostaglandins in severe congestive heart failure. *N. England J. Med.* 310:347-352, 1984
13. Mann D., Young J.: Basic mechanism in congestive heart failure. Recognising the role of proinflammatory cytokines. *Chest* 105:897-904, 1994
14. Molenaar P., Parsonage W.: Fundamental consideration of  $\beta$ -adrenoceptor subtypes in human heart failure. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:368-375, 2005
15. Braunwald E.: Normal and abnormal myocardial function. In: Braunwald E. et al (eds) "Harrison's Principles of Internal Medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., New York pp 1308-1318, 2001
16. Gauthier C., Langin D., Balligand J.L.: Adrenoceptors in the cardiovascular system. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:426-431-167, 2000
17. Clavell A., Burnett J.: The role of endothelin in congestive heart failure. In: Luscher T. (ed) "The endothelium in cardiovascular disease". Springer-Verlag, Berlin pp 33-42, 1995
18. Schlant R., Sonnenblick E., Katz A.: Pathophysiology of heart failure. In: Luscher



- T. (ed) "The endothelium in cardiovascular disease". Springer-Verlag, pp 687-726,1995
19. Pollman M., Yamada T., Horiuchi M., Gibbons G.: Vasoactive substances regulate vascular smooth muscle cell apoptosis. *Circ. Res.* 79:748-756,1996
  20. Κόκκας Β.: Κυτταροκίνες και καρδιακή ανεπάρκεια. Τόμος Παρακτικών Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων της Α΄ Καρδιολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Α.Π.Θ. University Studio Press, Θεσσαλονίκη σελ. 86-98,2003
  21. Mann D.: Cytokines as mediators of disease progression in the failing heart. In: Hosenpud J., Greenberg B.(eds) "Congestive heart failure". Lippicott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2000
  22. Satoh M., Nakamura M., Tamura G.: Inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor-alpha in myocardium in human dilated cardiomyopathy. *J.Am. Col. Cardiol.* 29:716-724,1997
  23. Κόκκας Β., Γούλας Α., Κόκκας Α.: Οι κυτταροκίνες και οι μεταγραφικοί παράγοντες της φλεγμονής. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 23:131-146,2005
  24. Ferrari R., Bachetti T., Confortini R.: Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation* 92:1479-1486,1995
  25. Katz S., Krum H., Khan T., Kneth M.: Exercise induced vasodilatation in forearm circulation of normal subjects and patients with congestive heart failure. Role of endothelium derived nitric oxide. *J. Amer. Coll. Angiol.* 28:585-590,1996
  26. Pacher P., Schulz R., Liaudet L., Szabo C.: Nitrosative stress and pharmacological modulation of heart failure. *Sci.* 26:302-310,2005
  27. Solaro J.: Myosin light chain phosphatase. *Circ. Res.* 87:113-117,2000
  28. Somlyo A., Somlyo A.: Signal transduction by G-proteins, Rho kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-smooth muscle myosin II. *J. Physiol.* 522:177-185,2000
  29. Elkayant U., Cohen G., Gogia H., Mehran A., Jonson J.: Renal vasodilatory effect of endothelium stimulation in patients with chronic congestive heart failure. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 28:176-182,1996
  30. Drexler H., Kurtz S., Jeserich M., Munzel T.: Effect of chronic angiotensin converting enzyme inhibition on endothelial function in patients with chronic heart failure. *Am. J. Cardiol.* 76:13E-18E, 1995
  31. Rector T., Bank A., Mullen K.: Randomized double-blind placebo trial of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure. *Circulation* 93:2135-2141,1996
  32. Takeshita A., Hirroka Y., Imaizumi T.: Role of endothelium in control of forearm blood flow in patients with heart failure. *J. Card. Fail.* 28:585-590,1996
  33. Hirroka Y., Imaizumi T., Togawa T., Shiraimoto M.: Effects of L-arginine on impaired acetylcholine-induced and ischemic vasodilatation of the forearm in patients with heart failure. *Circulation* 90:658-668,1994
  34. Wascher T., Bahadori B., Habarsack-Wallner S.: Oral L-arginine supplementation

- in chronic heart failure. *Circulation* 95:1674-1675
35. Kolfiman B., Wollman Y., Bogomolny N.: Improvement of cardiac performance by intravenous infusion of L-arginine in patients with moderate congestive heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 26:1251-1256,1995
  36. Chin-Dusting J., Kaye D., Lefkovits J., Wong J.: Dietary supplementation with L-arginine fails to restore endothelial function in forearm resistance arteries of patients with severe heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 27:1207-1213,1996
  37. Mehta S., Stewart D., Langleben D., Lery R.: Short-term pulmonary vasodilatation with L-arginine in pulmonary hypertension. *Circulation* 38:17-24,1995
  38. Stewart D.: Endothelial dysfunction in pulmonary vascular disorders. *Arzneimittelforschung* 44:451-454,1994
  39. Roger R., Mugge A., Bode-Boger S., Heinzel D.: Differential systemic and pulmonary hemodynamic effects of L-arginine in patients with coronary artery disease or primary pulmonary hypertension. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 34:323-328,1996
  40. Surddscki A., Zmudka K., Bieron K.: Lack of beneficial effects of L-arginine infusion in primary pulmonary hypertension. *Wien Klin. Wochnschr* 106:521-526,1994
  41. Baudouin S., Bath P., Martin J., Du Bois R.: L-arginine infusion has no effect on systemic and haemodynamics in normal volunteers, or systemic and pulmonary hemodynamics in patients with elevated pulmonary vascular resistance. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 36:45-49,1993
  42. Levine G., Frei B., Koulouris S., Gerhard M.: Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 93:1107-1113,1996
  43. Kozasa T.: The structure of the GRK2-G $\beta\gamma$  complex. Intimate association of G-protein signaling modules. *Trends Pharmacol. Sci* 25: 61-63,2004

## ΕΠΙΜΥΘΙΟ

Κ. Α. Παπαδόπουλος

Ως επιμύθιο των όσων έμαθα και είπα μέχρι τώρα στα πλαίσια των αναζητήσεων μου θα μπορούσα, χωρίς να διεκδικώ τίτλους εις την φιλοσοφία πέραν εκείνου του εραστού της, να διατυπώσω τις παρακάτω σκέψεις :

Μελετώντας απλώς την καρδιαγγειακή φυσιολογία, χωρίς καν να πλησιάσει την μεγαλειώδη νευροφυσιολογία του ΚΝΣ, θαυμάζει κανείς βλέποντας ότι υπάρχει πολυσυνθετότης, ποικιλότητας, πολυπλοκότητας και εφεδρεία μηχανισμών για την επίτευξη ενός στόχου και την ασφάλεια διεκπεραιώσεως της κάθε λειτουργίας, παρά τις ποικίλες ενδογενείς και εξωγενείς τυχαίες ή νοσηρές παρεμβάσεις· ακόμη υπάρχει αξιόλογη μερική προστασία από μεθοδευμένες παρεμβάσεις. Υπάρχει, επιπρόσθετα, ανακύκλωσης και επανορθωσιμότητας των μηχανισμών.

Πολυάριθμα συστήματα αλληλορρυθμίσεως και ανατροφοδοτήσεως, βασιζόμενα σε συγκεκριμένες γενικές μεθοδεύσεις υφίστανται σε διαδοχικά επίπεδα. Διαπιστώνεται ομολογία μηχανισμών αλλά και εξειδίκευσις δράσεων ομοειδών μηχανισμών αναλόγως προς τους ιστούς, τα όργανα και την ηλικία. Τούτα μαρτυρούν οικονομία στην «επιπόνηση» και ανάπτυξη μηχανισμών, καθώς και εκπλήρωση πολλαπλών λειτουργιών με ομολόγους θεμελιώδεις μηχανισμούς· είναι αξιοθαύμαστη η ύπαρξις συντονισμού μεταξύ φαινομενικώς ανεξαρτήτων λειτουργιών που συμβάλλουν σε κοινό αποτέλεσμα. Όμως, παρά την ανεκλαλήτως αξιοθαύμαστη και με τις σημερινές δυνατότητες ακόμη ατελώς προσεγγιζόμενη και εις το έσχατο βάθος ακατάληπτη οργάνωση, τα πάντα υπόκεινται στην εκφύλιση και φθορά, ώστε η αθανασία να είναι ουτοπία και να διασφαλίζεται η αναγέννησις και μέσω αυτής η εξέλιξις εις την φύσιν.

Η ερμηνεία των φαινομένων και η αναζήτηση ελλειπόντων βημάτων ή παραγόντων σε μία αλληλουχία μηχανισμών γίνονται με τελεολογική σκέψη, ασχέτως αν οι κρατούσες επιστημονικές απόψεις κατά το πλείστον θεωρούν τα πάντα ως προϊόν αυτοοργανώσεως, τυχαίων μεταλλάξεων, δοκιμών και απορρίψεων, στην πορεία μακρόχρονης εξελικτικής διαδικασίας κατά την Δαρβινική αντίληψη. Μήπως, άραγε, η αντίληψις αυτή περιλαμβάνει ό,τι πραγματοποιείται μέσα σε πλαίσια που πράγματι ενέχουν τελεολογία την οποία συγκρατημένα αποδίδει κατά τις ομιλίες ο αμήχανος ρήτωρ εις την «φύσιν»;

Η αυτοοργάνωσις, αρχίζοντας από τα δομικά στοιχεία της ανόργανης ύλης, προϋποθέτει την παρουσία συγκεκριμένων ανομοιογενειών αγνώστου φύσεως, δίκην πόλων, εις τις επίσης αγνώστου φύσεως έσχατες μονάδες της ύλης. Πολικότης σημαίνει ύπαρξη περιοχής (πόλος) σε ένα σωματίδιο όπως το χαρακτηρίζουμε με την δική μας αντιληπτική ικανότητα, ή οτιδήποτε άλλο ακατάληπτο ον είναι στην πραγματικότητα, με εντοπισμένη ιδιότητα που επιτρέπει την αλληλεπίδραση με κατάλληλη περιοχή (πόλο) σε άλλο «ον» ή σωματίδιο, η οποία περιοχή αναγνωρίζει τον πρώτο πόλο (συμπληρωματικότης). Έτσι επιτυγχάνεται αναγνώρισις και συναρμογή κατά τέτοιο, τρόπον, ώστε να είναι δυνατή η αυτοοργάνωσις σε μεγαλύτερα σύνολα με λειτουργική αξία, διηλεκώς εκτεινόμενη περαιτέρω σε πολυπλοκότερους σχηματισμούς.

Η ιδιοστροφορμή των υποατομικών οντοτήτων, ακόμη και αν δεν ανταποκρίνεται εις την ακριβή έννοιαν του όρου, μαρτυρεί είδος πολικότητος. Εις το επίπεδο του ατόμου είναι ήδη σαφής η ύπαρξις της πολικότητος υπό την μορφήν των ηλεκτρονικών τροχιακών που επιτρέπει τον σχηματισμό των μορίων, αξιοθαύμαστη δε η πολυπολικότης στα μεγάλα οργανικά μόρια που επιτρέπει την οικοδόμησι των εμβίων όντων. Στους ανεπτυγμένους οργανισμούς είναι εμφανεστάτη η πολυπολικότης. Επεκτείνεται όμως ακόμη πέρα των καθ' έκαστα οργανισμών και στις κοινωνικές ομάδες των οποίων καθιστά δυνατή την οργάνωσι.

Σε κάθε επίπεδο οργάνωσεως δημιουργούνται, με την εκμετάλλευσιν των θεμελιωδών νόμων και φυσικών σταθερών, νέες τάξεις αντικειμένων ή οργανισμών που διέπονται από καινοφανείς νόμους οι οποίοι επιτρέπουν την αλληλεπίδραση προς δημιουργίαν ακόμη ανωτέρας τάξεως αντικειμένων, που εμφανίζουν πάλι καινοτόμους νόμους συμπεριφοράς κ.ο.κ. Εκ των προτέρων δεν είναι δυνατόν να προβλεφθούν οι νομοτέλειες που θα διέπουν την αναδυόμενη ανώτερη τάξι δημιουργημάτων' ωστόσο οι νομοτέλειες αυτές βασίζονται στις νομοτέλειες που διέπουν τα κατωτέρων τάξεων συστατικά' όμως ο ανταγωγισμός, ενώ εξηγεί τις λεπτομέρειες των επί μέρους μηχανισμών, αδυνατεί να προβλέψει επαγωγικά την δόμησι, τις ιδιότητες και την συμπεριφορά του ανωτέρας τάξεως δημιουργήματος. Πολύ περισσότερο την εμφάνισιν της συνειδήσεως, των συνειδητών διανοητικών λειτουργιών, της ηθικής και του πολιτισμού. Υπάρχει, συνεπώς, από της χαμηλοτάτης οντότητος εις την κλίμακα

της υπάρξεως, εν σπέρματι, η πολικότης δομημένη τοιουτοτρόπως, ώστε δια συνεχών αναβαθμίσεων της δημιουργίας να σχηματίζεται ο υπαρκτός κόσμος και το, τις οίδε ποίο, απώτερο μέλλον. Είναι προφανές ότι άνευ ολίγων στοιχειωδών αλλά πανίσχυρων σε δυνατότητες νόμων ούτε η Δαρβίνειος επιλογή θα ίσχυε. Πώς, όμως, διαμορφώθησαν οι νόμοι; Υπάρχει Λόγος προς τούτο;

Η απάντησις στα έσχατα αυτά φιλοσοφικά ερωτήματα παραμένει κρυμμένη μέσα στον θαυμασμό αλλά και το δέος για το Τέλος (ως σκοπό και τέρμα) που συνέχει τον μελετητή, παρέχοντας χώρο εις την Πίστη.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Arntz W. et al.: Τι Στο "Μπιιπ" Ξέρουμε; Ορφέας, Αθήνα, 2006.
2. Βάρβογλης Χ.: Ιστορία και Εξέλιξη των Ιδεών στη Φυσική. Εκδόσεις Α.Π.Θ. Θεσσαλονίκη, 2005.
3. Barrow et al eds.: Η Ανθρωπική Αρχή. Λέξημα, Αθήνα 1999.
4. Γραμματικάκης Γ.: Η Αυτοβιογραφία του Φωτός. Πανεπ. Εκδ. Κρήτης, Ηράκλειο, 2005.
5. Cushing J.: Φιλοσοφικές Έννοιες στην Φυσική. Leader Books, Αθήνα, 2003.
6. Δανέζης Μ., Θεοδοσίου Στρ.: Η Κοσμολογία της Νόησης. Διάυλος, Αθήνα, 2003.
7. Dawkins.: Ο Τυφλός Ωρολογοποιός. Κάτοπτρο, Αθήνα 2001.
8. Grawford R.: Τι είναι Θρησκεία. Σαββάλας, Αθήνα, 2004.
9. Handerich T.: Πόσο ελεύθερος είσαι; Το Ζήτημα της Αιτιοκρατίας. Ιωλκός Αθήνα, 2007.
10. Howlking St., Mlodinow L. Ένα Συντομότερο Χρονικό του Χρόνου. Κάτοπτρο, Αθήνα, 2005.
11. Κανελλόπουλος Π.: Μεταφυσικής Προλεγόμενα. Βιβλ. Εστίας, Αθήνα, 2003.
12. Καπογιαννόπουλος Στ.: Η Οδύσσεια των Ανθρωπίνων Ερωτημάτων. Διάυλος, Αθήνα, 2004.
13. Κονταράτου Α.: Αναζητώντας Νόημα Ζωής. Γκοβόστης, Αθήνα, 2003.
14. Κονταράτου Α.: Υπαρξιακός Προβληματισμός και Επιστημονικές Προσεγγίσεις. Γκοβόστης, Αθήνα, 2004.
15. Λιγομενίδης Π.: Η Φλούδα του Βερίκοκου. Ελληνικά Γράμματα, Αθήνα, 2002.
16. Μανουσάκης Γ.: Η Σοφία του Κόσμου. Πατάκης, Αθήνα, 2006.
17. Μπαλογιάννης Στ.: Νευρολογία. Πουρνάρας, Θεσσαλονίκη, 2004.
18. Μπιτσάκης Ευτ.: Διαλεκτική και Νεώτερη Φυσική. Δαίδαλος, Αθήνα, 2001.
19. Μπιτσάκης Ε.: Η Φύση στη Διαλεκτική Φιλοσοφία. Ελληνικά Γράμματα, Αθήνα 2003.
20. Penrose R.: The Road to Reality. Vintage, London, 2005.
21. Penrose R.: Ο Νέος Αυτοκράτορας, Γκοβόστης, Αθήνα.
22. Penrose R.: Σκιές του Νου. Γκοβόστης, Αθήνα.
23. Redhead M.: Από τη Φυσική στη Μεταφυσική. Πανεπ. Εκδ. Κρήτης, Ηράκλειο, 2006.
24. Stannard R.: The God Experiment. Faber & Faber, London, 1999.
25. Ταμπάκης Ν.: Από τη Φυσική στη Μεταφυσική. Δαίδαλος, Αθήνα 2003.
26. Templeton JM.: How Large is God. Templeton, Philadelphia, 1999.
27. Wolfram St.: A New Kind of Science. Wolfram Med., Champaign, USA, 2002.

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ

### Σύμβολα

(1,4,5)IP3 69, 141

1-αμινο-2-υδροξυγλουανιδίνη 389

3-αμινοβενζαμίδη 392

37-αμινοξυ-νευροπεπτίδιο CGRP 264

5- υδροξυτρυπταμίνη 213

5-HT 13, 88, 195, 197, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 226, 227, 272, 336, 453, 455, 457

7-νιτροϊνδαζόλη 389

### Λατινικό αλφάβητο

#### A

AC 59, 61, 62, 64, 65, 66, 67, 69, 75, 89, 96, 200, 203, 209, 211, 221, 222, 234, 237, 239, 244, 246, 279, 307, 313, 339, 341, 342, 391, 470, 472, 476

ACEH 303, 320

ACTH 259, 278, 280, 283, 298

activators 101, 109, 126

ADH 25, 278, 309, 409, 473

ADMA 378, 448, 452

ADP 150, 151, 154, 157, 185, 203, 216, 231, 234, 235, 237, 239, 240, 244, 248, 336, 368, 375, 380, 395, 425, 435, 436, 440, 443, 455, 457, 468, 469

ADRF 343, 344

AID 136, 137, 188

AMP 7, 8, 9, 10, 19, 105, 113, 158, 234, 235

ANP 172, 276, 295, 311, 313, 325, 331, 399, 417

AP-1 279, 349, 398, 400

AVP 278, 279, 280

#### B

bFGF 459

BNP 271, 276, 277, 311, 313, 325, 401, 474

**C**

Ca<sup>2+</sup> 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 30, 34, 62, 65, 67, 69, 70, 73, 75, 80, 84, 85, 86, 96, 99, 101, 115, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 167, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 184, 185, 187, 188, 190, 200, 201, 202, 209, 210, 211, 213, 220, 221, 222, 237, 238, 240, 241, 242, 262, 269, 272, 276, 278, 279, 281, 282, 283, 293, 307, 310, 314, 318, 336, 337, 338, 339, 341, 344, 345, 346, 348, 349, 352, 358, 359, 361, 362, 363, 364, 368, 369, 370, 371, 376, 377, 379, 393, 394, 395, 401, 403, 422, 432, 437, 438, 439, 445, 451, 456, 457, 458, 460, 461, 470, 471, 474, 476, 477, 479

CaM 13, 15, 80, 89, 146, 151, 163, 164, 177, 184, 369, 380

cAMP 3, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 19, 61, 62, 65, 67, 73, 87, 113, 158, 161, 173, 200, 201, 203, 209, 210, 211, 213, 222, 231, 244, 245, 246, 249, 250, 264, 268, 272, 278, 279, 282, 300, 301, 336, 341, 342, 391, 401, 470, 471, 476

c-fos 405, 416

cGMP 3, 11, 12, 13, 14, 19, 30, 161, 172, 173, 185, 189, 204, 222, 231, 245, 246, 250, 272, 277, 313, 314, 318, 319, 325, 336, 338, 342, 362, 364, 367, 368, 369, 372, 373, 374, 377, 379, 390, 391, 401, 470, 478, 479

c-GMP 7, 8, 9

chaperon proteins 38

c-myc 405, 416

cNOS 358, 360, 361, 387

CNP 161, 269, 276, 277, 312–311, 313–312, 313, 316, 340–339, 342, 401

CO 312, 449

COX 244, 279, 300, 336, 338, 340, 344, 347, 349, 380, 385, 446, 457

CPI-17 159, 160, 184

CRAC 8, 15, 129, 142

Cu<sup>+</sup> 432, 433

CO 449

**D**

DAG 3, 4, 7, 8, 9, 11, 13, 63, 69, 71, 73, 80, 87, 89, 96, 100, 141, 143, 144, 146, 159, 202, 269, 271, 272, 276, 279, 363, 403, 428, 432, 476

DHA 462

DNA 30, 31, 63, 64, 72, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 110, 111, 112, 114, 116, 117, 119, 122, 123, 126, 231, 352, 363, 374, 375, 380, 381, 422, 423, 425, 432, 433, 436, 439

DOPA 194, 195, 198, 199, 206, 223, 224



**E**

ECE 281, 336, 398, 399, 402, 406, 407, 411, 412, 413, 414, 451, 474  
 EDCFs 14, 346  
 EDHF 12, 14, 277, 285, 336, 339, 344, 347, 349, 354, 369, 394, 446, 452, 456, 458, 463  
 EDIP 436  
 EDRF 12, 21, 240, 338, 340, 453  
 EGF 351, 424  
 enhancers 109  
 eNOS 89, 113, 114, 115, 204, 238, 336, 339, 348, 349, 358, 360, 362, 363, 364, 369, 372, 373, 378, 382, 384, 387, 388, 389, 436, 437, 450, 451, 453, 456, 457, 460, 470, 472, 479  
 ERAD 38, 41  
 exons 105, 109  
 Elk-1 349

**F**

FADH 371, 375  
 Fe<sup>2+</sup> 432, 433

**G**

GAPs 58  
 GC 245, 246, 314  
 GDP 9, 28, 37, 55, 56, 57, 58, 59, 75, 76, 94, 159, 162, 183, 247, 307  
 GEFs 159, 162, 184  
 GF 238, 242  
 GRKs 77, 78, 79, 87, 96, 101  
 GTP 9, 28, 33, 37, 56, 57, 58, 59, 69, 72, 73, 75, 76, 95, 99, 100, 102, 183, 222, 245, 247, 313, 314, 364, 400, 431, 438  
 G-πρωτεΐνη 9, 27, 28, 35, 37, 38, 39, 42, 45, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 64, 67, 73, 76, 77, 78, 79, 80, 87, 91, 93, 94, 95, 96, 132, 136, 158, 160, 162, 202, 211, 213, 234, 236, 237, 242, 247, 261, 264, 266, 272, 284, 286, 403, 483  
 G-πρωτεΐνης 10, 11, 28, 35, 38, 42, 45, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 74, 75, 76, 79, 80, 87, 93, 94, 95, 96, 132, 177, 241, 242, 247, 313, 483  
 G-πρωτεϊνών 52, 56, 77, 87, 93, 95, 132, 245, 306, 342  
 GTP 366, 367, 369, 373

**I**

IL-1 114, 452, 475

IL-1 $\beta$  312, 358, 436  
IL-2 114, 452, 469  
IL-6 114, 436, 469, 475  
iNOS 339, 352, 358, 360, 361, 362, 363, 369, 372, 377, 380, 381, 382, 384, 387,  
388, 389, 392, 435, 454, 456, 477  
introns 39, 41, 105, 109  
IP3 3, 7, 8, 9, 11, 13, 14, 63, 69, 70, 73, 75, 85, 89, 115, 129, 141, 146, 152, 153, 200,  
201, 202, 262, 266, 268, 276, 278, 318, 363

## **J**

JK 307

## **K**

K<sup>+</sup>, 166, 337, 340, 369, 409, 438

## **L**

LBD 106, 107, 109, 116, 117  
LBP 108, 123  
LDL 310, 312, 351, 354, 376, 401, 437, 445, 447, 449, 451, 452, 453, 460, 462,  
465  
LDL-ox 401  
L-αργινίνη 281, 336, 338, 358, 359, 361, 372, 378, 387, 388, 430, 448, 452, 453,  
457, 461, 477, 479, 481, 482  
L-καναβανίνη 389  
L-νορμομεθυλαργινίνη 388

## **M**

MAP 363, 426  
MAPK 75, 113, 242, 400, 424  
MLC 13, 151, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 184, 247, 478, 479  
MLCK 4, 7, 9, 13, 89, 151, 154, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 184, 200, 202, 209,  
318, 479  
mRNA 39, 41, 87, 104, 105, 109, 117, 119, 120, 293, 304, 307, 349, 398, 405, 410,  
429, 436, 452, 459, 475, 478  
MYPT1 478, 479

## **N**

Na<sup>+</sup> 7, 8, 17, 19, 26, 129, 130, 132, 139, 146, 152, 153, 166, 167, 202, 208, 255, 269,  
271, 273, 276, 281, 282, 296, 341, 371, 378, 403, 438, 450

NAADP 34, 128, 148, 149, 150, 187, 188  
 NAD 93, 148, 149, 150, 231, 375, 381, 419, 425, 429, 430, 435, 436, 438, 439, 440, 442  
 NADH 310, 329, 371, 375, 419, 433, 439  
 NADPH 310, 329, 339, 347, 349, 358, 359, 361, 377, 381, 388, 420, 421, 428, 429, 431, 438, 457  
 NEP 312, 318, 320, 321, 399  
 NF- $\kappa$ B 113, 114, 121, 349, 360, 380, 384, 392, 393, 398, 426, 427, 429  
 NO 25, 89, 238, 239, 269, 272, 276, 281, 285, 294, 310, 311, 328, 329, 336, 339, 342, 344, 347, 348, 354, 358, 360, 361, 362, 364, 373, 377, 384, 388, 393, 395, 396, 401, 402, 406, 435, 442, 450, 451, 453, 454, 456, 457, 458, 463, 470, 477, 479  
 nSmase 382, 384

## O

oxLDL 120, 312, 351, 445, 447, 451, 452, 453

## P

p22phox 349, 429, 430, 431, 438, 439  
 p38 MAPK 424  
 p67phox 429, 430  
 PAF 73, 350, 407, 459, 472, 478  
 PARP 425, 435, 439, 468  
 PARP-1 435, 439  
 PARS 375, 380, 381, 392  
 PDE 390  
 PDGF 216, 351, 428, 455, 459  
 PET 281  
 PGH2 12, 14, 336, 338, 340, 403, 404, 446, 457, 458, 469, 477  
 PGI2 12, 14, 25, 216, 217, 238, 239, 269, 285, 301, 310, 311, 319, 325, 336, 338, 339, 340, 342, 343, 344, 345, 347, 349, 350, 401, 402, 403, 404, 406, 407, 446, 452, 454, 455, 456, 458, 477  
 PGs 10, 300, 301, 383, 385  
 PHI 271  
 PHM 271  
 PI3K-Akt 382, 384  
 PIP2 7, 81, 144, 146, 159, 276, 400, 403, 476  
 PKA 61, 69, 87, 89, 154, 203, 209, 344, 470, 471, 476  
 PKC 7, 8, 15, 69, 70, 71, 73, 87, 89, 100, 141, 143, 146, 156, 159, 160, 161, 162, 173, 200, 202, 272, 279, 316, 317, 363, 400, 403, 427, 428, 431, 432, 438, 453, 476

PKG 161, 245, 344, 362, 367, 368, 391, 478  
PLA2 89, 276, 308, 338, 343, 347, 349, 403  
PLC 13, 59, 62, 63, 64, 68, 69, 70, 73, 80, 115, 141, 143, 145, 146, 159, 172, 173,  
184, 200, 201, 202, 208, 221, 234, 237, 239, 241, 242, 246, 272, 276, 279, 307,  
308, 313, 318, 363, 400, 402, 403, 432, 476  
POC 6, 10, 129, 132, 133, 135, 136, 139, 147, 213, 369  
PPRE 119, 120  
promoter 108, 398  
Protean agonism 42  
PTH 282, 283  
PKA 173, 200

## R

Ras 15, 116, 118, 242, 424  
Response Elements 108, 116  
RhoGDI 159, 160, 162, 183  
Rho-κινάση 162, 176, 184, 346, 347  
RIDs 117  
RLC 159, 162  
RNA πολυμεράση 104, 105, 109, 110, 112  
RNA πολυμεράση II 104  
ROC 6, 9, 10, 11, 129, 132, 143  
ROC-δίαυλοι 143  
rt-PA 352

## S

S- νιτροζυλαιμοσφαιρίνη 365  
SAIC 346  
scaffolding proteins 60, 62  
sGC 30, 204, 222, 245, 318, 338, 342, 364, 365, 366, 367, 369, 373, 377, 383, 389,  
452, 456, 470  
shear stress 240, 346, 348, 373  
silencers 109  
SOCCs 142, 362, 369  
SOD 377, 421, 429, 431, 434  
Src 80, 136, 202, 424  
STAT-1 349  
sTNF-R1 475  
sTNF-R2 475

S-μεθυλουρία 389  
S-νιτροζυλαιμοσφαιρίνη 365, 454

## T

TFG-β 360  
TGF- α 312  
TGF-α 312  
TGF-β 400, 452  
TNF-α 114, 120, 311, 351, 360, 380, 382, 384, 428, 436, 452, 469, 475, 478, 481  
tPA 351, 449, 450  
TRH 282  
TRP 15, 139, 140, 146  
TRPC-δίαυλοι 141, 142  
TSH 73, 283  
TXA2 14, 336, 339, 437, 446

## U

UPP 41

## V

V  
VCAM-1 426  
VEGF 113, 216, 312  
VIP 88, 260, 262, 270, 282, 291, 294

## Ελληνικό αλφάβητο

### A

α- τοκοφερόλη 433  
α1-αδρενεργική διέγερση 208, 273  
α2-αδρενεργική διέγερση 208  
AC 68, 69, 200  
ADP 234, 401  
α-αδρενεργικοί υποδοχείς 198  
αγγειοδραστικό Εντερικό Πεπτίδιο 88, 254, 260, 262, 270  
αγγειοτασίνη II 12, 13, 25, 36, 47, 48, 69, 88, 92, 114, 122, 178, 191, 215, 217, 254, 255, 259, 262, 266, 267, 268, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 278, 283, 288, 300, 301, 305, 306, 308, 309, 310, 317, 318, 319, 320, 321, 323, 325, 328, 336,

343, 345, 351, 352, 372, 378, 399, 401, 419, 424, 426, 427, 428, 429, 431, 434, 437, 438, 439, 446, 451, 452, 457, 458, 460, 468, 469, 471, 472, 473, 476, 481  
αγγειοτασίνη III 260, 310  
αγγειοτασίνη-(1-7) 302  
αγωνιστές 11, 24, 28, 32, 36, 37, 42, 43, 44, 48, 50, 51, 52, 55, 56, 65, 69, 73, 74, 87, 88, 91, 93, 96, 99, 103, 106, 108, 111, 117, 120, 121, 141, 152, 220, 221, 246, 285, 339, 363, 373, 391  
αγωνιστές των ιμιδαζολιδικών ανασταλτικών υποδοχέων 220  
αδενοσίνη 61, 67, 68, 72, 158, 171, 185, 200, 201, 203, 216, 218, 222, 231, 232, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 244, 246, 247, 249, 268, 272, 279, 300, 342, 336, 374, 380, 391, 401, 432, 425, 432, 455, 469, 470, 471, 476, 479  
αδενυλοκυκλάση 10, 39, 59, 60, 61, 64, 66, 67, 200, 201, 203, 213, 249, 264, 266, 286, 313, 342, 470, 471, 472, 476  
αδρεναλίνη 194, 210, 220, 301, 401  
αδρενεργικοί υποδοχείς 12, 193, 198, 208, 209, 220, 221, 240, 317, 469, 470, 471, 476, 483  
αδρενολουτίνη 210  
αδρενόχρωμα 210  
ακτομυοσίνη 4  
αλατριοπρίλη 321  
αλβουμίνη 433  
αλδοστερόνη 114, 221, 267, 274, 275, 277, 278, 299, 300, 308, 309, 310, 311, 317, 321, 404, 405, 406, 408, 411, 456, 469, 471, 473, 474, 476  
αλδοστερόνη 404, 405, 406, 408, 411, 456, 469, 471, 473, 474, 476  
AMEA 319, 324  
αμινογουανιδίνη 389  
αμπρισεντάνη 413  
αμρινόνη 246  
αμυλίνη 264  
αναστολείς του MEA 318, 320, 324, 325, 438, 439, 460  
αναστολείς των αγγειοπεπτιδασών 320  
αναστολείς των φωσφοδιεστερασών 246  
ANP 12, 29, 161, 221, 254, 261, 262, 271, 276, 277, 278, 312, 314, 315, 316, 317, 318, 325, 401, 405, 411  
ANP-υποδοχέας 314, 474  
ανταγωνιστές 14, 24, 50, 94, 219, 321  
αντιαρρυθμικά φάρμακα 222  
αντιδιουρητική ορμόνη 260, 261, 273, 274, 278, 309, 409  
αντίστροφοι αγωνιστές 24, 42, 50, 51, 73  
αντλία Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 130, 403

αντλία SERCA 129, 152, 165, 166, 362  
 αντλία του  $\text{Ca}^{2+}$  163  
 αντλία ανταλλαγή  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  281  
 αντλία  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  409  
 απελίνη 284  
 αποκλειστές των  $\beta 3$ -αδρενεργικών υποδοχέων 483  
 αποκλειστές των διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  175, 439, 445, 460  
 αποκλειστές των υποδοχέων AT1 της αγγειοτασίνης II 122, 318, 321, 481  
 αποσιωποητές 109  
 απτοσφαιρίνη 433  
 αρεστίνη 51, 77, 79, 81, 82, 83, 84, 86, 87  
 ασβέστιο 3, 6, 149, 161, 175, 176, 187, 283, 289, 371, 376  
 ασκορβικό οξύ 433, 482  
 AT-(1-7) 302, 306, 310  
 α-τοκοφερόλη 433  
 AT-II 399, 405, 406, 407, 408, 409, 410  
 ATP 7, 11, 21, 27, 59, 61, 65, 67, 130, 146, 151, 154, 157, 158, 163, 171, 172, 185,  
 186, 194, 203, 216, 222, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241,  
 243, 244, 247, 249, 250, 314, 344, 371, 374, 375, 381, 391, 425, 436, 440, 448,  
 471, 476, 479  
 αυξητικός παράγοντας 238, 242, 309, 424, 431, 438

## B

$\beta 1$ -αδρενεργική διέγερση 208, 268  
 $\beta 2$ -αδρενεργική διέγερση 209  
 $\beta 3$ -αδρενεργικοί υποδοχείς 209, 483  
 βARK 471  
 β-αδρενεργικοί αγωνιστές 246  
 β-αδρενεργικοί αποκλειστές 92, 221, 222, 278, 415, 440, 461, 482  
 β-αδρενεργικοί υποδοχείς 62, 88, 147, 148, 161, 177, 199, 203, 207, 210, 217,  
 221, 222, 469, 471, 472, 482, 483  
 βαζοπρεσίνη 259, 279, 310  
 βαλσαρτάνη 322  
 βαρντεναφίλη 390  
 βενζεπρίλη 319  
 βενζοδιαζεπίνη 176, 182  
 βεραπαμίλη 176  
 βισοπρολόλη 221, 295  
 βιταμίνη E 482  
 βιταμίνη C 390

βορτεζομίδη 97  
βοσεντάνη 413  
βραδυκινίνη 36, 254, 265, 273, 302, 303, 310, 318, 319, 320, 336, 340, 343, 345,  
364, 369, 399, 481

## Γ

γ-MSH 280  
γενιστίνη 387  
γκρελίνη 285, 454, 461  
γλιταζόνες 120, 121, 122  
γλυκαγόνη 262, 282  
γλυκοζαμινογλυκάνες 350  
γλυκόζη 117, 401, 433  
γλυκοκορτικοειδή 111, 114, 116, 392, 428  
γλυκοπρωτεΐνη IIb/IIIa 239, 244  
γονιδίωμα 36, 104, 407, 408  
γουανυλοκυκλάση 137, 245, 313, 314, 318, 366, 367

## Δ

δαφλαζίνη 246  
δεξαμεθαζόνη 116, 360, 392  
δεύτεροι αγγελιαφόροι 30, 57, 200, 363, 424  
δαιθυλστιλβεστρόλη 110  
διακυλογλυκερόλη 4, 70, 143, 144, 146, 200, 269, 363, 403, 428  
διαλυτή γουανυλοκυκλάση 30, 204, 222, 318, 338, 364, 366, 367, 377, 456, 470  
διατμητική τάση 346, 348, 349, 362, 364, 373, 401, 455  
δίαυλοι του  $\text{Ca}^{2+}$  3, 8, 13, 131, 132, 143, 163, 175, 269, 282, 337  
δίαυλοι του  $\text{K}^{+}$  13, 127, 128, 166, 169, 167, 168, 170, 171, 173, 175, 183, 213, 243,  
272, 277, 311, 336, 337, 340, 342, 362, 369, 403, 457, 458, 477  
δίαυλοι των υποδοχέων της ρυανοδίνης 147  
δίαυλοι ICRCs 143, 165  
διλαζέπη 246  
διλτιαζέμη 176  
διουρητικά φάρμακα 220  
διπυριδαμόλη 246  
διυδροπυριδίνες 175, 176, 181, 182  
διφωσφορική γουανοσίνη 28, 55  
δοβουταμίνη 246  
δοκοσαεξανοϊκό οξύ 462



δοπαμίνη 68, 72, 194, 195, 197, 206, 210, 278  
 δυσλειτουργία του ενδοθηλίου 272, 335, 349, 377, 388, 404, 407, 409, 426, 427,  
 428, 445, 447, 451, 453, 455, 456

## Ε

ΕΕTs 339, 341, 349, 369  
 ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες 14, 345, 349, 376, 401, 421, 423, 435, 449, 451, 458,  
 462, 477  
 εναλαπρίλη 303, 319, 321  
 ενδοθηλιακή δυσλειτουργία 281, 310, 395, 419, 446, 458, 460, 465, 467, 468,  
 477, 481, 482  
 ενδοθηλίνη 92, 269, 270, 272, 281, 309, 336, 345, 349, 350, 397, 398, 399, 400,  
 401, 402, 404, 405, 406, 407, 408, 411, 412, 413, 414, 415, 437, 445, 446, 447,  
 451, 452, 453, 457, 458, 459, 467, 469, 472, 473, 474, 476, 477, 480  
 ενδοθηλίνη I 272, 281, 309, 336, 349, 350, 400, 401, 404, 406, 408, 411, 412, 413,  
 414, 447, 451, 458, 467, 473  
 ενδοθήλιο 14, 15, 88, 89, 111, 127, 176, 204, 238, 239, 241, 245, 254, 262, 268,  
 269, 281, 310, 323, 335, 336, 337, 338, 343, 344, 346, 347, 350, 351, 352, 353,  
 354, 357, 363, 364, 365, 369, 370, 372, 373, 377, 378, 390, 391, 392, 397, 398,  
 402, 404, 405, 406, 409, 410, 424, 426, 430, 431, 434, 445, 446, 449, 450, 452,  
 453, 455, 459, 461, 475, 477, 479, 484  
 ενεργοποιητές 28, 35, 52, 55, 59, 65, 77, 79, 93, 95, 96, 108, 109, 110, 112, 116,  
 117, 118, 149  
 ενισχυτές 109  
 επιγαλλοκατεχίνη 387  
 ET-1 269, 270, 281, 336, 372, 397, 398, 399–398, 399, 401–399, 401, 402, 403,  
 404–403, 404, 405–404, 405, 406, 407, 408–407, 408, 409, 410–409, 410, 411,  
 412, 413, 414, 415, 426, 452, 453–452, 453, 454, 458, 474, 476  
 ευαισθητοποίηση στο ασβέστιο 4, 8, 73, 149  
 ευοδωτές των  $K^+$  διαύλων 184  
 ευωδοτές των διαύλων  $K^+Ca$  461

## Η

H- υποδοχείς 211  
 $H^+$  7, 8, 153, 172, 276, 281, 310, 371, 436

## Θ

θρομβίνη 336, 345, 372, 401, 428, 452, 457  
 θρομβομοδουλίνη 350

θρομβοξάνη 12, 159, 178, 211, 272, 336, 339, 340, 345, 346, 347, 403, 434, 448, 453, 457, 477

## I

ινσουλίνη 114, 120, 121, 123, 208, 209, 264, 281, 312, 364, 401  
ιντερλευκίνη-1β 312, 351, 358  
ινωδογόνο 239, 244  
IP3 30, 69, 70, 80, 84, 85, 97, 143, 144, 145, 147, 148, 200, 201, 269, 345, 363, 368, 403, 474  
ιρβεσαρτάνη 322, 439  
ισοπροστάνια 340, 343, 344, 346, 347  
ισραδιπίνη 176  
ισταμίνη 69, 210, 212, 271

## K

K<sup>+</sup> 7, 9, 10, 13, 127, 128, 130, 166, 167, 168, 170, 171, 172, 173, 175, 183, 184, 186, 213, 243, 269, 272, 277, 311, 336, 337, 340, 341, 342, 343, 344, 362, 369, 403, 436, 457, 458, 477  
καβεολίνη 115, 348, 360, 363  
καθεψίνη G 305, 319  
καλλικρεΐνη 267, 273, 343  
καλμοδουλίνη 4, 13, 80, 115, 147, 151, 155, 156, 158, 159, 160, 164, 174, 175, 177, 184, 201, 202, 358, 361, 363, 368, 470, 479  
καντεσαρτάνη 322  
καπτοπρίλη 303, 319, 321  
καρβεδιλόλη 221, 440, 461, 482  
καρδιακή ανεπάρκεια 208, 270, 284, 299, 300, 308, 390, 410, 411, 413, 434, 435, 458, 467, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 485  
καρκουμίνη 387  
καταλάση 432, 434, 435, 439  
κατεχολαμίνες 36, 88, 191, 193, 194, 195, 198, 199, 201, 204, 208, 210, 215, 220, 221, 224, 254, 257, 258, 259, 287, 305, 308, 309, 310, 319, 410, 411, 470, 469, 471, 472, 476  
κιναπρίλη 319  
κινάσες GRK 77–75, 77, 79, 80, 87, 96, 483  
κινάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης 151, 154, 156  
κινινάση II 302  
Κινίνες 254, 265, 269

Κινίνες και βραδυκινίνη 265  
 κλαθρίνη 81, 86, 87, 202  
 κλονιδίνη 220  
 κλοπιδογρέλη 248  
 κολλεκτρίνη 304  
 κυκλοοξυγενάση 336, 349, 380, 396, 446, 457  
 κυκλοσπορίνη 401, 412  
 κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες 60, 141, 142, 144

## Λ

λακτοφερρίνη 433  
 λασιδιπίνη 176  
 λιδοφλαζίνη 246  
 λιποϋπεροξειδική ρίζα 420  
 λισινοπρίλη 303, 319, 320  
 λοσαρτάνη 322, 439  
 λοσαρτάνη 429, 434

## Μ

ΜΑΡΚ 238, 307  
 ΜΕΑ 267, 270, 301, 302, 303, 304, 305, 310, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 343, 345, 352, 372, 399, 405, 406, 426, 427, 429, 438, 439, 448, 450, 460, 472, 473, 481  
 μεθυλεστέρας της νιτροαργινίνης 388  
 μεθύλ-ντόπα 220  
 μεθυσσεργίδη 221  
 μεμβρανική γουσυλοκυκλάση 314  
 μεταβολικό σύνδρομο 122, 281  
 μεταγραφή 24, 30, 103, 104, 108, 109, 110, 111, 112, 114, 119, 122, 123, 127, 128, 349, 363, 386, 392  
 μετοπρολόλη 221  
 μικρές πυκνές LDL 449

## Ν

Na<sup>+</sup> 8, 9, 72, 134, 163, 206, 277, 309, 310, 376, 409, 451  
 νατριουρητικά πεπτιδία 161, 191, 261, 276, 299, 311, 316, 325, 401, 446  
 νεμπιβολόλη 221, 246, 440, 461  
 νευροκινίνες 254, 262  
 νευρομεδίνη U-25 284

νευροπεπτίδια 254, 257, 258, 259, 262, 271  
 Νευροπεπτίδιο Υ 254, 260, 262, 271, 272  
 Νευροτασίνη 271  
 Νεφρικό σύστημα κινινών 273  
 νικορανδίλη 184, 185  
 νικοτίνη 448, 449, 450  
 νιτρικά φάρμακα 245, 246, 353, 383, 389  
 νιτριτοειδές στρες 425, 435, 439  
 νιτρώδη 185, 245, 246, 353, 383, 386, 389, 390  
 νιτρώδη και νιτρικά φάρμακα 245, 246, 353, 389  
 νιφεδιπίνη 176, 352  
 ΝΟ ή οξειδίο του αζώτου 12, 14, 30, 89, 111, 113, 115, 161, 176, 193, 204, 211, 215, 216, 217, 221, 222, 238, 240, 245, 246, 264, 268, 272, 277, 281, 308, 310, 318, 319, 323, 325, 336, 338, 339, 343, 344, 345, 347, 348, 349, 350, 351, 353, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 404, 407, 414, 419, 421, 422, 424, 425, 428, 429, 430, 434, 435, 436, 437, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 460, 461, 462, 468, 469, 470, 472, 477, 478, 479, 481, 482  
 νοραδρεναλίνη 12, 13, 88, 194, 195, 196, 197, 210, 215, 217, 218, 240, 241, 259, 260, 262, 268, 269, 283, 301, 309, 452, 469, 470, 471, 476  
 νοσισεπτίνη 286  
 νουκλεοτιδική διφωσφορική κινάση 56  
 NOXs 429, 430, 431, 438

### Ξ

ξανθίνες 246

### Ο

οιστραδιόλη 110, 111  
 οιστρογόνα 24, 111, 113, 114, 115, 360, 388  
 ομοκυστεΐνη 447, 449  
 οξειδάσες NADPH και NADH 310  
 οξειδάση του κυττοχρώματος C 375  
 οξειδωτικές ενώσεις 420  
 ουρικό οξύ 433  
 ουσία P 271  
 οξειδωτικό stress 419, 424, 426, 438, 439  
 οξειδωτικό ανίον 349

οξειδωτικά φάρμακα 390  
 Οπιοειδή 254, 259, 262  
 ορφανοί υποδοχείς 36, 92  
 ουδέτερη ενδοπεπτιδάση 318, 399, 446  
 ουμπικουΐτίνη 40, 41, 84, 85, 86, 97, 116  
 ουροκορτίνες 88, 286  
 ουροτασίνη-II 284, 285, 452, 453, 454, 461

## Π

παράγοντας p21 372  
 παράγωγα της σουλφονουλουρίας 185  
 παραθορμόνη 282, 283  
 πεπτιδάσες 287  
 πεπτίδια 73, 88, 94, 95, 161, 191, 218, 245, 253, 254, 257, 258, 259, 261, 262, 264, 271, 276, 284, 286, 287, 288, 289, 294, 299, 311, 313, 316, 318, 325, 401, 446, 474  
 πεπτίδια CRFs 286  
 Πεπτίδια Σχετιζόμενα προς το Γονίδιο της Καλσιτονίνης 264  
 πεπτιδικές ορμόνες 36, 191, 254, 273, 289  
 πεπτιδικοί μεταβιβαστές 254, 257  
 Πεπτίδιο Ιστιδίνης-Ισολευκίνης 271  
 Πεπτίδιο Ιστιδίνης-Μεθειονίνης 271  
 Πεπτίδιο Σχετιζόμενο με το Γονίδιο της Καλσιτονίνης 88, 260  
 πινδολόλη 221  
 πιτασιδίλη 184  
 πολυμορφισμοί 222, 303, 429, 470, 482  
 πολυμορφισμός 97, 102, 210, 222, 225, 303, 429, 470, 482  
 πολυφαινόλες 387  
 πουρινικά νουκλεοτίδια 231, 243  
 πραζοσίνη 221, 246  
 προαγωγή 108, 114, 119, 360, 398  
 προβουκόλη 482  
 Προλακτίνη 255, 283  
 προπρανολόλη 221  
 προσδέτες 24, 29, 42, 55, 88, 103, 104, 117, 121, 272, 306, 316  
 προσταγλανδίνες 12, 14, 108, 262, 273, 310, 339, 340, 383  
 προσταγλανδίνη H2 336, 446  
 προσταγλανδίνη PGH2 340, 404, 477  
 προστακυκλίνη 14, 119, 216, 217, 228, 238, 250, 269, 276, 301, 319, 325, 336, 338, 339, 340, 342, 344, 353, 401, 402, 407, 446, 454, 455, 457, 458, 477

πρωτεΐνες HSPs 161  
 πρωτεΐνες RAMPs 88, 195, 264, 266  
 πρωτεΐνες RGS 58, 72, 74, 75, 76  
 πρωτεΐνες μεταφορείς ENT 244  
 πρωτεΐνη ADSI 134, 147, 148  
 πρωτεΐνη C 450  
 πρωτεΐνη mAKAP 147  
 πρωτεΐνη RhoA 159, 162  
 πρωτεΐνη C 350  
 πρωτεΐνη FKBP506 143, 165  
 πρωτεϊνική κινάση C 7, 69, 70, 141, 143, 146, 200, 363, 403, 428  
 πρωτεϊνική κινάση A 65, 67, 200, 249, 368  
 πρωτεϊνική σύνθεση 104, 125  
 πρωτεϊνική κινάση G 245, 367  
 πρωτεΐνες ZO-1 449  
 πρωτεΐνες μεταφορείς ANTI 246  
 πυκνογενόλη 419, 437, 438, 443, 461, 465

## P

Ρ-αγκύλης 134, 135  
 PAI-I 351, 449–448, 450, 460  
 ραμπρίλη 319  
 ρενίνη 12, 221, 262, 266, 267, 268, 269, 271, 274, 275, 276, 277, 278, 293, 294, 299, 300, 301, 302, 304, 305, 317, 319, 321, 405, 406, 408, 409, 411, 456, 458, 469, 471, 472, 473, 474, 476  
 ρεομελανίνη 210  
 PIP2 428  
 PIP2 63, 145, 172, 363  
 PKC 78, 80, 87, 172  
 PKA 65, 67, 68, 78, 87, 143, 147, 148, 151, 158, 161, 165, 166, 172, 177, 202, 245, 279, 368  
 ρουανοδίνη 8, 30, 129, 143, 147, 148, 149, 152, 153, 165, 368, 471, 476, 482

## Σ

σαλικυλικά 392  
 σαρκοπλασματικό 3, 4, 6, 9, 148, 153, 158, 209, 210, 368, 471, 479  
 σελιπρολόλη 221, 246  
 σερούλοπλασμίνη 432  
 σεροτονινεργικοί υποδοχείς 213

σιλδεναφίλη 246, 390, 391  
 σιταχεντάνη 413  
 σορσίνη 147  
 στατίνες 438, 439, 460, 461  
 στοιχεία ανταπόκρισης 31, 108, 116, 119  
 συν-ενεργοποιητές 108, 109, 110, 112, 116, 117, 118  
 συνθετάση του NO 113, 115, 336, 358, 360, 361, 362, 384, 429, 430, 435, 453,  
 454, 456, 457, 479  
 συν-καταστολείς 109, 110, 112, 117, 118  
 σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης 299, 456  
 σύστημα Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 208  
 σωματοστατίνη 254, 260

## T

TGF 351  
 TGF-β 351  
 τακρολίμους 412  
 ταμοξιφένη 110  
 τανταλαφίλη 390  
 Ταχυκινίνες ή νευροκινίνες 260  
 τεζοσεντάνη 413  
 τελμισαρτάνη 122, 322  
 τετραϋδροβοιοπτερίνη 384, 388, 430, 457, 477  
 τικλοπιδίνη 248  
 TNF-α 312, 459  
 τομέας CSD 134  
 τρανσφερίνη 433  
 τριμεταζιδίνη 439, 461  
 τριφωσφορική γουανοσίνη 28, 55, 366  
 τροπονίνη 482  
 TXA2 12, 340, 345, 403, 434, 437, 458, 477

## Υ

υδροξυλική ρίζα 420  
 υδροϋπεροξειδική ρίζα 420  
 υδροξύλιο 375, 421  
 υοχιμβίνη 246  
 υποχλωριώδες οξύ 420  
 υπεροξειδίο του υδρογόνου 420

υπεροξειδική δεσμουτάση 431  
υπεροξειδικό ανιόν 310, 336, 358, 370, 371, 375, 377, 381, 419, 420, 421, 422, 424, 425, 427, 428, 429, 430, 434, 435, 446, 457, 458  
υπεροξειδίο του υδρογόνου 370, 424, 434  
υπεροξεινιτρική ρίζα ή υπεροξεινιτρώδες 336, 358, 373, 377, 420, 421, 422, 425, 434, 435, 439, 446, 450, 452, 454, 457  
υποδοχέας CD36 120  
υποδοχέας ERA των οιστρογόνων 110  
υποδοχέας Mas 306  
υποδοχέας του CNP 316  
υποδοχείς 1, 3, 9, 10, 11, 12, 13, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 47, 51, 52, 62, 64, 67, 68, 69, 70, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 79, 81, 82, 84, 86, 87, 88, 89, 92, 95, 96, 103, 104, 106, 107, 108, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 126, 128, 129, 132, 134, 140, 141, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 152, 153, 159, 161, 178, 183, 184, 185, 186, 193, 194, 196, 198, 199, 200, 201, 203, 208, 209, 211, 213, 215, 220, 221, 223, 226, 234, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 256, 257, 258, 259, 262, 263, 264, 266, 267, 272, 278, 281, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 300, 306, 307, 309, 310, 311, 312, 313, 316, 317, 320, 322, 325, 326, 336, 339, 342, 343, 345, 351, 363, 368, 379, 384, 388, 390, 397, 401, 402, 403, 404, 412, 413, 414, 432, 434, 449, 452, 453, 469, 470, 471, 472, 474, 475, 476, 483  
υποδοχείς ERA και ERB 111  
υποδοχείς GPCR 13, 36, 38, 39, 41, 42, 43, 47, 48, 49, 50, 51, 56, 64, 69, 71, 82, 88, 90, 91, 92, 117, 119, 121, 160, 161, 244, 264, 266, 272, 284, 286, 379  
υποδοχείς PPARs 106, 108, 121  
υποδοχείς της αγγειοτασίνης II 306  
υποδοχείς της τριφωσφορικής ινοσιτόλης 30  
υποδοχείς των νατριουρητικών πεπτιδίων 312  
υποδοχείς των οιστρογόνων 103, 104, 111, 123  
υποδοχείς NMDA 379, 383  
υποδοχέων της (1,4,5)IP3 97  
υποδοχείς της ρυανοδίνης 143, 147, 149, 368

**Φ**

φαιτολαμίνη 221, 246, 391  
φαινυλακυλαμίνες 175, 176  
φασιδοτρίλη 321  
φελοδιπίνη 176  
φιβράτες 121  
φλαβονοειδή 437, 443, 461, 465



φλοιστρόπος ορμόνη 283  
φυλικό οξύ 388  
φωσφατάση της μυοσίνης MLCP 162  
φωσφολαμβάνη 166, 368, 482  
φωσφολιπάση 13, 59, 62, 63, 64, 70, 80, 115, 143, 146, 200, 201, 213, 234, 238,  
241, 242, 307, 313, 340, 363, 402, 403  
φωσφολιπάση C 13, 59, 62, 63, 64, 70, 80, 115, 143, 146, 200, 201, 213, 234, 241,  
242, 307, 313, 363, 402  
φωσφοριδόνη 413–412

**Χ**

χρομαλίνη 184  
χυμάσες 305, 319, 407

**Ω**

ω-3-λιπαρά οξέα 462













