

**AKUT ÉS KRÓNIKUS VASCULARIS KÓRKÉPEK  
PATHOGENESISÉBEN SZEREPET JÁTSZÓ TÉNYEZŐK  
VIZSGÁLATA ÉS TERÁPIÁS BEFOLYÁSOLÁSÁNAK  
LEHETŐSÉGE**

Ph.D. értekezés tézisei

Dr. Horváth Beáta  
PTE ÁOK  
I.sz. Belgyógyászati Klinika

Program- és témavezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán

2003.

## TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	2
1. Bevezetés	3
2. Célkitűzések	9
3. Az endothelium diszfunkció vizsgálata érbetegekben	9
3.1 Betegek és módszerek	10
3.2 Eredmények	11
4. A thrombocyta aggregatio és a haemorheologiai paraméterek utánkövetése akut ischaemiás coronaria szindrómás betegekben	13
4.1 Betegek és módszerek	13
4.2 Eredmények	17
5. A thrombocyta aggregatio gátló terápia hatékonyságának és a haemorheologiai paraméterek vizsgálata agyérbetegekben	18
5.1 Betegek és módszerek	19
5.2 Eredmények	20
6. Cerebrovascularis támadáspontú gyógyszerek szabadgyök-fogó hatásának vizsgálata	20
6.1 Módszerek	20
6.2 Eredmények	21
7. Következtetések	22
A szerző publikációi	24
Köszönetnyilvánítás	31

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ADP	adenosin difoszfát
AICS	akut ischaemiás coronaria szindróma
ASA	acetyl szalicilsav
CT	computer tomograph
ELISA	enzyme-linked immunosorbant assay
GP	glycoprotein
HDL	high density lipoprotein
KIR	központi idegrendszer
LDL	low density lipoprotein
MRI	mágneses rezonancia imaging
NE	nemzetközi egység
NO	nitrogén monoxid
PBS	phosphate buffered saline (foszfáttal puffereit sóoldat)
PCI	percutan coronaria intervenció
PMS	phenazin methosulphat
PPP	platelet poor plasma (thrombocyta szegény plazma)
PRP	platelet rich plasma (thrombocyta dús plazma)
RCTT	relative cell transit time (relatív sejt tranzit idő)
TXA <sub>2</sub>	thromboxan A <sub>2</sub>
TIA	transziens ischaemiás attack
vWf	von Willebrand faktor

## 1. BEVEZETÉS

A fejlett nyugati országokban és egyre több fejlődő országban is a vascularis betegségek a vezető morbiditási és mortalitási tényezők a felnőtt és az idősebb populációban. E kórképek lényege a létfontosságú szervek keringésének csökkenése vagy megszűnése, ischaemiás károsodása vagy elhalása és a következményesen kialakuló funkciózavara. A keringés csökkenésének oka az érrendszert érintő, generalizált, progresszív folyamat, az atherosclerosis, és a fokozott thrombocytá aggregatio, a coagulatio zavara és a vér áramlási tulajdonságainak megváltozása következtében kialakuló thrombus képződés. A koszorúerek atherosclerosis ischaemiás szívbetegséghez vezet, ha pedig az elváltozás thrombosisal szövődik, létrejön az akut ischaemiás coronaria szindróma, illetve megfelelő terápia hiányában az akut myocardialis infarctus. Az agyi erek atherothrombotikus betegsége a cerebrális infarctus (stroke) fő oka, de az atherosclerosis gyakran okoz kritikus ischaemiát a belekben és az alsó végtagokon is.

Az ún. „response to injury” elmélet szerint az atherosclerosis pathomechanizmusának kezdeti lépése az endothel diszfunkció kialakulása, mely a különböző cardiovascularis rizikófaktorok fennállása esetén az endothelsejtek sérülése következtében alakul ki. Az endothelium a bőrünk mellett a legnagyobb szervünk, mely számos feladattal bír, így alapvető szerepe van a normál haemostasis fenntartásában. Endothelium diszfunkcióról akkor beszélünk, ha az endothel normális funkcióját nem képes tovább fenntartani, ezáltal felborul az egyensúly a relaxatio-contractio, a pro- és anticoagulans, proliferativ-antiproliferativ, és a pro- és antioxidáns faktorok termelésében, mely fokozott thrombosis készségben nyilvánul meg.

A von Willebrand faktor egy plazmában található multimer glycoprotein, amely részt vesz a normál haemostasis kialakításában és hiánya a leggyakoribb vérzési rendellenességhez, a von Willebrand betegséghez vezet. A különböző vascularis kórképek pathomechanizmusában játszott szerepére csak az utóbbi időben terelődött a figyelem. A von Willebrand faktort az endothelsejtek és a megakariocyták termelik, a vWf aktivitás normál tartománya a plazmában meglehetősen széles határok között mozog. Mérsékelten magasabb plazmaszint endothelium stimuláció következtében fellépő fokozott vWf szekréció esetén, míg jelentősen magasabb plazmaszint az endothelsejtek direkt károsodásával járó állapotokban mérhető. Emelkedik a vWf plazmaszintje, ha az atherosclerosis rizikófaktorai fennállnak, illetve endothel diszfunkció esetén.

A vWf részt vesz a haemostasis kialakításában azzal, hogy megköti és stabilizálja a VIII. faktort a keringésben, ezáltal megvédi a lebomlástól, valamint az endothelsérülés helyén a subendothelialis struktúrákhoz lehorgonyozza a trombocytákat, s ezzel esszenciális szerepet játszik a trombocytadugó kialakításában. Az endothelium sérüléskor a subendothelialis struktúrákhoz kapcsolódva, vagy magas sebességgrádiens esetén a globularis szerkezetű molekula konformációt vált, lineáris szerkezetet vesz fel és alkalmassá válik a trombocyták GPIb komplexén keresztül az adhesio beindítására.

Az atherosclerosis és ezáltal az endothel diszfunkció nem befolyásolható rizikófaktoraik közé tartozik az életkor, a férfi nem és a családi halmozódás (genetikai faktorok), míg a legfontosabb befolyásolható kockázati tényezők a plazma magas koleszterin és egyéb lipid szintek, a dohányzás, a hypertonia, a diabetes mellitus, az obesitas, a fizikai aktivitás hiánya és a hyperhomocysteinaemia. Az atherosclerosis kialakulásában a nyíróerőknek is alapvető jelentősége van, erre utal, hogy a plakkok nem véletlenszerűen helyezkednek el (annak ellenére, hogy a főbb ismert rizikófaktorkok nagy része szisztémás hatású), hanem elsősorban az erek elágazódásánál és a kanyarulatokban jönnek létre.

Több tanulmány igazolta, hogy a hypercholesterinaemia összefüggésben van a károsodott endothel funkcióval, és hogy a károsodás mértéke korrelál a szérumban a koleszterinszinttel. A dyslipidaemia károsítja mind az endothel-dependens, mind az endothel-independent vasodilatációt. Többben kimutatták, hogy hypercholesterinaemiás betegekben fokozott a vérlemezkék aktivitása, aminek fontos szerepe lehet a plakk szakadás helyén zajló thrombus képződésben.

A statinok a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzim A redukáz kompetitív antagonistái, az enzim katalizálja a koleszterin szintézis sebesség meghatározó lépését a májban és egyéb szövetekben. Több nagy multicentrikus tanulmány eredménye alapján a statinok a koleszterinszint hatékony csökkentése mellett szignifikánsan csökkentik a cardiovascularis mortalitást, és a fatális és nem fatális stroke kialakulásának valószínűségét; jól tolerálhatók és költséghatékonyak. A statinok e kedvező hatásukat a koleszterinszint csökkentése mellett az úgynevezett pleiotrop hatásuknak köszönhetik: az érfaiban zajló gyulladási folyamatok módosítása által stabilizálják a plakkot; a NO biológiai hozzáférhetőségének fokozása által javítják az endothelfüggő, áramlásmédia által vasodilatációt; illetve gátolják a thrombusképződést, mivel csökkentik a trombocyták rupturált plakkhoz való adhesióját és befolyásolják az extrinsic alvadási utat. Ezért a statinok napjainkban a cardio- és

cerebrovascularis betegségek primer és szekunder prevenciójában meghatározó szereppel bírnak.

Fiziológiás körülmények között a thrombocyták nyugalmi állapotban, szabadon keringenek az ér pályában anélkül, hogy a vascularis endotheliummal funkcionális kapcsolatba kerülnének. Ugyanakkor az endothelium sérülésekor, pl. egy instabil atheroscleroticus plakk rupturája esetén a szabaddá váló subendotheliális képletek (collagen, vWf) aktiválják a vérlemezkéket. Az endothelium nem adhesiv módon is képes a thrombocytá működés befolyásolására. A NO és a prostacyclin értágító hatásukon kívül gátolják a thrombocytá aggregatiót, míg a TXA<sub>2</sub> elősegíti azt. A thrombocyták kémiai aktivációja akkor következik be, ha specifikus sejtfelszíni receptoraikhoz agonista molekula kötődik, melyek közül a kollagén, a thrombin, az ADP és az adrenalin bír kiemelkedő jelentőséggel.

A thrombocytákat érő kémiai és mechanikai stimuláció következményeként a phospholipáz A<sub>2</sub> arachidonsavat szabadít fel a lipid membránból, mely a ciklooxygenase enzim hatására több lépésben az igen erős vasoconstrictor hatású TXA<sub>2</sub>-vé alakul, mely indukálja azok aggregatióját. Az acetyl szalicilsav a ciklooxygenáz enzimet acetilálja, irreverzibilisen blokkolva ezáltal az enzim működését. Az ADP molekula sejtfelszíni, purinerg receptorához való kötődése szintén növeli a TXA<sub>2</sub> szintet, valamint serkenti a GPIIb/IIIa receptorok aktiválódását. A thienopyridin csoportba tartozó ticlopidin és clopidogrel, illetve aktív metabolitjaik szelektíven és irreverzibilisen gátolják a thrombocyták ADP receptorait és hatékonyan csökkentik az ADP függő thrombocytá funkciókat. A thrombocyták aggregatioja akkor következik be, ha a vWf vagy a fibrinogén az aktiválódott GPIIb/IIIa receptorokon keresztül köti a thrombocytákat és létrejön a primer thrombocytadugó. A leghatékonyabb antithrombotikus gyógyszerek a GPIIb/IIIa receptor blokkolók, melyek megakadályozzák a fibrinogén molekula ezen receptorhoz való kötődését, és ezzel a thrombocytá aggregatio végső, közös útját gátolják, hatásuk ezért a vérlemezkéket érő stimulustól független.

Számos korábbi tanulmány mutatott rá arra, hogy a thrombocytá aggregatio gyógyszeres gátlása hatékonyan csökkenti a súlyos cardio- és cerebrovascularis események előfordulási gyakoriságát és a mortalitást. Nagy betegpopuláción végzett multicentrikus tanulmányok igazolták, hogy az ASA kezelés mintegy 25%-kal csökkenti a myocardialis infarctus, az ischaemiás stroke és a vascularis halálozás relatív kockázatát. A thrombocytá aggregatio laboratóriumi mérésének elterjedésével fogalmazódott meg az ASA non-responsio fogalma, mely alatt azon betegeket értjük, akiknél magas ASA dózis mellett sem lehetett

megfelelő aggregatio gátlást kimutatni „ex vivo” módszerek segítségével. Azokat a betegeket, akik kezdetben jól reagáltak az alkalmazott kezelésre, azonban a gyógyszer változatlan dózisa mellett fél-egy év múlva laboratóriumi módszerekkel már nem bizonyultak megfelelőnek az aggregatio gátlás hatékonysága, ASA rezisztenseknek neveztük. A jelenségek háttérében több tényező szerepe is felvetődött, de pontos mechanizmusuk még nem tisztázott kellőképp.

A thrombocytá aggregatio másik útját gátolják a thienopyridin csoportba tartozó ticlopidin és clopidogrel, melyek szelektíven és irreverzibilisen gátolják a thrombocyták ADP receptorait és hatékonyan csökkentik az ADP függő thrombocytá funkciókat. Klinikai vizsgálatok igazolták hatékonyságukat: alkalmazásuk jelentősen csökkenti a vascularis halálozást placebóval és ASA-val összehasonlítva is.

Az atherosclerosis kialakulásában, progressziójában és az ischaemiás károsodás létrehozásában a kóros rheologiai tényezőknek szintén meghatározó szerepe van. A rheologia (áramlástan) alaptörvénye a Poiseuille-törvény, mely jó közelítéssel alkalmazható az emberi érrendszerre is. Kimondja, hogy valamely érszakaszon mérhető áramlást elsősorban az ér sugara, a perfúziós nyomás, az adott érszakasz hossza, valamint a vér viszkozitása határozza meg. Normális esetben a coronariaáramlás fő meghatározója az ér átmérője. Kóros körülmények között azonban, pl. atherosclerosis okozta coronaria betegségben az érátérő beszűkülése, valamint a vasodilatációs képesség csökkenése esetén a vér viszkozitása lesz a véráramlás egyik fő meghatározója. Hasonlóan, az érátérő és a perfúziós nyomás csökkenése következtében megnő a vér áramlási tulajdonságainak jelentősége a microcirculatio területén is.

A vér nem Newtoni folyadék (vizes közegben szuszpendált sejtek, fehérjék, chylomicronok, szénhidrátok és elektrolitok keveréke), ami azt jelenti, hogy viszkozitása, ellentétben a Newtoni folyadékokkal, függ a nyírófeszültségtől; a vér aktuális viszkozitása nő alacsony, míg csökken magasabb nyírófeszültség esetén.

A vér viszkozitásának másik jelentős meghatározója a benne szuszpendált részecskék mennyisége (haematocrit), valamint egymással, illetve az érfallal való interakciójuk. Mennyiségüknél fogva legnagyobb jelentősége a vörösvérsejteknek van, a többi sejtnél fizioiogiás körülmények között a nagy erekben nincs lényeges hatásuk az áramlásra. Szűk capillarisokban azonban a fehérvérsejtek áramlási akadályt képezhetnek nagyobb méretüknél és rigiditásuknál fogva. A sejtes interakciók közül legfontosabb a vörösvérsejt aggregatio („pénztekercs”-képződés), mely a sejtek átmeneti, reverzibilis összetapadását jelenti elsősorban nagyméretű, elágazó molekulák (fibrinogén, egyes globulinok) hatására. Ez a

folyamat alacsony nyírási sebesség mellett a legkifejezettebb, így elsősorban ez a folyamat áll az ilyen körülmények között magasabb vér viszkozitás háttérében. A vörsejtek alakjukat az áramlási körülményektől függően változtatni képesek, ennek mértékét deformálódó képességnek hívjuk. E tulajdonságnak a microcirculatio területén van a legnagyobb jelentősége, ahol a capillarisek átmérője alig haladja meg a sejtek átmérőjét, sőt a szívizomban még kisebb is lehet.

A vér viszkozitás jelentős meghatározója a szuspenziós folyadék tulajdonsága, azaz a plazma viszkozitása is, melyet primer komponense, a víz és a benne oldott nagy molekulájú anyagok határoznak meg. Ezek közül a nagy, elongált térszerkezetű fibrinogén játssza a döntő szerepet. Bizonyos koncentrációviszonyok esetén a lipidfrakcióknak és egyes globulinoknak lehet meghatározó szerepük. A fibrinogén szerepét tovább növeli az a tény, hogy fontos meghatározója a vörösvérsejt és a thrombocyta aggregációnak is.

A különböző rheologiai eltérések a myocardiumban nagyobb jelentőséggel bírnak, mint a keringési rendszer más területein, mivel a coronaria érrendszer a keringési rendszer speciális részét képezi: a szív ciklus következtében folyamatosan változik benne az áramlás, a perfúziós nyomás és a nyírófeszültség. A test legkisebb átmérőjű capillarisei is a myocardiumban találhatóak, ezek átmérője 3-5  $\mu\text{m}$ , az átlagos 7  $\mu\text{m}$ -es vörösvérsejt átmérőnél 2-4  $\mu\text{m}$ -rel kisebb. Így a károsodott rheologiai paraméterek elégtelen keringést, lokális stasist, capillaris elzáródást, thrombus képződést, csökkent  $\text{O}_2$  transzportot és hypoxiát okozhatnak, mely folyamatok tovább ronthatják az atheroscleroticus szűkület által már érintett coronaria keringést.

A különböző cardiovascularis rizikófaktoroknak az atherosclerosis kialakulásában játszott szerepe még nem teljesen tisztázott, azonban az estek többségében az endothelialis sejtek sérülésének egyik elsődleges mediátora a fokozott szabadgyök-termelés következtében fellépő oxidatív stressz és/vagy a gyulladási folyamatok. A szabad gyökök olyan kémiai reaktív molekulák, amelyek a szervezet számos fiziológiai és patológiai folyamatában fontos szerepet játszanak. Fiziológiai körülmények között részt vesznek a sejt metabolikus folyamataiban, a jelátvitelben és a sejt védekező mechanizmusaiiban. Ezzel szemben kóros körülmények között szerepet játszanak a DNS károsításában, enzim és hormon inaktivációban, membrán, illetve számos egyéb sejt-károsodás kialakulásában, és így a különböző sejtek és szövetek oxidatív károsítása következtében olyan celluláris szintű változást hozhatnak létre, mely az egész szervezetre nézve káros következményekkel járhat. Az oxidatív károsodás létrejöhet a szabad gyökök fokozott képződése, a különböző



antioxidáns rendszerek inaktivációja, a scavenger molekulák kimerülése vagy a különböző antioxidánsok újraképződésének elégtelensége miatt.

A szabad gyökök részt vesznek a különböző faktorok hatására bekövetkező endotel károsodás és diszfunkció mediálásában. Fontos szerepük van az érfal gyulladással kapcsolatos folyamataiban. Egyik legfontosabb hatásuk a lipid peroxidáció, mely oxidált LDL partikulumok kialakulásához vezet és az előző folyamattal együtt szerepet játszanak az atherosclerosis létrehozásában. Az oxigén szabad gyökök emelkedett szintje csökkenti a biológiailag hasznosítható NO mennyiségét. Az atheroscleroticus plakk kialakulásában és progressziójában fontos szerepe van a simaizomsejtek proliferációjának, melyet a szabad gyökök szintén fokozni képesek.

A szabad gyökök káros hatásának másik fő célpontja a microcirculatio, melyhez hozzájárul, hogy a szabad gyökök káros hatásaival szemben a vörösvérsejtek fokozottan érzékenyek, mivel folyamatosan magas oxigéntensionak vannak kitéve, illetve nagy a vas tartalmuk, ami elősegíti a szabad gyökök képződését. Ha felborul az egyensúly a szabad gyökök képződése és semlegesítése között, létrejöhet a vörösvérsejtek oxidatív károsodása, mely manifesztálódhat azok struktúrális és/vagy funkcionális károsodásában. Fokozódik a lipidperoxidáció, ezáltal pedig csökken a membrán fluiditása és megváltozik a sejtmembrán kationokkal szembeni permeabilitása, mely hatással van a vörösvérsejt aggregációra és a deformabilitásra, melyeknek fontos szerepe van a microcirculatioiban. A szabad gyökök aktiválhatják a fehérvérsejteket, mely elősegíti adhéziójukat az érfalhoz, a capillaris elzáródását, további szabad gyökök és chemoattractants faktorok termelést.

A szabad gyökök káros hatásának egyik fő célpontja a központi idegrendszer területén is a microcirculatio, amelyet a gyulladással kapcsolatos mediátorokkal együtt károsítani képesek. Ennek következtében sérül a vér-agy gát, és romlik a microcirculatio, tovább súlyosbítva ezzel a cerebrovascularis ischaemiát a már károsodott perifériájú területen.

Mivel a szabad gyökök fokozott képződése számos betegség pathomechanizmusában szerepel kóros tényezőként, semlegesítésük alapvető terápiás jelentőséggel bírhat. Normális körülmények között a szervezet hatékony védekező rendszerrel rendelkezik az oxidatív károsodással szemben, melybe beletartoznak a különböző enzimek, mint pl. a szuperoxid-dizmutáz, a kataláz és a glutation-peroxidáz, továbbá antioxidánsok, mint pl. a tokoferol vagy az aszkorbinsav. Azonban ezek az enzimek molekula tulajdonságaik miatt nem képesek penetrálni az oxidatív károsodásnak kitett teljes területre, ezért régóta vannak próbálkozások olyan kis molekulású, nem toxikus szerek kifejlesztésére, melyek jelentős antioxidáns tulajdonsággal rendelkeznek.

A különböző cardiovascularis rizikófaktorok tehát többféle módon képesek károsítani az endotheliumot, létrehozva ezzel az endothelialis diszfunkciót, illetve az atherosclerosis. További progresszió, az atheroscleroticus plakk rupturája esetén létrejön a thrombocytá aggregatio és az eret elzáró thrombus. A vér áramlási tulajdonságai elsősorban ezeken a károsodott perfúziójú területeken bírnak fokozott jelentőséggel, ahol tovább csökkenthetik a vér áramlását és így fokozhatják az atheroscleroticus szűkület okozta ischaemiát. A szabad gyökök a haemostasis számos faktorát képesek károsítani és ezáltal kapcsolódási pontot jelenthetnek a klasszikus rizikófaktorok okozta endothelialis sejtkárosodás létrehozásában.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

1. A von Willebrand faktornak, mint az endothel diszfunkció markerének meghatározása akut és krónikus érbetegekben és egészséges kontroll személyek értékeihez való hasonlítása.
2. Az endothel diszfunkció befolyásolás lehetőségének vizsgálata rövid távú, kis dóziszú atorvastatin terápia során dyslipidaemiás vascularis betegekben.
3. Akut ischaemiás coronaria szindrómában az alkalmazott thrombocytá aggregatio gátló terápia hatékonyságának és a haemorheologiai paraméterek alakulásának vizsgálata egyéves utánkövetés során.
4. Nagyszámú krónikus ischaemiás cerebrovascularis betegnél alkalmazott thrombocytá aggregatio gátló terápia hatékonyságának felmérése és haemorheologiai paramétereik tanulmányozása.
5. Három széles körben elterjedt és használt cerebrovascularis gyógyszer (pentoxiphyllin, piracetam és vinpocetin) antioxidáns tulajdonságának vizsgálata in vitro rheologiai modellben.

## 3. AZ ENDOTHELIUM DISZFUNKCIÓ VIZSGÁLATA ÉRBETEGEKBEN

Az endothelium sérülésének, diszfunkciójának megítélésére olyan molekula alkalmas, amely stabil, megtalálható a keringésben, szérumszintje könnyen meghatározható és specifikus az endothelsejtekre. Bár az endothelium számos egyéb molekulát is termel,

ezeknek a kritériumoknak a vWf felel meg leginkább, ezért választottuk vizsgálatunkban a vWf-t, melyet az endothelsérülés markereként atherosclerosisban Green alkalmazott elsőként.

### 3.1 Betegek és módszerek

#### *Betegek:*

Tanulmányunkban a vWf aktivitást krónikus cardio- és cerebrovascularis betegekben (56 fő, 67±10 év; 68 % férfi, 32 % nő), akut ischaemiás coronaria szindrómában (29 fő, 67±13 év; 62 % férfi, 38 % nő) és akut stroke-ban (15 fő, 67±12 év; 67 % férfi, 33 % nő) határoztuk meg és hasonlítottuk egészséges kontroll személyek (23 fő, 36±12 év; 61 % férfi, 39 % nő) értékeihez.

A kontroll csoport fiatal, egészséges, a főbb rizikófaktoroktól mentes személyekből került ki. A krónikus verőérbeteg csoportot olyan ambuláns személyek alkották, akiknek az anamnézisében 3 hónapnál régebben lezajlott cardio-, vagy cerebrovascularis esemény, vagy radiológiailag igazolt perifériás érbetegség szerepelt. Az akut ischaemiás coronaria szindrómás betegek típusos szívpanaszokkal kerültek felvételre a PTE ÁOK I.sz. Belgyógyászati Klinika coronaria őrzőjébe és a rutin vizsgálatok (EKG, myocardialis necroenzimek) minden esetben igazolták az akut ischaemiás coronaria szindrómát. A betegek 78 %-ában jelentkezett troponinszint emelkedés (troponin pozitív), míg 22 %-ban a troponinszint a normál tartományban maradt (troponin negatív). Az akut stroke-os betegek a PTE ÁOK Neurológiai Klinikájára kerültek felvételre, a diagnózist az anamnézis, a fizikális vizsgálat és képalkotó vizsgálatok (MRI, CT) alapján állítottuk fel. Fokális ischaemiás stroke 50 %-ban, multiplex ischaemiás stroke 30 %-ban és haemorrhagiás stroke 20 %-ban fordult elő.

Tanulmányunk második fázisában 27 dyslipidaemiás, krónikus vascularis beteg (61±8 év; 13 férfi/14 nő) vWf aktivitását határoztuk meg 1 hónapos, kis dózisu (10 mg/nap) atorvastatin terápia előtt és után. A vizsgálatban résztvevők korábban nem részesültek lipidcsökkentő terápiában.

#### *Mintavétel:*

A vérvétel AICS-s és akut stroke-os betegekben felvételkor (a tünetek megjelenést követő 24 órán belül), a második és hatodik napon; az akut mérések kivételével minden vérvétel reggel 8 és 9 óra között, éhgyomorral történt. A vérmintákat a vWf aktivitás meghatározásához perifériás vénából vettük 3,2 %-os trinátrium citrátos Vacutainer csőbe, 10 percig 2500 g-n centrifugáltuk, és a plazmából 1 ml-t Eppendorf csőbe szívtunk le. A méréseket a vérvételt követően 1 hónapon belül végeztük el, a mérésig a plazmát 2-8 °C-on

tároltuk. A dyslipidaemiás betegekben a rutin labor paraméterek, HDL koleszterin, össz koleszterin és triglyceridszint mellett a vWf aktivitás meghatározása a gyógyszeres kezelés megkezdése előtt és 1 hónap múlva, szintén reggel 8 és 9 óra között, éhgyomorra történt.

#### *Mérés:*

A vWf aktivitás meghatározása kvantitatív direkt ELISA kit-tel történt (Shield Diagnostics Ltd, UK). A szobahőmérsékletre ( $22\pm 1$  °C) felmelegített mintákat, valamint a kit-ben található ismert aktivitású két kontrollt 1:20 arányban a mellékelt puffer oldattal hígítottuk. A szintén a kit-hez mellékelt, ismert aktivitású kalibrátor oldatból nyolc koncentrációt tartalmazó feles hígítási sorozatot készítettünk. Az ily módon előkészített mintákból, kontroll és kalibrátor oldatokból meghatározott mennyiséget pipettáztunk a vWf funkcionális epitopját (GP Ib kötőhely) felismerő tisztított egér anti-vWf monoclonalis antitesttel fedett lemezre. Szobahőmérsékleten 60 perces inkubáció után a mintákat leöntöttük a lemezről, és a nem kötött plazma-alkotórészeket mosópufferrel távolítottuk el. Ezt követően vWf konjugátumot, egér anti-humán monoclonalis anti-vWf antitestet pipettáztunk a lemezre. Szobahőmérsékleten 15 percig inkubáltuk, majd a nem kötött vWf konjugátumot mosással eltávolítottuk. A tetrametil-benzidin szubsztrátot tartalmazó oldat hozzáadása után a színreakció kialakulásáig 15 percig inkubáltuk a mintákat, majd kénsavat tartalmazó „stop” oldattal állítottuk le a reakciót. A minták extinkciós értékeit 450 nm-es hullámhosszon olvastuk le. Az ismert aktivitású kalibrátor oldatok extinkciós értékei alapján kalibrációs görbét vettünk fel, és a minták aktivitási értékeit ennek segítségével határoztuk meg.

#### *Statisztika:*

Az egyes csoportok aktivitás értékeit kétmintás t-próba segítségével, míg az akut és a dyslipidaemiás betegek különböző időpontokban mért eredményeit egymintás t-próbával hasonlítottuk össze.

Az LDL koleszterin értékeket a Friedewald képlet alapján becsültük meg.

### **3.2 Eredmények**

A férfiak és a nők von Willebrand faktor aktivitás értékei között egyik általunk vizsgált csoportban sem találtunk szignifikáns különbséget. Az életkor és a vWf aktivitás között nem találtunk korrelációt sem a kontroll, sem a beteg csoportokban.

A kontroll csoport értékeihez képest valamennyi vizsgált betegcsoportban szignifikánsan ( $p < 0,001$ ) magasabb vWf aktivitást tapasztaltunk, melynek oka a betegek jelentős részében jelenlévő cardiovascularis rizikófaktorok okozta endothel diszfunkció lehet.

A különböző alcsoportok (cardio- és cerebrovascularis, perifériás érbeteg) között nem találtunk jelentős különbséget a vWf aktivitásban.

A krónikus verőérbeteg csoporthoz képest az AICS-s és az akut stroke-os betegekben mért vWf aktivitás szignifikánsan ( $p < 0,05$  illetve  $0,01$ ) magasabbnak bizonyult. Mivel az akut események, elsősorban az AICS kialakulásában a fő pathogenetikai tényezőt az atherothrombosis jelenti, a kapott eredmény utalhat arra, hogy egy akut esemény kialakulása összefüggésben lehet a magas nyírófeszültség okozta fokozott thrombocyta aggregatioval, melyben a vWf alapvető jelentőséggel bír.

Az akut betegek vWf aktivitás értékei a kórházi szak alatt folyamatos emelkedést mutattak, és a 6. napon szignifikánsan ( $p < 0,05$  illetve  $0,01$ ) magasabbak voltak a bekerüléskor mért értékekhez képest, mely összefüggésben lehet az akut esemény következtében kialakuló akut fázis reakcióval.

A troponin pozitív AICS-s betegek vWf aktivitását szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) magasabbnak találtuk, mint a troponin negatív betegeket, mely utalhat egyrészt a troponin pozitív és negatív AICS eltérő súlyosságára, másrészt a pathomechanizmusok különbözőségére.

Az akut stroke-s betegek viszonylag alacsony száma miatt az egyes alcsoportok (fokális és multiplex ischaemiás, haemorrhagiás) között statisztikai elemzésre nem került sor.

Az atorvastatin kezelés hatására a dyslipidaemiás betegek össz és LDL koleszterin értéke, valamint triglycerid szintje szignifikánsan ( $p < 0,01$ - $0,001$ ) csökkent, míg a HDL koleszterin koncentráció nem változott szignifikánsan.

A dyslipidaemiás betegek vWf aktivitása mind a kezelés előtt, mind után szignifikánsan ( $p < 0,01$ ; ill.  $0,05$ ) magasabb volt a kontroll csoport értékeihez képest, mely összefüggésben lehet a dyslipidaemiás betegekben jelenlévő endothel diszfunkcióval és magyarázat lehet arra, hogy miért fokozott a thrombocyták aktivációja ezekben a betegekben.

Az atorvastatin terápia után a dyslipidaemiás betegek vWf értéke szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) csökkent, mely egyrészt utalhat a statinok endothel diszfunkcióra kifejtett kedvező hatására, ugyanakkor a vWf aktivitás csökkenése önmagában is terápiás jelentőségű lehet a thrombocyta aggregatio és ezáltal a thrombosis hajlam csökkentése következtében.

## 4. A THROMBOCYTA AGGREGATIO ÉS A HAEMORHEOLOGIAI PARAMÉTEREK UTÁNKÖVETÉSE AKUT ISCHAEMIÁS CORONARIA SZINDRÓMÁS BETEGEKBEN

Az akut ischaemiás coronaria szindróma oka általában valamely coronaria akutan vagy szubakutan kialakuló teljes vagy részleges occlusioja, melynek háttérében az alapvető anatómiai elváltozás a coronariában található atheromás plakk. Ha a plakk kifeléyesedik, megreped, létrejön a thrombocyták adhesioja és aggregatioja. A következményesen kialakuló thrombus által csökkentett perfúziójú területeken a kóros rheologiai viszonyok fokozott jelentőséggel bírnak.

A thrombocyta aggregatio gátló terápia hatékonyságának és a haemorheologiai eltéréseknek a vizsgálata és korrigálása fontos lehet az AICS morbiditásának és mortalitásának csökkentésében, valamint a cardiovascularis betegségek kezelésében és prevenciójában.

### 4.1 Betegek és módszerek

#### *Betegek:*

Tanulmányunkban 157 akut ischaemiás coronaria szindrómás ( $65 \pm 12$  év; 95 férfi, 62 nő) és 68 egészséges embert ( $36 \pm 6$  év; 30 férfi, 38 nő) vizsgáltunk. A kontroll csoportot rheologiai szempontból is egészséges, jelentős cardiovascularis rizikófaktortól mentes személyek alkották. Az összes beteg akut ischaemiás szívpanaszokkal került be coronaria őrzőnkbe, ahol a rutin vizsgálatok (EKG, myocardialis enzimek) minden esetben bizonyították az AICS-t. 67 betegnek volt szignifikáns ST elevatioja, 77 betegnek volt ST depressioja, vagy nem volt ST eltérése és 13 esetben tapasztaltunk bal Tawara szár blokkot vagy ventricularis pacemaker ritmust felvételkor.

A betegek felvételekor, az AICS kialakulása előtt alig egyharmaduk, mindössze 48 beteg, elbocsátáskor többségük, 149 beteg részesült thrombocyta aggregatio gátló terápiaiban, és ez az arány nem változott jelentősen az utánkövetési időszak alatt sem. A napi 200 mg és az alatti ASA mennyiséget soroltuk a kis dózishoz (a betegek többsége 100 mg ASA-at szedett naponta), míg a nagyobb dózisu csoportba a napi 300-325 mg ASA-at szedő betegek tartoznak. A thienopyridin csoportba tartozó betegek 500 mg ticlopidint vagy 75 mg clopidogrelt szedtek, míg a kombinációs terápiaiban részesülők 100 vagy 325 mg ASA-at kaptak 500 mg ticlopidinnel vagy 75 mg clopidogrellel kombinálva.

A felvételt követően 25 esetben végeztünk thrombolysist, 22 esetben percutan coronaria intervenciót és 42 esetben alkalmaztunk GPIIb/IIIa receptor gátló kezelést. Tanulmányunkban 9 beteg halt meg a kórházi szakban, míg 5 a követési periódusban.

A hospitális szakaszban felvételkor és a 6. napon, míg az elbocsátást követően az 1., a 6. és a 12. hónap után mértük a rutin laboratóriumi paramétereket, a thrombocytá aggregatiót és a rheológiai faktorokat (plazma fibrinogént, haematocritot, plazma és teljes vér viszkozitást, vörösvérsejt aggregatiót és deformabilitást).

#### *Thrombocytá aggregatio gátlás vizsgálata:*

A thrombocytá aggregatio méréséhez cubitalis vénából 12 ml vért vettünk 3,8 %-os nátrium-citrát tartalmú Vacutainer csövekbe. A mintákat 150 g-n 10 percig centrifugáltuk, majd a thrombocytá dús felülúszót (platelet rich plasma, PRP) óvatosan eltávolítottuk. Ezt követően thrombocytá szegény plazma (platelet poor plasma, PPP) nyeréséhez a maradék mintákat 10 percig 2500 g-n ismételt centrifugáltuk. A mérésekhez használt küvettkébe 450-450  $\mu$ l PRP-t, illetve PPP-t pipettáztunk, majd a vérelemekké aggregatióját 50  $\mu$ l ADP (5  $\mu$ M és 10  $\mu$ M), kollagén (2  $\mu$ g/ml), illetve adrenalin (10  $\mu$ M) hozzáadásával indukáltuk. Vizsgálatainkat a Born-féle turbidimetriás elven működő Carat TX-4 (Carat Diagnosztika Kft., Magyarország) négycsatornás thrombocytá aggregométerrel végeztük. Az individuális különbségek kiküszöbölésére a készülék tárolja a thrombocytá dús és thrombocytá szegény plazmák fényáteresztő képességét (PRP: 0%, PPP: 100%), majd az induktorokkal kiváltott aggregatio mértékét a PPP-PRP optikai sűrűségkülönbséghez viszonyítva számolja. A szuszpenzió fényáteresztő képessége az aggregatio mértékével párhuzamosan nő, melyet a műszerhez kapcsolt számítógép programja ábrázol. Az így nyert görbe egyik jellegzetes paraméterét, a maximális aggregatio értékét - mely a megfelelő gyógyszeres kezelés hatására csökken - egészséges, gyógyszermentes egyéneken mért referencia értékekkel hasonlítottuk össze (4.2.1 táblázat). A mérés 10 perces időtartama alatt 37°C-os inkubációt és folyamatos mágneses keverést (1000 rpm) alkalmaztunk. A minták vizsgálata a vérvételt követő 2 órán belül megtörtént.

Az acetyl-szalicilsav hatásának kontrolljához a kollagén és adrenalin, míg thienopyridinek esetén az ADP indukálta aggregatiót vizsgáltuk. Mivel nincs jól meghatározott adat arra nézve, mikor tekinthetjük hatásosnak a thrombocytá aggregatio gátló terápiát, az aggregatio maximumának csökkenését akkor tekintettük az alkalmazott terápia következményének, ha az a kezeletlen kontroll populációra jellemző normál tartományon (átlag  $\pm$  2x standard deviatio) kívül esett, ellenkező esetben hatástalannak véleményeztük a

kezelést. Az aggregatio gátló terápia hatékonyságának értékelésekor figyelembe vettük a thrombocyta aggregométer gyártójának ajánlását is, ez alapján megkülönböztettünk hatástalan, gyenge, mérsékelt és teljes gátlást (4.2.1 táblázat).

**4.2.1 táblázat:** Az egyes induktorokra vonatkozó, a maximális aggregatio értéke alapján meghatározható aggregatios szintek (saját méréseink és a thrombocyta aggregométer gyártójának ajánlása alapján).

Induktor	Maximális aggregatio (%)			
	Hatástalan gátlás (referencia tartomány)	Gyenge	Mérsékelt	Teljes
ADP 5 Mm	62-91	41-61	31-40	0-30
ADP 10 µM	62-91	41-61	31-40	0-30
Kollagén 2 µg/ml	64-92	41-63	31-40	0-30
Adrenalin 10 µM	60-88	41-59	31-40	0-30

Tanulmányunk során meghatároztuk, hogy az egyes gátlási csoportok milyen arányban fordulnak elő a nemkívánatos klinikai eseményt (cardiovasculáris halálozás, ismételt AICS, TIA vagy stroke kialakulása) elszenvedők között és azokban a betegekben, akiknél nem fordult elő ismétlődő esemény a vizsgálati periódus alatt.

#### *Haemorheologiai mérések:*

A laboratóriumi vizsgálatok valamennyi betegnél standardizált körülmények között, éhgyomorra, a reggeli relatív exsiccisist ellensúlyozandó fél liter cukormentes folyadék elfogyasztása után történtek, a vért cubitalis vénából vettük.

A haematocritérték meghatározásához a vért lítium-heparin (143 NE/4,5 ml) tartalmú Vacutainer csövekbe vettük le, a mérést a vérvételtől számított 2 órán belül végeztük el. A haematocritérték meghatározása microhaematocrit centrifugával (Hemofuge, Heraus Instr., Németország) történt.

A plazma fibrinogén koncentráció meghatározásához 4,5 ml vért vettünk 3,8 %-os nátrium-citrát tartalmú Vacutainer csöbe. A fibrinogén koncentráció méréséhez Clauss módszert használtunk.

A plazma és teljes vér viszkozitás méréshez a vért lítium-heparin (143 NE/4,5 ml) tartalmú Vacutainer csövekbe vettük le, a mérést a vérvételtől számított 2 órán belül végeztük el. A viszkozitás méréseket Hevimet 40 capillaris viszkoziméteren (Hemorex Kft.,



Magyarország) végeztük. A viszkoziméter két, temperált olajfürdőbe merülő, teflonból készült capillaris csőből áll, melyek belső átmérője 0,6 mm, hossza pedig 500 mm. A beépített termosztát segítségével a mérőcsövek hőmérséklete állandóan 37 °C-on tartható. A viszkoziméterben a nyomásgrádiens a folyadék saját hidrosztatikus nyomásából származik. A kiértékeléshez a meniszkusz helyzet-idő diagramját egy opto-elektronikus rendszer érzékeli. A folyási görbéből az e célra készített szoftver segítségével számolhatók a viszkozitás értékei. Az értékelés során a 90 l/s sebességgrádiensnél mért adatokat használtuk.

A vörösvérsejt aggregatio méréshez a vért lítium-heparin (143 NE/4,5 ml) tartalmú Vacutainer csövekbe vettük le, a mérést a vérvételtől számított 2 órán belül végeztük el. A mérés Myrenne MA-1 aggregométerrel (Myrenne GmbH, Németország) történt. Az aggregométer egy kúp-sík nyírási kamra segítségével, Schmid-Schönbein által leírt fényáteresztő-képesség változás alapján működik. A mérési elv lényege, hogy a vörösvérsejt-szuspenzió fényáteresztő képessége megnő abban az esetben, ha a vörösvérsejtek aggregátumokat formálnak („pénztekercs képződés”), mivel a komplexumok között kialakuló sejtszegény terek több fény átjutását teszik lehetővé. Az aggregatio mértékét az aggregatios indexszel jellemeztük. A mérés során 30 µl vérmintát 600 l/s sebességgrádienssel először disaggregáltuk, majd a sebességgrádiens igen alacsonyra, 3 l/s-ra csökken, miközben a készülék a vérminta fénytranszmissziójának megváltozása alapján aggregatios indexet számít. A méréseket szobahőmérsékleten ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ) végeztük.

A vörösvérsejt deformabilitás meghatározásához a vért perifériás vénából lítium-heparin tartalmú csövekbe Vacutainer rendszerrel vettük. A vérmintákat 2500g-n 10 percig centrifugáltuk, majd a felülúszó eltávolítását követően a vörösvérsejt szuszpenziót két alkalommal foszfát pufferben (PBS – phosphate buffered saline, pH: 7,4, osmolalitás: 300 mOsm, glükóz: 10 mM) mostuk. Az utolsó centrifugálást követően a felülúszót eltávolítottuk, a vörösvérsejteket reszuszpendáltuk PBS pufferben, majd a haematocritot 10 %-ra állítottuk be. A vörösvérsejt filtrációs méréseket St. George elven működő Carat FT-1 filtrométerrel végeztük (Carat Diagnosztika Kft., Magyarország). A mérőműszerben a vörösvérsejt szuszpenzió 5 µm pórusnagyságú Nucleopore filteren áramlik keresztül, a folyadékoszlop mozgását 4 vízcm nagyságú hidrosztatikai nyomás tartja fent. A mérőfej négy pár fényforrást és érzékelőt tartalmaz, amely alapján a számítógépes rendszer automatikusan elemzi az áramlást, megkülönböztetve a sejt áthaladási időt és a pórus eltömődést. A vörösvérsejt deformabilitás mértékére utal a relatív sejt tranzit idő (relative cell transit time – RCTT), amely a PBS és a vörösvérsejt szuszpenzió egymáshoz viszonyított áramlási arányára

jellemző érték. Méréseinket szobahőmérsékleten ( $22\pm 1^\circ\text{C}$ ) végeztük, minden mérést három alkalommal ismételtünk.

#### 4.2 Eredmények

Az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy a laboratóriumi hatástalan thrombocytá aggregatio gátlás aránya minden vizsgálati periódusban a kombinációs terápiában részeshűtőknél volt a legalacsonyabb, magasabb volt a thienopyridin szedőknél és legjelentősebb az ASA-at szedők esetén volt. Az ASA dózist emelve a hatástalan gátlás aránya csökkent. Teljes gátlást is kombinációs terápia alkalmazásával lehetett leggyakrabban és a kis dózisú ASA-at alkalmazva a legritkábban elérni.

Ha valamennyi gyógyszercsoport összes mérését figyelembe vettük, a hatástalan gátlás aránya felvételnél volt a legmagasabb (46 %), jelentősen alacsonyabb volt a 6. napos mérésnél (26 %), legalacsonyabb az 1 hónapos vizsgálat alkalmával volt (22 %), majd valamelyest újra emelkedett, 24 % volt a 6. hónapos és 28 % a 12. hónapos mérések alkalmával. A különböző vizsgálati periódusokban mért eltérő hatékonyság nagy valószínűséggel elsősorban a betegek compliance-ével függhet össze.

Tanulmányunkban megvizsgáltuk a nemkívánatos események (cardiovascularis halálozás, ismételt AICS, TIA vagy stroke kialakulása) előfordulása, illetve elő nem fordulása esetén a különböző gátlási tartományok gyakoriságát is. Eredményeink alapján a nemkívánatos eseményt elszenvedők között jelentősen (kb. 20 %-kal) magasabb a hatástalan gátlási tartomány előfordulása és teljes gátlást mindössze ezen betegek 6 %-ánál állapíthatunk meg. Az ismétlődő eseményt el nem szenvedők között lényegesen ritkábban fordult elő hatástalan és gyakrabban teljes gátlási tartomány. Bár jelen vizsgálatunkat viszonylag alacsony betegszámú populációban végeztük, eredményeink utalhatnak a laboratóriumi mért hatékonyság és a klinikai események előfordulási gyakorisága közötti összefüggésre.

Összehasonlítva az AICS-os betegek felvételükkor mért és az egészséges, kontroll személyek haemorheológiai paramétereit az összes mért rheológiai paraméter szignifikánsan ( $p < 0,01-0,001$ ) rosszabb volt a betegekben, mint a kontroll személyekben. Az AICS-s betegekben mért szignifikánsan magasabb vörösvérsejt aggregációt magyarázhatja a magasabb fibrinogén koncentráció. A vörösvérsejt aggregatio mellett a vörösvérsejt rigiditást is fokozottnak találtuk az AICS-os betegekben a kontroll személyekhez viszonyítva. Mindezen elváltozások tovább csökkenthetik a coronaria vérkeringést az atheroscleroticus laesio által szűkített területen.

Megvizsgáltuk az AICS-s betegek haemorheológiai paramétereinek alakulását a vizsgált periódusban. A teljes vér viszkozitás mérés minden értéke, míg a haematocrit esetén a 6. nap kivételével minden érték szignifikánsan ( $p < 0,001$ ) magasabb volt a betegekben, mint a kontroll személyekben. A kórházi szakban mindkét paraméter csökkent, majd az elbocsátást követően emelkedett és meghaladta a felvételnél mért értékeket. Hasonlóan együtt változott a fibrinogén koncentráció és a plazma viszkozitás: a kórházi szakban folyamatos emelkedést mutattak, majd az elbocsátást követően értékük csökkent, de a kontroll csoport értékeit továbbra is szignifikánsan ( $p < 0,001$ ) meghaladták. A vörösvérsejt aggregatio a kórházi szakban és az egyéves mérés alkalmával ( $p < 0,05-0,01$ ), míg a vörösvérsejt deformabilitás a teljes vizsgálati periódusban szignifikánsan ( $p < 0,001$ ) rosszabb volt, mint a kontroll csoport hasonló értékei. A kórházi szakban – valószínűleg az akut fázis reakció következtében – a fibrinogén koncentráció szignifikánsan emelkedett a felvételi értékekhez képest, mely magával vonta a plazma viszkozitás emelkedését is. Mivel a fibrinogénnek központi szerepe van a thrombocytá és a vörösvérsejt aggregációban, illetve a plazma és teljes vér viszkozitás egyik fő meghatározója, ezért emelkedése megnövelheti egy reccurens akut coronaria esemény valószínűségét. Az utánkövetési időszak eredményei közül fokozott figyelmet érdemel a haematocrit és vele együtt a vér viszkozitásának emelkedése, melynek pontos mechanizmusa nem ismert, azonban szintén hozzájárulhatnak egy újabb coronaria esemény kialakulásához.

## **5. A THROMBOCYTA AGGREGATIO GÁTLÓ TERÁPIA HATÉKONYSÁGÁNAK ÉS A HAEMORHEOLOGIAI PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA AGYÉRBETEGEKBEN**

A thrombocytá aggregatio gátló terápia az akut cerebrovascularis kórképek megelőzésének is (hasonlóan a cardiovascularis betegségekhez) alapvető része. Bár az ASA rezisztencia a cerebrovascularis betegeket is érinti, az ASA dózisának emelésével a gastrointestinalis mellékhatások mellett számolni kell a haemorrhagias stroke kialakulásának fokozott kockázatával is. Ezért, a megfelelő prevenció elérése és a súlyos mellékhatások elkerülése érdekében kiemelt jelentősége lehet a thrombocytá aggregatio gátló terápia egyénre szabott beállításának.

Az ischaemiás cerebrovascularis betegségekben a haemodinamikai tényezők mellett a haemorheológiai faktorok is alapvető jelentőséggel bírnak. A macrocirculatio zavarok mellett az esetek kb. harmadában a microcirculatio területén is lejátszódhatnak kóros

folyamatok, az agyi vérkeringés zavarának speciális formáit (lacunaris infarctus) okozva. A krónikusan észlelhető haemorheológiai eltérések pedig újabb cardio- és cerebrovasculáris események fellépésére hajlamosítanak.

## **5.1 Betegek és módszerek**

### *Betegek:*

Vizsgálatunk során 297 krónikus fázisú (legalább 3 hónappal a stroke vagy TIA kialakulása után) ischaemiás cerebrovasculáris beteg (61±8 év; 173 férfi és 124 nő) adatait dolgoztuk fel. Az agyérbetegség diagnózisát a klinikai kép és a képképző vizsgálatok (CT, MRI) eredménye alapján állítottuk fel. A kontroll csoportba 68 egyén tartozott (30 férfi és 38 nő; 36±6 év), anamnézistükben jelentős cerebrovasculáris rizikófaktor nem szerepelt. A cerebrovasculáris betegek közül megelőző tranziens ischaemiás attack 78 betegnél, krónikus cerebrális infarctus 219 betegnél fordult elő.

Betegeink többsége a szekunder preventív kezelés során rutinszerűen használt thrombocytá aggregatio gátló terápiát kapta. A betegek nagy része, kb. 70 %-uk kis dózisú (napi 100-200 mg) ASA-at szedett, kisebb részük, kb. 20 % napi 500 mg ticlopidint kapott és kb. a betegek 10 %-a orális anticoaguláns kezelésben részesült cardiogen embólia forrás miatt. 260 beteg szedett neuroprotektív szereket, pentoxiphyllint, piracetamot vagy vinpocetint.

### *Thrombocytá aggregatio gátlás vizsgálata és haemorheológiai vizsgálatok:*

A mérések az előzőekben már leírt módon és módszerekkel történtek.

A laboratóriumi vizsgálatokat valamennyi betegnél standardizált körülmények között, éhgyomorral, fél liter cukormentes folyadék elfogyasztása után végeztük el, a vért cubitalis vénából vettük.

A thrombocytá aggregatio gátló terápia hatékonyságát Born-féle turbidimetriás elven működő Carat TX-4 (Carat Diagnosztika Kft., Magyarország) négycsatornás thrombocytá aggregométerrel végeztük. A haematocrit meghatározása microhaematocrit centrifugával (Hemofuge, Heraeus Instr., Németország) történt, a fibrinogén koncentráció méréséhez Clausz módszert használtunk. A viszkozitás méréseket Hevimet 40 capillaris viszkoziméteren (Hemorex Kft., Magyarország) végeztük. A vörösvérsejt aggregatio mérés Myrenne MA-1 aggregométerrel (Myrenne GmbH, Németország) történt. A vörösvérsejt deformabilitás meghatározáshoz Carat-1 filtrométert használtunk (CARAT Kft., Magyarország).

## 5.2 Eredmények

A kis dózisú (napi 100-200 mg) ASA-at szedők közel harmadánál laboratóriumilag hatástalan volt az alkalmazott thrombocyta aggregatio gátló terápia, ugyanez az arány a ticlopidint (napi 500 mg) szedők esetén jelentősen kisebb volt, de így is a betegek több mint 20 %-át érintette. Teljes gátlást az ASA szedők mindössze negyedénél tudtunk megállapítani, ugyanez a ticlopidin terápiában részesülőknél majdnem duplája, 48 % volt.

A cerebrovascularis betegeknél az összes mért rheológiai paraméter szignifikánsan rosszabb volt, mint a kontroll csoport hasonló értékei. A legkifejezettebb eltéréseket a macrorheológiai paramétereknél, a haematocritnál, a fibrinogénnél, a plazma és a teljes vér viszkozitásánál találtuk.

A thrombocyta aggregatio gátló terápia egyénre szabott beállításával a lehető legkevesebb súlyos mellékhatás mellett érhető el a maximális prevenció. A kóros rheológiai viszonyok az újabb stroke fellépésének valószínűségét növelik, korrigálásuk egyrészt a beteg életvitelének megváltoztatásával, valamint a beteg számára legoptimálisabb gyógyszeres kezeléssel biztosítható. A krónikus agyérbetegek rendszeres haemorheológiai vizsgálata elősegíti az aktuálisan alkalmazott preventív gyógyszeres kezelés hatékonyságának megítélését, szükség szerint annak módosítását vagy kiegészítését indikálja.

## 6. CEREbroVASCULARIS TÁMADÁSPONTÚ GYÓGYSZEREK SZABADGYÖK- FOGÓ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Elsődleges hatásuk mellett számos gyógyszer vagy metabolit is rendelkezik scavenger aktivitással, mely további terápiás hasznot jelenthet a mindennapi gyakorlatban. Ezért a klinikumban használt cerebrovascularis gyógyszerek antioxidáns tulajdonságának kimutatása terápiás konzekvenciával járhat, főleg azokban a betegségekben, amelyekben a szabad gyökök jelentős szereppel bírnak, mint pl. az ischaemia-reperfúzió okozta központi idegrendszeri károsodás.

### 6.2 Módszerek

*Minták előkészítése:*

Egészséges önkéntesektől (10-10 vérminta), perifériás vénából 30 ml vénás vért vettünk Na-heparin tartalmú csövekbe Vacutainer rendszerrel. A vérmintákat 2500g-n 10 percig centrifugáltuk, majd a felülúszó eltávolítását követően a vörösvérsejt szuszpenziót két alkalommal foszfát pufferben mostuk. Az utolsó centrifugálást követően a felülúszót

eltávolítottuk, a vörösvérsejteket reszuszpendáltuk PBS pufferben, majd a haematocritot 20%-ra állítottuk be. Az oxidatív stressz kiváltásához 1 mM PMS-t használtunk, a mintákat folyamatos keverés mellett 37°C-on 120 percig inkubáltuk. A gyógyszeresen kezelt minták esetében az inkubációs médium egy cerebrovasculáris gyógyszert is tartalmazott különböző koncentrációkban. A kontroll minták sem PMS-t, sem pedig gyógyszert nem tartalmaztak. Az inkubációt követően a mintákat ismételt centrifugáltuk, majd a felülúszó eltávolítását követően a haematocritot PBS pufferrel 10%-ra állítottuk be. Meghatároztuk a vörösvérsejt szuszpenzió filterabilitását, illetve az inkubációs médium felülúszójának kálium koncentrációját is.

#### *Vizsgált gyógyszerek:*

Tanulmányunkban három széles körben elterjedt, cerebrovasculáris támadáspontú, keringésjavító szer antioxidáns hatását vizsgáltuk a terápiás szérum koncentrációjuknak megfelelő dózisban (pentoxiphyllin 0,5  $\mu$ M, piracetam 50  $\mu$ M, vinpocetin 0,05  $\mu$ M), annak tízszeres és százszoros mennyiségében és hasonlítottuk az ismert antioxidáns, a Trolox (az E-vitamin vízoldékony formája) terápiás szérum koncentrációban (2  $\mu$ M) tapasztalható antioxidáns hatásához.

A pentoxiphyllint, a piracetamot és a Troloxot a Sigma-Aldrich Rt.-től, a vinpocetint a Richter Gedeon Rt.-től szereztük be.

#### *A vörösvérsejt filtráció mérése:*

A filtrációs méréseket St. George elven működő Carat FT-1 filtrométerrel (CARAT Kft., Magyarország) végeztük a korábban már ismertetett módon. Az eredményeket a PMS indukálta RCTT emelkedés prevenciójának százalékban kifejezett értékében adtuk meg:

$$(RCTT_{PMS} - RCTT_{PMS+gyogyszer}) / (RCTT_{PMS} - RCTT_{kontroll}) \times 100.$$

#### *Kálium koncentráció meghatározása:*

A filtrációs mérések mellett megvizsgáltuk a sejtekből történő kálium kiáramlást is. A kálium koncentrációt OMSZÖV OE 851 (OMSZÖV, Magyarország) digitális lángfotométerrel határoztuk meg. Eredményeinket a PMS indukálta kálium kiáramlás prevenciójának százalékban kifejezett értékében adtuk meg:

$$(K^+_{PMS} - K^+_{PMS+gyogyszer}) / (K^+_{PMS} - K^+_{kontroll}) \times 100.$$

### **6.3 Eredmények**

Az oxidatív stressz hatására a vörösvérsejtek rigiditása jelentős mértékben fokozódott, filtrálhatóságuk csökkent, az RCTT szignifikánsan ( $p < 0,001$ ) megnyúlt. A sejtmembrán

károsodása következtében kálium áramlott ki a sejtekből, a felülúszó kálium koncentrációja szignifikánsan ( $p < 0,001$ ) megemelkedett.

A pentoxiphyllin szignifikáns ( $p < 0,05$ ) antioxidáns kapacitást csak százszoros szérum koncentráció mellett mutatott, melyet a klinikai gyakorlatban nem lehet elérni. A piracetam tízszeres szérum koncentráció mellett fejtett ki szignifikáns protektív hatást ( $p < 0,01$ ), és ez a koncentráció emelésével fokozódott ( $p < 0,001$ ). Azonban a szernek az agyszövetben történő kumulálódása következtében lehetséges, hogy a KIR területén - átlagos terápiás szérumkoncentrációt alkalmazva is - képes lehet e kedvező hatását kifejteni. A vinpocetin már szérum koncentrációt alkalmazva is szignifikáns ( $p < 0,01$ ), kb. 20 %-os protektív, antioxidáns sajátással rendelkezett, ez a hatás a koncentráció emelésével tovább nőtt, és az alkalmazott legmagasabb koncentráció mellett volt a legnagyobb ( $p < 0,001$ ). A referencia szerként használt, ismert antioxidáns E-vitamin szignifikáns ( $p < 0,01$ ) scavenger aktivitással rendelkezik, melyet a vinpocetin terápiás koncentrációban is megközelített.

A vizsgált gyógyszerek antioxidáns kapacitását a kálium kiáramlás prevenciójának mértékében vizsgálva is az előzőhöz hasonló eredményeket kaptunk.

## 7. KÖVETKEZTETÉSEK

I. A von Willebrand faktor az endothelium diszfunkció jó markerének bizonyult. Az egészséges kontroll személyekhez viszonyítva valamennyi vascularis kórképben magasabb a von Willebrand faktor aktivitás, mely az endothelium diszfunkcióval és a kifejlődő atherosclerosisra is függhet össze. A krónikus betegekhez képest az akut kórképekben mért szignifikánsan magasabb von Willebrand faktor aktivitás utalhat a nagyobb fokú endothelkárosodásra, illetve a thrombocyta adhesio és aggregatio fokozása révén összefüggésben lehet az akut vascularis események kialakulásával. Az atorvastatin a lipidparaméterek mellett javította az endothel funkciót is, mely eredmény további magyarázatot adhat a statinok cardiovascularis mortalitásra gyakorolt kedvező hatásához. A von Willebrand faktor aktivitás rutinszerű mérésének az endothel diszfunkció markereként klinikai jelentősége lehet, mivel viszonylag egyszerű laboratóriumi módszer segítségével hozzájárulhat a vascularis betegségek diagnózisához és a kórkép progressziójának indikátora lehet.

2. Az AICS-s betegeknel alkalmazott thrombocytá aggregatio gátló terápia hatékonyságát vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a laboratóriumilag mért effektivitás a betegek jelentős részénél nem megfelelő. Vizsgálatunk összefüggést vetett fel a nemkívánatos cardiovascularis események előfordulása és a laboratóriumilag mérhető hatékonyság között. A kapott eredmények hangsúlyozzák a rendszeres ellenőrzés és az egyénileg beállított terápia szükségességét. A hatástalan terápia aránya valószínűleg csökkenthető az ASA dózisének emelésével, thienopyridinek vagy kombináció alkalmazásával és a betegek compliance-ének javításával. A betegeknel tapasztalt kóros rheologiai viszonyok hozzájárulhatnak az akut esemény kifejlődéséhez; a kórházi szakban, illetve az utánkövetés során tapasztalt további romlásuk pedig elősegítheti egy ismételt esemény kialakulását. Eredményeink tehát felhívják a figyelmet a megfelelően ellenőrzött szekunder prevenció jelentőségére és az elbocsátást követően is meglévő rheologiai rizikóra.

3. Hasonlóan az AICS-s betegekhez, a krónikus agyérbetegeknel alkalmazott thrombocytá aggregatio gátló terápiát is hatástalannak találtuk az esetek jelentős részében. Ennek egyénre szabott beállításával javítható lehet a szekunder prevenció hatékonysága és csökkenthető lehet a súlyos mellékhatások előfordulási gyakorisága. A betegeknel tapasztalt kóros rheologiai viszonyok tovább rontják a cerebrális perfúziót, ezért növelik az újabb stroke fellépésének valószínűségét.

4. In vitro rheologiai tanulmányunkban kimutattuk, hogy a vizsgált cerebrovascularis gyógyszerek közül a vinpocetin rendelkezett jelentős, míg a piracetam még klinikailag értékelhető antioxidáns hatással. Figyelembe véve a szabad gyökök kóros szerepét számos cerebrovascularis betegség pathogenesisében és/vagy progressziójában, a kapott eredmény rávilágíthat e széles körben elterjedt gyógyszerek használatának további lehetséges előnyeire.

Eredményeink alapján tehát a jelentős morbiditási és mortalitási tényezőt jelentő vascularis kórképek diagnózisában, terápiájában, primer és szekunder prevenciójában fontos szerepe lehet az endothel diszfunkció korai kimutatásának és kezelésének, a thrombocytá aggregatio hatékony gátlásának, a vér áramlási tulajdonságai javításának és a szabad gyökök közömbösítésének.



## A SZERZŐ PUBLIKÁCIÓI

### I. Könyvfejezet:

KÉSMÁRKY G., HORVÁTH B. és TÓTH K. A haemorheológiai tényezők szerepe az atherosclerosis kialakulásában. In: Atherosclerosis. Ed: Császár, nyomtatásban, 2003.

### II. Teljes közlemények

1. MARTON, ZS., KESMARKY, G., VEKASI, J., CSER, A., RUSSAI, R., HORVATH, B. and TOTH, K. Red blood cell aggregation measurements in whole blood and fibrinogen solutions by different methods. Clin. Hemorheol. Microcirc., 24, 75-83, 2001.

2. MARTON, ZS., HALMOSI, R., HORVATH, B., ALEXY, T., KESMARKY, G., VEKASI, J., BATTYANY, I., HIDEG, K. and TOTH, K. Scavenger effect of experimental and clinically used cardiovascular drugs. J. Cardiovasc. Pharmacol., 38, 745-753, 2001.

3. HORVÁTH B., MÁRTON ZS., HALMOSI R., ALEXY T., SZAPÁRY L., VÉKÁSI J., BÍRÓ ZS., HABON T., KÉSMÁRKY G. és TÓTH K. Cerebrovascularis támadáspontú gyógyszerek szabad gyökfógó hatásának vizsgálata. Orv. Hetilap, 142, 13-17, 2002.

4. HORVATH, B., MARTON, ZS., HALMOSI, R., ALEXY, T., SZAPARY, L., VEKASI, J., BIRO, ZS., HABON, T., KESMARKY, G. and TOTH, K. In vitro antioxidant properties of pentoxifylline, piracetam and vinpocetine. Clin. Neuropharmacol., 25, 37-42, 2002.

5. MÁRTON ZS., HALMOSI R., HORVÁTH B., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., VÉKÁSI J., BATTYÁNY I., HIDEG K. és TÓTH K. Kísérleti stádiumban lévő és a klinikai gyakorlatban használt kardiovaszkuláris gyógyszerek antioxidáns hatásának vizsgálata. Card. Hung., 32, 63-69, 2002.

6. SZAPÁRY L., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., SZÓTS M., PUSCH G., GAÁL V., PÁLFI A., KOLTAI K., JURICKAY I., TÓTH K. A krónikus ischaemiás agyérbetegségek haemorheológiai jellemzői. Agyérbetegségek, 9, 2-7, 2003.

7. SZAPÁRY L., **HORVÁTH B.**, MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., SZÓTS M., CZOPF J., TÓTH K. Vinpocetin hatása a krónikus agyérbetegek haemorheológiai viszonyaira. *Orv. Hetilap*, 144, 973-978, 2003.

8. SZAPÁRY L., SZÓTS M., **HORVÁTH B.**, MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., JURICKAY I., NAGY F., GAÁL V. és TÓTH K. A kardiovaszkuláris rizikófaktorok hatása az agyérbetegek haemorheológiai viszonyaira. *Orv. Hetilap*, 144, 1085-1090, 2003.

9. SZAPÁRY L., CSALÓDI R., PUSCH G., **HORVÁTH B.**, ALEXY T., MÁRTON ZS., KÉSMÁRKY G., SZÓTS M., KOLTAI K., TÓTH K. A thrombocytáaggregáció-gátló kezelés hatékonyságának aggregometriás vizsgálata ischaemiás agyérbetegeknél. *Agyérbetegségek*, 9, 12-17, 2003.

10. ALEXY T., STEF GY., MÁRTON ZS., **HORVÁTH B.**, KOLTAI K., PÁLFI A., FEHÉR G., BÓCSA Z., PUSCH G., SZAPÁRY L., KÉSMÁRKY G., VERESS G., TÓTH K. A rutinszerűen alkalmazott trombotocita aggregáció gátló kezelés hatékonyságának felmérése értegekben. *Kardiológus*, 2, 5-24, 2003.

11. **HORVATH, B.**, SZAPARY, L., MARTON, ZS., ALEXY, T., KESMARKY, G. and TOTH, K. Short-term effects of atorvastatin on hemorheologic parameters, platelet aggregation and endothelium dysfunction in patients with hypercholesterolemia. (reviewed research letter) *Eur. Heart J.*, 25, 96, 2004.

12. **HORVÁTH B.**, HEGEDŰS D., SZAPÁRY L., MÁRTON ZS., ALEXY T., KOLTAI K., GYEVNÁR ZS., JURICKAY I., TÓTH K. és KÉSMÁRKY G. A von Willebrand faktornak, mint az endothelium diszfunkció markerének vizsgálata értegekben. *Orv. Hetilap*, 144, 2471-2476, 2003.

13. MARTON, ZS., **HORVATH, B.**, ALEXY, T., KESMARKY, G., CZOPF, L., HABON, T., KOVACS, L., PAPP, E., HALMOSI, R., MEZEY, B., ROTH, E. and TOTH, K. Follow-up of hemorheological parameters and platelet aggregation in patients with acute coronary syndromes. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 29, 81-94, 2003.

14. SZAPARY, L., **HORVATH, B.**, MARTON, ZS., ALEXY, T., KESMARKY, G., SZOTS, M., KOLTAI, K., CZOPF, J. and TOTH, K. Short term effect of low dose atorvastatin on hemorheological parameters, platelet aggregation and endothelial function in cerebrovascular patients with dyslipidemia. *CNS Drugs*, in press, 2003.

15. SZAPARY, L., **HORVATH, B.**, MARTON, ZS., ALEXY, T., DEMETER, N., SZOTS, M., KLABUZAI, A., KESMARKY, G., JURICKSKAY, I., GAAL, V., CZOPF, J. and TOTH, K. Hemorheological disturbances in patients with chronic cerebrovascular diseases. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, accepted for publication.

16. ALEXY, T., TOTH, A., MARTON, ZS., **HORVATH, B.**, KOLTAI, K., KESMARKY, G., KALAI, T., HIDEG, K., SUMEGI, B., TOTH, K. Inhibition of platelet aggregation by poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, accepted for publication.

17. **HORVATH, B.**, HEGEDUS, D., SZAPARY, L., MARTON, ZS., ALEXY, T., KOLTAI, K., CZOPF, L., WITTMANN, I., JURICKSKAY, I., TOTH, K. and KESMARKY, G. Examination of von Willebrand factor activity and the effect of atorvastatin therapy on endothelial dysfunction in vascular diseases. *Clin. Cardiol.*, under publication.

18. MARTON, ZS., HALMOSI, R., ALEXY, T., **HORVATH, B.**, TOTH, A., FEHER, G., KOLTAI, K., KESMARKY, G., HABON, T., SUMEGI, B., HIDEG, K. and TOTH, K. Hemorheological methods in drug research. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, under publication.

### **III. Citálható abstractok**

1. KÉSMÁRKY G., MÁRTON ZS., **HORVÁTH B.**, JURICKSKAY I., TÓTH K. és MÓZSIK GY. A szívizom vérellátásának haemorheológiai aspektusai. XLVIII. Dunántúli Belgyógyász Vándorgyűlés, 2001. június 14-16., Kaposvár, Magyar Belorv. Arch. Suppl. 2, 54, 67-68, 2001.

2. MÁRTON ZS., **HORVÁTH B.**, KÉSMÁRKY G., NAGY B., PAPP E., CZOPF L., HABON T., KOVÁCS L., TÓTH K. és MÓZSIK GY. A haemorheológiai faktorok és a thrombocyt-funkció mérésének jelentősége akut ischaemiás coronaria szindrómában. XLVIII. Dunántúli Belgyógyász Vándorgyűlés, 2001. június 14-16., Kaposvár, Magyar Belorv. Arch. Suppl. 2, 54, 70, 2001.

3. HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., CZOPF L., HABON T., HALMOSI R., KOVÁCS L., PAPP E., SZABADOS E., JURICKAY I. és TÓTH K. A thrombocytá aggregatio, a von Willebrand faktor aktiváció és a haemorheologiai paraméterek mérésének jelentősége acut ischaemiás coronaria szindrómában. Magyar Kardiológusok Társasága 2002. évi Tudományos Kongresszusa, 2002. április 30-május 3., Balatonfüred, Card. Hung. Suppl. 1, 32, 20, 2002.

4. MÁRTON ZS., HALMOSI R., ALEXY T., HORVÁTH B., KÉSMÁRKY G., HIDEG K. és TÓTH K. Kísérleti stádiumban lévő és klinikai gyakorlatban használt kardiovasculáris gyógyszerek gyökfogy hatásának vizsgálata. Magyar Kardiológusok Társasága 2002. évi Tudományos Kongresszusa, 2002. április 30-május 3., Balatonfüred, Card. Hung. Suppl. 1, 32, 71, 2002.

5. ALEXY T., MÁRTON ZS., HORVÁTH B., TROMPOS K., BABOCSAYE E., KÉSMÁRKY G. és TÓTH K. Rutinszerűen alkalmazott thrombocytá aggregatio gátló gyógyszerek hatásvizsgálata. Magyar Kardiológusok Társasága 2002. évi Tudományos Kongresszusa, 2002. április 30-május 3., Balatonfüred, Card. Hung. Suppl. 1, 32, 77, 2002.

6. HORVATH, B., MARTON, ZS., KESMARKY, G., ALEXY, T., JURICKAY, I. and TOTH, K. The importance of hemorheological parameters and platelet aggregation in patients with acute coronary syndromes. XIV<sup>th</sup> World Congress of Cardiology, May 5-9, 2002, Sydney, Australia, J. Am. Coll. Cardiol., 39, Suppl. B, 125B, 2002.

7. MARTON, ZS., HALMOSI, R., HORVATH, B., ALEXY, T., KESMARKY, G., HIDEG, K. and TOTH, K. Antioxidant properties of H-2545 and other cardiovascular drugs. XIV<sup>th</sup> World Congress of Cardiology, May 5-9, 2002, Sydney, Australia, J. Am. Coll. Cardiol., 39, Suppl. B, 12B, 2002.

8. PAPP E., CZOPF L., HABON T., HALMOSI R., KOVÁCS L., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., MELEGH B., TAHIN T., KOMÓCSI A., HORVÁTH I., TÓTH K. és MÓZSIK GY. Drog indukálta fiatalkori miokardiális infarktus. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLIX. Vándorgyűlése, Nagykanizsa, 2002. június 13-15., Magyar Belorv. Arch. Suppl. 1, 55, 53, 2002.

9. KÉSMÁRKY G., MÁRTON ZS., HORVÁTH B., ALEXY T., HEGEDŰS D., CZOPF L., HABON T., KOVÁCS L., TÓTH K. és MÓZSIK GY. A hemoreológiai és artériás thrombosis rizikó felmérése akut ischaemiás coronaria-szindrómában. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának XLIX. Vándorgyűlése, Nagykanizsa, 2002. június 13-15., Magyar Belorv. Arch. Suppl. 1, 55, 56-57, 2002.

10. TOTH, K., MARTON, ZS., HORVATH, B., ALEXY, T., KESMARKY, G. and JURICKSKAY, I. Hemorheological parameters in cardiovascular diseases. 4<sup>th</sup> International Congress of Pathophysiology, 2002. June 29-July 5, Budapest, Acta Phys. Hung., 89, 71, 2002.

11. SZAPARY, L., HORVATH, B., MARTON, ZS., ALEXY, T., DEMETER, N., KLABUZAI, A., JURICKSKAY, I., GAAL, V., CZOPF, J. and TOTH, K. Hemorheological disturbances in chronic phase cerebrovascular patients. 11<sup>th</sup> European Stroke Conference, May 29-June 1, 2002, Geneva, Switzerland, Cerebrovasc. Dis., 13 (Suppl. 3), 37, 2002.

12. SZAPARY, L., HORVATH, B., MARTON, ZS., ALEXY, T., SZOTS, M., CSANODI, R., KLABUZAI, A., JURICKSKAY, I., CZOPF, J. and TOTH, K. Effects of low dose acetylsalicylic acid (ASA) and ticlopidine on platelet aggregability in chronic phase ischaemic stroke patients. 11<sup>th</sup> European Stroke Conference, May 29-June 1, 2002, Geneva, Switzerland, Cerebrovasc. Dis., 13 (Suppl. 3), 19, 2002.

13. KESMARKY, G., MARTON, ZS., HORVATH, B., ALEXY, T., JURICKSKAY, I. and TOTH, K. Hemorheology, thrombosis and endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. 11<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 4<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology, September 22-26, 2002, Antalya, Turkey, Biorheology, 39, 605, 2002.

14. HORVATH, B., MARTON, ZS., ALEXY, T., KESMARKY, G., JURICKSKAY, I. and TOTH, K. Hemorheological parameters, von Willebrand factor activity and platelet aggregation in acute coronary syndromes. 11<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 4<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology, September 22-26, 2002, Antalya, Turkey, Biorheology, 39, 606, 2002.

15. SZAPARY, L., HORVATH, B., MARTON, ZS., ALEXY, T., KESMARKY, G., SZOTS, M., JURICKAY, I., CZOPF, J. and TOTH, K. Hemorheological disturbances and platelet aggregation in patients with chronic cerebrovascular diseases. 11<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 4<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology, September 22-26, 2002, Antalya, Turkey, Biorheology, 39, 606, 2002.

16. ALEXY, T., MARTON, ZS., HALMOSI, R., HORVATH, B., KESMARKY, G., HIDEG, K. and TOTH, K. Examination of the antioxidant properties of cardio- and cerebrovascular drugs in an in vitro rheological model. 11<sup>th</sup> International Congress of Biorheology and 4<sup>th</sup> International Conference on Clinical Hemorheology, September 22-26, 2002, Antalya, Turkey, Biorheology, 39, 607, 2002.

17. KÉSMÁRKY G., HORVÁTH B., HEGEDŰS D., ALEXY T., MÁRTON ZS., SZAPÁRY L., JURICKAY I. és TÓTH K. A von Willebrand-faktornak mint az endothelium diszfunkció markerének mérése ér betegekben. A Magyar Belgyógyász Társaság XXXIX. Nagygyűlése, 2002. november 21-23. Budapest, Magyar Belorv. Arch., 55, 80, 2002.

18. SZAPARY, L., SZOTS, M., HORVATH, B., MARTON, ZS., ALEXY, T., KESMARKY, G., KLABUZAI, A., JURICKAY, I., CZOPF, J. and TOTH, K. The effects of cardiovascular risk factors on hemorheological parameters in patients with chronic cerebrovascular diseases. 6<sup>th</sup> Congress of European Federation of Neurological Societies, October 26-29, 2002, Vienna, Eur. J. Neurol., 9 (Suppl. 2), 169, 2002.

19. KÉSMÁRKY G., MÁRTON ZS., HORVÁTH B., ALEXY T., KOLTAI K., FEHÉR G. és TÓTH K. A trombocita aggregáció-gátló kezelés hatásosságának felmérése ér betegekben. Magyar Kardiológusok Társasága 2003. évi Tudományos Kongresszusa, 2003. május 14-17., Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2, 33, 8, 2003.

20. HORVÁTH B., HEGEDŰS D., KÉSMÁRKY G., SZAPÁRY L., MÁRTON ZS., ALEXY T., JURICKAY I., KOLTAI K., GYEVNÁR ZS. és TÓTH K. A von Willebrand faktor vizsgálata és befolyásolásának lehetősége atorvastatin terápiával ér betegekben. Magyar Kardiológusok Társasága 2003. évi Tudományos Kongresszusa, 2003. május 14-17., Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2, 33, 9, 2003.

21. ALEXY T., TÓTH A., MÁRTON ZS., **HORVÁTH B.**, KOLTAI K., PÁLFI A., KÉSMÁRKY G., HIDEG K., SÜMEGI B. és TÓTH K. Poli(ADP-ribóz) polimeráz gátlók trombocita aggregáció gátló hatásának vizsgálata. Magyar Kardiológusok Társasága 2003. évi Tudományos Kongresszusa, 2003. május 14-17., Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2, 33, 63, 2003.
22. **HORVÁTH B.**, HEGEDŰS D., KÉSMÁRKY G., SZAPÁRY L., MÁRTON ZS., ALEXY T., JURICKAY I., KOLTAI K., GYEVNÁR ZS. és TÓTH K. A von Willebrand faktor vizsgálata és befolyásolásának lehetősége atorvastatin terápiával értegekben. A Magyar Belgyógyász Társaság 50. Nagygyűlése, Pécs, 2003. június 26-28., Magyar Belorv. Arch., Suppl. 2, 56, 58-59, 2003.
23. ALEXY T., STEF GY., MÁRTON ZS., **HORVÁTH B.**, KOLTAI K., PÁLFI A., FEHÉR G., BÓCSA Z., PUSCH G., SZAPÁRY L., KÉSMÁRKY G., VERESS G. és TÓTH K. A rutinszerűen alkalmazott trombocita aggregáció gátló kezelés hatékonyságának felmérése értegekben. A Magyar Belgyógyász Társaság 50. Nagygyűlése, Pécs, 2003. június 26-28., Magyar Belorv. Arch., Suppl. 3/2, 56, 31, 2003.
24. KESMARKY, G., ALEXY, T., **HORVATH, B.**, MARTON, ZS., KOLTAI, K., SZAPARY, L., and TOTH, K. Efficiency of antiplatelet therapy in vascular patients. Congress of the European Society of Cardiology, 30 August-3 September, 2003, Vienna, Austria, Eur. Heart J., Suppl. 1., 24 ,370, 2003.
25. MARTON, ZS., HALMOSI, R., **HORVATH, B.**, ALEXY, T., KESMARKY, G., HIDEG, K., TOTH, K. Antioxidant properties of H-2545 and other cardiovascular drugs. IVth International Symposium on Myocardial Cytoprotection: From basic science to clinical perspectives, September 25-27, 2003, Pecs, Hungary, Exp. Clin. Cardiol., 8, 44, 2003.
26. TOTH, A., ALEXY, T., MATON, ZS., **HORVAH, B.**, KOLTAI, K., PALFI, A., KESMÁRKY, G., KALAI, T., HIDEG, K., SÜMEGI, B., TOTH, K. Inhibition of platelet aggregation by poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. IVth International Symposium on Myocardial Cytoprotection: From basic science to clinical perspectives, September 25-27, 2003, Pecs, Hungary, Exp. Clin. Cardiol., 8, 50, 2003.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Vizsgálatainkat a PTE ÁOK I.sz. Belgyógyászati Klinika Haemorheologiai Laboratóriumában végeztük.

Köszönetet szeretnék mondani program- és témavezetőmnek, Dr. Tóth Kálmán professzornak, aki lehetőséget adott kutatásaim végrehajtásához és egész munkám során támogatott, segítséggel és hasznos tanácsokkal látott el.

Köszönettel tartozom Dr. Késmárky Gábornak, aki a Haemorheologiai Laboratórium vezetőjeként irányította, felügyelte és segítette munkámat.

A statisztikai elemzésekben nyújtott segítségért hálával tartozom Dr. Juricskay Istvánnak, míg munkám klinikai részének lebonyolításában Dr. Czopf Lászlótól, Dr. Habon Tamástól, Dr. Kovács Lászlótól és Dr. Papp Elődtől kaptam a legtöbb segítséget. A neurológiai témájú vizsgálatokban nyújtott segítségéért Dr. Szapáry Lászlónak tartozom köszönettel.

A mérések kivitelezésében nagyon sok segítséget kaptam munkatársaimtól, Dr. Márton Zsolttól, Dr. Alexy Tamástól, Dr. Koltai Katalintól és Dr. Hegedűs Dalmától. Köszönettel tartozom a sok technikai segítségért Nagy Lászlóné és Pavlikné Rigler Klára asszisztensnőknek és az I.sz. Belgyógyászati Klinika Kardiológiai Osztály nővéreinek.

Végül köszönettel tartozom szüleimnek, akik végig mellettem álltak és támogattak.