

The role of vasoactive hormones in pathogenesis of vasovagal syncope

Úloha vazoaktívnych hormónov v patogenéze vazovagálnej synkopy

Lazúrová Z^{1,2}, Lukáčová M¹, Popovňáková M³, Wedel MA⁴, Mitro P¹

¹*kardiologická klinika UPJŠ LF a VÚSCH, Košice, Slovenská republika*

Lazurova Z, Lukacova M, Popovnakova M, Wedel MA, Mitro P. **The role of vasoactive hormones in pathogenesis of vasovagal syncope.** Cardiology Lett. 2023;32(6):373–379

Abstract. *Background:* Vasovagal syncope (VVS) is the most common type of syncope. In the pathogenesis, the excessive activation of the autonomic nervous system plays a role, but there is also increasing evidence of the significant role of neurohumoral mechanisms. An imbalance in the levels of vasoactive hormones which are involved in the regulation of blood pressure, such as catecholamines, adenosine, neuropeptide Y (NPY), endothelin (ET-1), angiotensinogen (ANG) or apelin (APE), and others, may participate in the manifestation of VVS.

Aim: To clarify the importance of vasoactive hormones – NPY, ET-1, ANG and APE in the pathogenesis of VVS.

Patients and methods: 69 patients with a history of at least one syncope who underwent the head-up tilt (HUT) test as part of the differential diagnosis of syncope were included in the study. The group consisted of 41 women and 28 men, the average age was 39.6 + 3.2 years. All patients underwent venous blood sampling to determine the levels of NPY, ET-1, ANG and APE before HUT and immediately after HUT. Vasoactive hormones were determined by ELISA methodology.

Results: HUT was positive in 50 patients, in 19 there was no induction of VVS during HUT. We found significantly lower levels of NPY at the onset of syncope in patients with positive HUT compared to patients with negative HUT (36.7 ± 2.1 vs 44.4 ± 3.2 , $p=0.02$): basal values of NPY did not differ significantly. Basal ANG was lower in patients who manifested VVS in HUT (251.2 ± 9.9 vs 289 ± 15.8 , $p=0.03$). ANG values after HUT were not significantly different. The levels of ET-1 and AP before or after HUT were not significantly different between the patient group and the control group.

Conclusion: Reduced levels of vasoconstrictors responsible for maintaining blood pressure probably participate in the development of VVS. Based on the results of our study, it can be

Z¹ kardiologickej kliniky UPJŠ LF a VÚSCH, a. s., Košice, ²4. internej kliniky UPJŠ LF a UNLP, Košice, ³Laboratória Medirex a. s., Košice a ⁴Lekárskej fakulty UPJŠ, Košice, Slovenská republika
Do redakcie došlo dňa 16. októbra 2023; prijaté dňa 2. novembra 2023

Autor pre korešpondenciu: Prof. MUDr. Peter Mitro, PhD., 1. Kardiologická klinika UPJŠ LF a UNLP, Ondavská 8, 040 01 Košice, Slovenská republika, e-mail: peter.mitro@upjs.sk

assumed that defective compensatory production of neuropeptide Y during orthostasis could be involved in the pathogenesis of VVS. Also, lower basal angiotensin levels may predispose these patients to hypotension and syncope. Fig. 4, Tab. 1, Ref. 20, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Key words: vasovagal syncope – head-up tilt test – neuropeptide Y – endothelin angiotensinogen – apelin

Lazúrová Z, Lukáčová M, Popovňáková M, Wedel MA, Mitro P. **Úloha vazoaktívnych hormónov v patogenéze vazovagálnej synkopy.** Cardiology Lett. 2023;32(6):373–379

Abstrakt. Úvod: Vazovagálna synkopa (VVS) je najčastejším typom synkopy. V patogenéze sa uplatňuje predovšetkým nadmerná aktivácia autonómneho nervového systému, avšak pribúda dôkazov aj o významnej úlohe neurohumorálnych mechanizmov. Dysbalancia v hladinách vazoaktívnych hormónov, ktoré sa podieľajú na regulácii krvného tlaku, ako napríklad katecholamíny, adenosín, neuropeptid Y (NPY), endotelín (ET-1), angiotenzinogén (ANG) alebo apelin (APE) a ďalšie, môže participovať pri prejavoch VVS.

Cieľ: Objasniť význam vazoaktívnych hormónov – NPY, ET-1, ANG a APE v patogenéze VVS.

Súbor a metódy: Do štúdie bolo zahrnutých 69 pacientov s anamnézou aspoň jednej synkopy, ktorí podstúpili head-up tilt (HUT) test v rámci diferenciálnej diagnostiky synkopy. Súbor tvorilo 41 žien a 28 mužov, priemerný vek bol $39,6 \pm 3,2$ rokov. Všetkým pacientom bol realizovaný odber venóznej krvi na stanovenie hladín NPY, ET-1, ANG a APE pred HUT a bezprostredne po HUT. Vazoaktívne hormóny boli stanovené metódou ELISA.

Výsledky: HUT bol pozitívny u 50 pacientov, u 19 v priebehu HUT nedošlo k navodeniu VVS. Zistili sme významne nižšie hladiny NPY pri vzniku synkopy u pacientov s pozitívnym HUT v porovnaní s pacientmi s negatívnym HUT ($36,7 \pm 2,1$ vs. $44,4 \pm 3,2$, $p = 0,02$), bazálne hodnoty NPY sa význačne neodlišovali. Bazálne bol ANG nižší u pacientov, u ktorých sa prejavila VVS v HUT ($251,2 \pm 9,9$ vs. $289 \pm 15,8$, $p = 0,03$). Hodnoty ANG po HUT sa významne neodlišovali. Hladiny ET-1 a AP pred, ani po HUT, neboli význačne rozdielne medzi skupinou pacientov a kontrolným súborom.

Záver: Znížené hladiny vazokonstriktorov zodpovedných za udržiavanie tlaku krvi pravdepodobne participujú pri vzniku VVS. Na základe výsledkov našej štúdie možno predpokladať, že v patogenéze VVS by sa mohla podieľať defektná kompenzačná produkcia neuropeptidu Y pri ortostáze. Takisto bazálne nižšie hladiny angiotenzínu môžu predisponovať týchto pacientov k hypotenzii a synkope. Obr. 4, Tab. 1, Lit. 20, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Kľúčové slová: vazovagálna synkopa – head-up tilt test – neuropeptid Y – endotelín – angiotenzinogén – apelin

Synkopa je definovaná ako prechodná porucha vedomia spôsobená tranzientnou hypoperfúziou mozgu, charakterizovaná náhlym začiatkom a krátkym trvaním so spontánnou úpravou stavu, typicky sprevádzaná stratou posturálneho tonusu (1). Najčastejšou príčinou synkopálneho stavu je vazovagálna reakcia, ktorá vedie k poklesu krvného tlaku a/alebo spomaleniu až prechodnej zástave srdcovej činnosti v dôsledku aktivácie vágového reflexu. Vyskytuje sa najmä u mladých ľudí, s vekom jej prevalencia klesá. Prognosticky ide o najpriaznivejšiu formu synkopy, najväčšie riziko pre týchto

pacientov predstavuje len riziko spojené s možným úrazom pri strate posturálneho tonusu (1, 2, 3). Recidivujúce synkopy a presynkopy však môžu významne znižovať kvalitu života pacientov.

Presné patofyziologické mechanizmy vazovagálnej synkopy (VVS) nie sú objasnené, pravdepodobne sú výsledkom komplexného pôsobenia autonómneho nervového systému (aktivácie parasympatika a zároveň inhibície sympatikovej aktivity) a viacerých hormonálnych pôsobkov, z ktorých najviac prác sa doposiaľ venovalo sympatoadrenálnemu systému a adenosínergickému

systému, avšak popisuje sa aj úloha nátriuretických peptidov, systému renín-angiotenzín-aldosterón, vazopresínu a možnú úlohu môžu zohrávať aj ďalšie tkanivové vazoaktívne hormóny, ako napríklad endotelín, galanín, neuropeptid Y, apelín, adrenomedulín a pod. (4, 5, 6, 7).

Cieľ

Hlavnými cieľmi tejto štúdie je objasniť význam vazoaktívnych hormónov – neuropeptidu Y (NPY), apelínu (APE), endotelínu-1 (ET-1) a angiotenzinogénu (ANG) v patogeneze VVS. V užšom zmysle porovnať ich hladiny medzi pacientmi s VVS verifikovanou v HUT (head-up tilt) teste a kontrolnou skupinou jedincov, ktorí mali tento test negatívny a sledovať prípadnú dynamiku v hladinách hormónov v priebehu HUT.

Súbor

Do štúdie bolo zahrnutých 69 pacientov s anamnézou aspoň jednej synkopy, ktorí podstúpili HUT test v rámci diferenciálnej diagnostiky synkopy. Súbor tvorilo 41 žien a 28 mužov, priemerný vek bol $39,6 \pm 3,2$ rokov.

V súbore pacientov sa nachádzali najmä mladší jedinci, respektíve osoby bez prítomnosti iných závažnejších komorbidít. Väčšina pacientov mala fyziologický EKG náález, respektíve klinicky nevýznamné chronické zmeny (napríklad blok pravého Tawarovho ramienka), u starších pacientov nad 50 rokov bol podmienkou normálny echokardiografický náález, bez štrukturálneho poškodenia srdca. V diferenciálnej diagnostike mala väčšina zúčastnených pacientov realizovaný aj 24-hodinový EKG Holter monitoring, aspoň základné neurologické vyšetrenie, a taktiež základné laboratórne testy (krvný obraz a základné biochemické vyšetrenie). Medzi exklúzne kritériá sme zaradili akékoľvek štrukturálne ochorenia srdca, stavy po prekonaní infarktu myokardu, neurologické ochorenia, poruchy srdcového rytmu, neliečené poruchy funkcie štítnej žľazy, prítomnosť onkologických ochorení alebo anémie a liečbu inhibítormi angiotenzín-konvertujúceho enzýmu a sartanmi.

Všetci pacienti zahrnutí do štúdie podpísali informovaný súhlas. Výskum schválila Etická komisia LF

UPJŠ, Etická komisia VÚSCH, a. s. a Etická komisia UNLP.

Metodika

Head-up tilt test (HUT)

HUT test nazývaný aj test na naklonenej rovine alebo polohový test bol realizovaný pri štandardných podmienkach, v súlade s platnými odporúčaniami ESC, podľa tzv. talianskeho protokolu. Vyšetrenie sa uskutočnilo v ranných a doobedňajších hodinách, bez vynechania prípadnej chronickej liečby pacienta. Pacienti od večera nesmeli piť kávu ani iné nápoje s obsahom kofeínu, ani nápoje a potraviny obsahujúce teofylíny.

Pred začatím vyšetrenia sme všetkým pacientom zaviedli periférnu venóznú kanylu, ktorá slúžila na odber krvi a taktiež z bezpečnostnej indikácie, pre prípad potreby aplikácie liečiv počas testu.

Po zabezpečení cievného prístupu bol pacient počas 20 minút v horizontálnej polohe až do začatia vyšetrenia. HUT vyšetrenie pozostávalo z dvoch fáz – pasívnej a aktívnej. V súlade s tzv. Talianskym protokolom test prebiehal v 60° uhle, pasívna fáza trvala 20 minút, v prípade, ak sa u pacienta nerozvinula vazovagálna reakcia, plynule sme pokračovali do aktívnej alebo tzv. provokovanej fázy, po podaní 400 ug nitroglycerínu sublinguálne. Test sme ukončili pri navodení vazovagálnej synkopy, respektíve presynkopy. V prípade negatívneho výsledku sme test ukončili po 15 minútach od podania nitroglycerínu (8).

Počas celého vyšetrenia sa pacientom kontinuálne monitorovalo EKG a tlak krvi sa meral v úvode každú minútu, neskôr v 5-minútových intervaloch.

Za pozitívny výsledok HUT testu sa považovalo navodenie vazovagálnej reakcie v pasívnej alebo stimulovanej fáze, v podobe presynkopy alebo až úplnej straty vedomia, pri súčasnej korelácii symptómov s poklesom krvného tlaku alebo poklesom srdcovej frekvencie.

Výsledok HUT testu sa hodnotil podľa VASIS klasifikácie (tabuľka 1) (9).

Odber krvi

Všetkým pacientom zahrnutým do štúdie sa uskutočnil odber venóznej krvi na stanovenie hladín vazokon-

Tabuľka 1 VASIS klasifikácia typov hemodynamickej odpovede v HUT teste

VASIS typ	SF a TK pri synkope v HUT
Typ 1 – zmiešaný typ	Pokles TK + pokles SF SF nad 40/min alebo pod 40/min v trvaní menej ako 10 s
Typ 2a – kardioinhibičný typ bez asystólie	Pokles SF pod 40/min v trvaní viac ako 10 s
Typ 2b – kardioinhibičný typ s asystóliou	Asystólia v trvaní viac ako 3 s
Typ 3 – vazodepresorický typ	Pokles TK Pokles SF o menej ako 10 % z max. SF pri synkope

SF – srdcová frekvencia, TK – tlak krvi

strikčných pôsobkov (NPY, ET-1, ANG) a vazodilatačných pôsobkov (APE).

Pacientom podstupujúcim HUT test sa odber krvi realizoval pred začiatkom vyšetrenia, po minimálne 10 minútach horizontálnej polohy a druhý odber bol bezprostredne po ukončení testu. V prípade pozitivity v čase symptómov (presynkopy, respektíve synkopy), alebo po ukončení vyšetrenia po 15 minútach aktívnej fázy HUT testu, ak išlo o negatívny výsledok. Po odbere krvi pred začatím vyšetrenia pacienti boli ďalších aspoň 15 minút v pokoji v horizontálnej polohe, aby sa odbúral prípadný stresový efekt odberu krvi a zavedenia periférnej intravenózne kanyly, ako možného spúšťača sympatikového systému, čo by mohlo viesť k prípadnému skresleniu výsledku testu.

Laboratórne vyšetrenia

Hladina NPY, ET-1, ANG a apelínu v sére bola stanovená metódou sendvičovej ELISA. Ako reader na odčítavanie absorbie výsledného produktu sa použil prístroj Opsys MR X (Dynex). Použité boli expe-

rimentálne diagnostické súpravy od Cloud-Clone Corp. (TX77494, USA).

Štatistické spracovanie

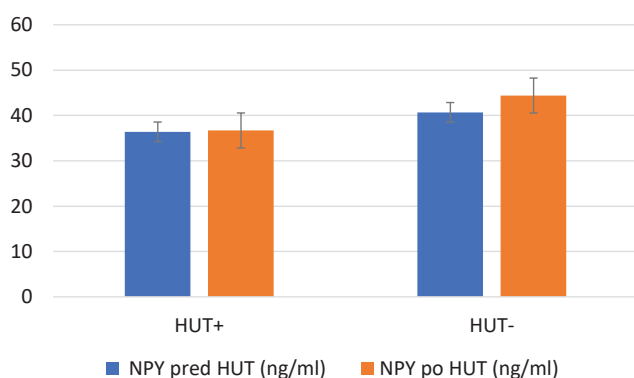
Na štatistickú analýzu dát sme použili program JMP verzia 13.0.0 (SAS Institute, North Carolina, USA). Priemerné hodnoty sú uvedené ako XY + SEM. Premenné s abnormálnou distribúciou hodnôt boli logaritmicky transformované. Porovnanie priemerných hodnôt medzi dvoma skupinami sa realizovalo nepárovým Studentovým T-testom, v prípade zistenia významných rozdielov v smerodajných odchýlkach sa použil Welchov test. Na posúdenie štatistickej signifikantnosti zmien v hladinách sledovaných hormónov v rámci jednej skupiny pred a po HUT teste v závislosti od jeho pozitivity sa použil párový T-test. Za signifikantný výsledok v štatistických testoch sme považovali mieru pravdepodobnosti p menej ako 0,05.

Výsledky

Z celého súboru pacientov malo 50 pozitívny HUT (HUT+ skupina) a u zvyšných 19 v priebehu HUT nedošlo k navodeniu VVS (HUT- skupina). Vekovo sa od seba štatisticky neodlišovali ($38,1 \pm 2,7$ vs. $41,1 \pm 2,1$ rokov, $p = \text{NS}$).

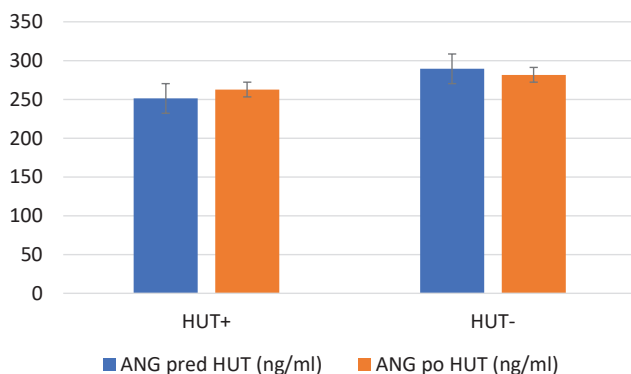
Bazálne hodnoty NPY boli nižšie u HUT+ pacientov v porovnaní s HUT- pacientmi, rozdiel ale nebol štatisticky významný ($36,4 \pm 1,5$ vs. $40,7 \pm 2,4$, $p = \text{NS}$). Po ukončení testu mali HUT+ jedinci významne nižší NPY než pacienti, u ktorých nedošlo k navodeniu VVS ($36,7 \pm 2,1$ vs. $44,4 \pm 3,2$, $p = 0,028$) (obrázok 1).

V prípade ANG sme opäť zistili nižšie hladiny u HUT+ pacientov. Významne nižšie boli bazálne hladiny u HUT+ skupiny ($251,2 \pm 9,9$ vs. $289 \pm 15,8$, $p = 0,03$), provokované hladiny po HUT sa význačne neodlišovali ($262,7 \pm 6,2$ vs. $281,7 \pm 9,1$, $p = \text{NS}$) (obrázok 2).



Obrázok 1 Bazálne a stimulované hladiny neuropeptidu Y počas HUT

NPY – neuropeptid Y, HUT – head-up tilt test



Obrázok 2 Bazálne a stimulované hladiny angiotenzinogénu počas HUT

ANG – angiotenzinogén, HUT – head-up tilt test

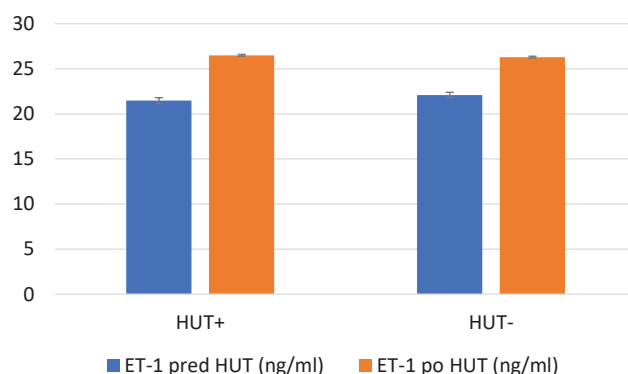
Hodnoty ET-1 vykazovali trend k nižším hladinám u HUT+ pacientov, významné rozdiely však medzi HUT+ a HUT- pacientmi neboli prítomné: pred HUT ($21,5 \pm 0,9$ vs. $22,1 \pm 1,3$, $p = \text{NS}$), po HUT ($26,3 \pm 1,7$ vs. $26,5 \pm 1,1$, $p = \text{NS}$) (**obrázok 3**).

Z vazodilatačne pôsobiacich hormónov sme vyšetřovali hladiny apelínu, ktorý predstavoval pilotný výskum. Hodnoty apelínu boli porovnateľné medzi HUT+ a HUT- skupinou (pred HUT: $11,5 \pm 0,4$ vs. $11 \pm 0,6$; po HUT: $11,4 \pm 0,4$ vs. $11,2 \pm 0,7$ ng/ml) (**obrázok 4**).

Diskusia

Neurohumorálne faktory plnia významnú úlohu pri regulácii krvného tlaku. Dysbalancia medzi vazokonstrikčnými a vazodilatačnými pôsobiacimi hormónmi sa pravdepodobne spolu s autonómnym nervovým systémom podieľa na patogenéze VVS. Medzi potentné vazokonstriktory patrí aj NPY, ET-1 a ANG.

NPY je produkovaný predovšetkým v mozgu a v periférnom nervovom tkanive, kde je zo sympatikových neurónov secernovaný spolu s noradrenalinom. V CNS sa najvyššie koncentrácie zistili v centrách regulujúcich kardiovaskulárny systém. In vitro štúdia od Wier et al. popísala významný efekt NPY na augmentáciu noradrenalinom mediovanej vazokonstrikcie prostredníctvom uvoľňovania kalciových iónov a upregulácie exprese fosfolipázy C (10). Doposiaľ bola publikovaná iba jedna klinická štúdia, v ktorej autori kolektívu Liao et al. zistili významne nižšie bazálne hladiny NPY u adolescentov

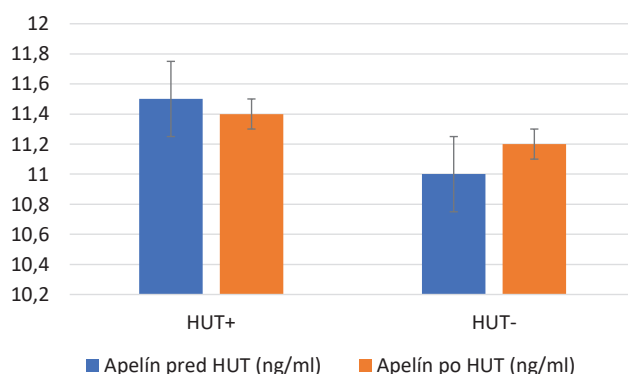


Obrázok 3 Bazálne a stimulované hladiny endotelínu-1 počas HUT

ET-1 – endotelín-1, HUT – head-up tilt test

s VVS (7). Provokované hladiny NPY v priebehu testu vyšetřované neboli. V našej štúdii sme zistili nižšie hodnoty NPY u pacientov v čase synkopy, bazálne hodnoty sa medzi HUT+ a HUT- skupinou neodlišovali. Nižšie hladiny NPY by tak mohli vysvetliť znížené vazokonstrikčné kompenzačné mechanizmy u pacientov s VVS.

Medzi ďalší neurohumorálny systém, ktorý plní úlohu pri vzniku vazovagálnej reakcie, patrí aj endotelínový systém, ktorý pozostáva z endotelínu 1-3 (v podobe troch izopeptidov), ECE (endotelín-konverujúceho enzýmu) a troch typov endotelínových receptorov. Hlavnou úlohou endotelínového systému je kontrola cievneho tonusu, čím dokáže významne ovplyvňovať tlak krvi. Okrem toho má pozitívny inotropný efekt, ovplyvňuje nátiurézu, potencuje centrálnu a periférnu sympatikovú aktivitu a stimuluje renín-angiotenzín-aldosterónový sys-



Obrázok 4 Bazálne a stimulované hladiny apelínu počas HUT

HUT – head-up tilt test

tém (RAAS). Keďže endotelín je potentný vazokonstriktor, predpokladalo sa, že pacienti s VVS by mohli mať skôr nižšie hladiny endotelínu, avšak štúdie priniesli veľmi kontroverzné výsledky (11, 12).

V prvej štúdii Kaufmann et al. zistili významný vzostup hladín ET-1 v priebehu polohového testu u pacientov s navodenou VVS, kým u pacientov so známym primárnym autonómnym zlyhaním došlo k poklesu koncentrácie ET-1 (13). Neskôr niekoľko ďalších štúdií zaznamenalo konštatne zvýšené hladiny ET-1 u pacientov s predispozíciou k VVS. Na druhej strane, Williford et al., podobne ako naša štúdia, nezistili rozdiely v hladinách ET-1 medzi synkopujúcimi pacientmi a kontrolnou skupinou zdravej populácie (14). Práca autora Hammrefors a kolektívu dokonca popisuje nižšie koncentrácie ET-1 u pacientov s kardioinhibičným typom VVS (15). Predpokladá sa, že nielen hladiny samotného endotelínu môžu participovať v patogéze synkopy, ale aj variabilná senzitivita endotelínových receptorov by mohla modulovať odpoveď ich hlavného liganda. Najrozšírenejší polymorfizmus v populácii v géne kódujúcom endotelínový receptor typu A je rs5333, avšak ani jedna z doposiaľ dvoch publikovaných prác neidentifikovala vyššiu prevalenciu tohto variantu u pacientov s VVS (16, 17).

ANG sám, ale aj ako súčasť RAAS, má významný efekt na reguláciu krvného tlaku. V niektorých rodinách u pacientov s primárnou hypertenziou sa zistili zvýšené hladiny ANG v krvi a moči. Na základe toho by bolo možné dedukovať, že pacienti s artériovou hypotenziou a predispozíciou k VVS by mohli mať naopak nižšie hladiny ANG. Niekoľko prác vyšetrovalo hladiny renínu a aldosterónu u pacientov s VVS alebo inou formou ortostatickej intolerancie (18). V dostupnej literatúre doposiaľ neexistuje žiadna štúdia, ktorá by sa venovala vyšetrovaniu hladín ANG u pacientov s VVS. V našej práci sme zistili signifikantne nižšie bazálne hladiny ANG pred HUT u pacientov s VVS, po HUT tento rozdiel už nebol významný.

Apelín je relatívne nedávno objavený vazodilatačne pôsobiaci hormón, ktorý prostredníctvom indukcie syntézy oxidu dusného má významný relaxačný efekt na hladkosvalové bunky cievnej steny. Existujú viaceré práce, ktoré dokumentujú prudký pokles krvného tlaku, zníženie periférnej vaskulárnej rezistencie a tiež pľúcnej vaskulárnej rezistencie po podaní apelínu (19). Pacienti s kardiovaskulárnymi ochoreniami ako srdcové zlyhá-

vanie, akútny infarkt myokardu alebo hypertrofia ľavej komory majú znížené hladiny apelínu (20). Keďže ide o vazoaktívny pôsobok, ktorý sa vo významnej miere podieľa na regulácii cievneho tonusu, možno predpokladať dysbalanciu hladín apelínu u pacientov s VVS. Doposiaľ nebola publikovaná žiadna štúdia, ktorá by sa zaoberala apelínergickým systémom u týchto pacientov. V našom prípade ide teda o pilotnú prácu, v ktorej sme však nezistili žiadne signifikantné rozdiely v bazálnych ani provokovaných hladinách apelínu v HUT medzi pacientmi s VVS a kontrolnou HUT negatívnou skupinou.

Záver

VVS je ochorenie s dobrou prognózou, avšak u niektorých pacientov môže významne znižovať kvalitu života. Patogéza je komplexná, zahŕňa nielen dysreguláciu autonómneho nervového systému, ale aj komplexné neurohumorálne mechanizmy. Znížené hladiny vazokonstriktorov zodpovedných za udržiavanie tlaku krvi pravdepodobne participujú pri rozvoji VVS. Na základe výsledkov našej štúdie možno predpokladať, že v patogéze VVS by sa mohla podieľať okrem iného aj defektná kompenzačná odpoveď neuropeptidu Y. Druhý výsledok tejto práce poukazuje na nižšie bazálne hladiny ANG u pacientov s pozitívnym HUT, ktoré pravdepodobne môžu predisponovať týchto pacientov k poklesom tlaku a synkopám. Nezistili sme rozdiely v hladinách vazodilatačne pôsobiaceho apelínu. Identifikácia nových patofyziologických mechanizmov u pacientov s VVS môže tak priniesť nové diagnostické a predovšetkým terapeutické modality.

Literatúra

1. Brignole M, Moya A, de Lange FJ, et al. 2018 ESC Guidelines for the diagnosis and management of syncope. *Eur Heart J* 2018;39:1883–1948.
2. Adkisson WO et Benditt DG. Pathophysiology of Reflex Syncope: A Review. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2017;28:1088–1097.
3. Mitro P, Kirsch P, Valočík G, Murín P. A prospective study of the standardized diagnostic evaluation of syncope. *Europace* 2011;13:566–571.
4. Fedorowski A, Aburri P, Struck J, et al. Novel cardiovascular biomarkers in unexplained syncopal attacks: the SYSTEMA cohort. *J Intern Med* 2013;273:359–367.

5. Lazúrová Z et Mitro P. Adenozín – mediátor s multisystémovými účinkami (alebo hormón?). *Vnitr Lek* 2017;63:617-623.
6. Lazurova Z, Mitro P, Popovnakova M. The Role of Adenosine and Its Degradation Enzymes – Adenosinedeaminase and Adenosinekinase in Pathogenesis of Vasovagal Syncope. *Eur J Intern Med.* 2022;105:77-81.
7. Liao Y, Xu WR, Li HX, et al. Plasma Neuropeptide Y Levels in Vasovagal Syncope in Children. *Chin Med J (Engl).* 2017;130:2778-2784.
8. Bartoletti A, Alboni P, Ammirati F, et al. 'The Italian Protocol': a simplified head-up tilt testing potentiated with oral nitroglycerin to assess patients with unexplained syncope. *Europace* 2000;2:339-342.
9. Brignole M, Menozzi C, Del Rosso A, et al. Is the Type of Cardiovascular Response During Tilt Table Testing Useful for the Choice of the Treatment? The New VASIS Classification. *Cardiac Arrhythmias* 1999;1:449-462.
10. Wier WG, Mauban JRH. Imaging sympathetic neurogenic Ca^{2+} signaling in blood vessels. *Auton Neurosci.* 2017;207:59-66.
11. Davenport AP, Hyndman KA, Dhaun N, et al. Endothelin. *Pharmacol Rev* 2016;68:357-418.
12. Agapitov AV et Haynes WG. Role of endothelin in cardiovascular disease. *JRAAS* 2002;3:1-15.
13. Kaufmann H, Oribe E et Oliver JA. Plasma endothelin during upright tilt: relevance for orthostatic hypotension? *Lancet* 1991;338:1542-1545.
14. Williford NN, Chapleau MW et Olshansky B. Neurohormones in Vasovagal Syncope: Are They Important? *J Am Heart Assoc* 2019;8:e013129.
15. Hamrefors V, Nilsson D, Melander O, et al. Low adrenomedullin and endothelin-1 predict cardioinhibitory response during vasovagal reflex in adults over 40 years of age. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2017;10:1-3.
16. Sorrentino S, Forleo C, Iacoviello M, et al. Endothelin system polymorphisms in tilt test-induced vasovagal syncope. *Clin Auton Res* 2009;19:347-354.
17. Lazurova Z, Habalova V et Mitro P. Association of polymorphisms in endothelin-1 and endothelin receptor a genes with vasovagal syncope. *Physiol Res.* 2022;71:93-101.
18. Nair N, Padder FA, Kantharia BK. Pathophysiology and management of neurocardiogenic syncope. *Am J Manag Care.* 2003;9:327-334.
19. Mughal A, O'Rourke ST. Vascular effects of apelin: Mechanisms and therapeutic potential. *Pharmacol Ther.* 2018;190:139-147.
20. Gupta MD, Girish MP, Shah D, Rain M, Mehta V, Tyagi S, et al. Biochemical and genetic role of apelin in essential hypertension and acute coronary syndrome. *Int J Cardiol.* 2016;223:374-378.