

**GYÓGYSZERHATÁSOK ÉS HEMOREOLÓGIAI VÁLTOZÁSOK
VIZSGÁLATA ÁLLATKÍSÉRLETES MODELLEN ÉS
KARDIOLÓGIAI BETEGEKEN**

(Ph.D. értekezés)

Dr. Habon Tamás

POTE I.sz. Belgyógyászati Klinika

Témavezető: Dr. Tóth Kálmán

Pécsi Orvostudományi Egyetem

Pécs, 1999.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	1
1.1. A kardiovaszkuláris betegségek jelentősége napjainkban	1
1.2. A szívizom károsodás kísérletes modelljei	2
1.3. A szívizom károsodás biokémiája, a szabadgyökök szerepe	3
1.3.1. Bevezetés.....	3
1.3.2. Az oxigén szabad gyökök keletkezése.....	4
1.3.3. Az oxigén szabad gyökök hatásai a biológiai rendszerekben....	5
1.3.4. Fiziológiás és patológiás szabadgyök-reakciók.....	5
1.3.5. A szabadgyök-reakciók kontrollja a biológiai rendszerekben..	7
1.4. A hemoreológiai faktorok szerepe a keringésben	8
1.5. Célkitűzések	14
2. ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATOK	16
2.1. AZT által indukált kardiomiopátia patkányon	16
2.1.1. Bevezetés.....	16
2.1.2. Anyagok és módszerek.....	17
2.1.3. Eredmények.....	20
2.1.4. Megbeszélés.....	25
2.2. Carvedilol hatása a miokardium iszkémia/reoxigenizáció okozta károsodások kivédésében	28
2.2.1. Bevezetés.....	28
2.2.2. Langendorff perfúziós modell.....	30
2.2.3. Biokémiai módszerek.....	30
2.2.4. Eredmények.....	32
2.2.5. Megbeszélés.....	36
3. IN-VITRO REOLÓGIAI VIZSGÁLATOK	39
3.1. Szabadgyök okozta vörösvértest károsodás vizsgálata reológiai modellen	39
3.1.1. Bevezetés.....	39
3.1.2. Reológiai modell.....	39
3.1.3. Pentoxiphyllin vizsgálata.....	40
3.1.4. Carvedilol vizsgálata.....	41
3.1.5. Megbeszélés.....	43

4. KLINIKAI VIZSGÁLATOK.....	44
4.1. Enoximon hatásának vizsgálata iszkémiás és nem iszkémiás dilatatív kardiomiopátiás betegeken.....	44
4.1.1. Bevezetés.....	44
4.1.2. Betegek és módszerek.....	45
4.1.3. Eredmények.....	46
4.1.4. Megbeszélés.....	47
4.2. Kardiovaszkuláris támadáspontú gyógyszerek reológiai hatásának vizsgálata.....	50
4.2.1. Bevezetés.....	50
4.2.2. Módszerek.....	51
4.2.3. Nitrát.....	51
4.2.4. Alfa-receptor blokkoló.....	53
4.2.5. Lipidcsökkentők.....	56
4.2.5.1. Omega-3-zsírsav.....	56
4.2.5.2. Lovastatin.....	59
4.3. A reológiai tényezők szerepe az iszkémiás szívbetegség diagnosztikájában sokváltozós osztályozás alapján.....	62
4.3.1. Bevezetés.....	62
4.3.2. Betegek és módszerek.....	63
4.3.3. Eredmények.....	65
4.3.4. Megbeszélés.....	68
5. ÖSSZEFOGLALÁS.....	71
6. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	74
7. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK.....	76
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	84
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	112

1. BEVEZETÉS

1.1. A kardiovaszkuláris betegségek jelentősége napjainkban

A gazdaságilag fejlett országokban mindenütt a kardiovaszkuláris betegségek állnak a mortalitási statisztikák élén. Ennek megfelelően ezen betegségek primer és szekunder prevenciója, a kezelés lehetőségei a kutatók és klinikusok érdeklődésének középpontjában állnak. Az 1980-as évek végén az Egyesült Államokban a halálozás közel felét (45,3%-át) a kardiovaszkuláris betegségek okozták (Farmer 1992). Míg azonban a mortalitási mutatók a fejlett nyugati országokban fokozatosan javultak, addig hazánkban - elsősorban az utóbbi 10-15 év folyamán - újabb emelkedés volt tapasztalható, s ennek következtében országunk jelenleg a legrosszabb helyzetű nemzetek sorába tartozik. A szív- és érrendszeri betegségek okozta halálozásban a nők a 6., a férfiak a 7. helyen állnak a világranglistán. Az elmúlt 25 évben Magyarországon a 40-49 éves férfi korcsoportban a halálozás kétszeresére nőtt és jelenleg a 15-60 év közötti lakosság kardiovaszkuláris halálzásának kockázata kétszerese az Ausztriában talált értékeknek (Jánosi 1995). Részben ezen tényezők oda vezettek, hogy Magyarországon 1990-ben a férfiak születéskor várható élettartama 15 évvel alacsonyabb, mint Svédországban illetve Japánban. Érdekes kérdés, hogy a fejlett országokban észlelhető halálozás csökkenés mely tényezők változásának következménye. A megelőzés mellett a koronária őrzők elterjedése, a gyógyszeres és nem gyógyszeres kezelés lehetőségeinek fejlődése is minden bizonnyal komoly tényezőnek tekinthető. Az epidemiológiai tanulmányok eredményei alapján a halálozás csökkenésének több mint fele azonban a lakosság életmód változtatásának köszönhető.

A kardiovaszkuláris betegségeken belül az iszkémiás szívbetegség (ISZB) különböző megjelenési formái a leggyakoribb halálokok, emellett azonban egyre növekvő szerepe van a különféle kardiomiopátiáknak. Az előbbi kórkép patofiziológiája szemponyjából a koronáriák szklerózisa, thrombotikus folyamatok, fokozott spazmuskétség emelhető ki, de ismertek egyéb ritkább tényezők is (pl. X szindróma, arteritis, Kawasaki betegség (Habon 1998)). A dilatatív kardiomiopátia (DCM) kialakulásában számos tényező játszhat szerepet, de az esetek nagy részében az etiológiai tényező ismeretlen. A különböző toxikus hatások (alkohol, gyógyszerek, stb.) jelentős szereppel bírnak a fenti betegség kialakításában. Felmerült familiáris illetve autoimmun eredet is, HLA asszociációt is igazoltak (HLA-DR4).

Az előbbiekre példa a Duchenne/Baker muscularis dystrophia és a Barth szindróma melyek kialakulásáért az X kromoszóma rövid karján (Xp21) elhelyezkedő dystrophin illetve a G4.5 gén (Xq28) mutációja felelős, míg a autoszomális domináns módon öröklődő myotoniás muscularis dystrophiában (Steinert betegség) kialakuló kardiomiopátia hátterében a 19q13 gén (myotonin protein kináz) hibája áll. A fentiek mellett ismertek a mitokondriális DNS (mtDNS) mutációjával járó kardiomiopátiák, melyek az oxidatív foszforiláció károsodása miatt kifejezett metabolikus eltérésekkel szövődnek, anyai öröklődést mutatnak. A mtDNS deléciója következtében a respirációs komplex károsodás és mitokondriális transzfer RNS mutáció jöhet létre. Toxikus ágensek (doxorubicin, zidovudine) is okozhatnak mitokondriális kardiomiopátiát (Bachinski 1998). Összességében elmondható, hogy a mintegy 20 %-ot kitevő familiáris DCM is heterogén betegség.

Mind az iszkémiás szívbetegség, mind a kardiomiopátiák esetén gyakori a hirtelen szívhalál illetve a szívelégtelenség. A Framingham tanulmány adatai szerint az elmúlt 4 évtizedben a szívelégtelenség incidenciája 10 évenként megduplázódott. A prevalencia az idősebb korosztályban a 10%-ot is eléri. A 65 év feletti korcsoportban a szívelégtelenség jelenti a kórházi felvételek elsődleges okát. A komplex patofiziológiai szemlélet illetve az ennek megfelelő modern gyógyszeres kezelés ellenére a betegség 1 éves halálozása súlyos esetben elérheti az 50%-ot.

Mindezek értelemszerűen feltételezik a kutatás központi szerepét mind a megelőzés, mind pedig a gyógykezelés lehetőségeinek területén.

Az ISZB hazai előfordulási gyakoriságához képest az invazív kivizsgálás és kezelés (PTCA, műtét) lehetőségei nagyon korlátozottak, szívelégtelenség esetén az oki terápia az esetek jelentős részében nem megoldható, így általánosságban elmondható, hogy a betegek jelentős többségét gyógyszeres kombinációkkal kell kezelnünk.

1.2. A szívizom károsodás kísérletes modelljei

A szívizom-károsodás, kardiomiopátiák, miokardiszek kísérletes vizsgálata során a különböző állatkísérletes modellek igen nagy jelentőséggel bírnak. Segítségükkel a fenti kórképek patofiziológiájának megismerése mellett új terápiás lehetőségek is elérhetővé válhatnak. A teljesség igénye nélkül az alábbi állatkísérletes modellek ismertek, melyek közül toxikus gyógyszerhatást illetve az iszkémia-reperfúzió okozta károsodást valamint

ennek kivédésének lehetőségeit vizsgáltuk.

- Koronária artéria ligatúra - miokardiális infarktus illetve következményes szívelégtelenség előidézése
- Tahikardia indukálta kardiomiopátia kiváltása krónikus, magas frekvenciájú pacemaker ingerléssel
- Iszkémia/reperfúzió vizsgálata in-vivo (koronária leszorítás) illetve ex-vivo Langendorff perfúzió során
- Aortokavális fistula képzés
- Mitochondriális kardiomiopátia vizsgálata molekuláris biológiai módszerekkel - deléciók, mitokondriális fehérjék, respirációs enzimek, gén expresszió vizsgálata
- Toxikus gyógyszerhatások vizsgálata - doxorubicin, katekolamin, propranolol, AZT,

DDC indukálta kardiomiopátia

- Miokarditisz kiváltása - miozin indukálta autoimmun őriássejtes miokarditisz, krónikus kontrollált endotoxinémia, vírusmiokarditisz (Coxsackie B3, Picorna, Corona, Encephalomyocaritis), parazita miokarditisz (Toxocara canis, Tripanosoma cruzi,

Toxoplasma gondii)

- Irradiáció indukálta kardiomiopátia
- Nutritív - tiámin-, karnitin-, szelén-, proteinhiány
- Hipertermia, hipotermia

1.3. A szívizom károsodás biokémiája

1.3.1. Bevezetés

A kardiovaszkuláris rendszer vizsgálata során fontos kutatási terület a miokardiális iszkémia sejt szintű és molekuláris mechanizmusának vizsgálata.

Az oxidoredukciós folyamatok, valamint azok rendelkezésével mai ismereteink szerint központi szerepet játszanak az érlemezsedés kialakulásában, a szívizom-infarktus és az agyi vaszkuláris betegségek többségének létrejöttében. Ezek a folyamatok a szívét ellátó koszorúér rendszer falát alkotó endothel- és simaizomszövetek, valamint a velük szoros működési kapcsolatban lévő vérésejtek (makrofágok, fehérvérsejtek, trombociták,

A biológiai folyamatokban az oxigén szabad gyökök fő forrásai a mitokondriális elektrontranszportlánc (NAD, FAD, ubikinon, citokróm c), a xantin-oxidáz (o típus), az arachidonsav kaskád (foszfolipáz A₂, lipoxigenáz, ciklooxigenáz) és az aktivált leukociták (mieloperoxidáz).

1.3.3. Az oxigén szabad gyökök hatásai a biológiai rendszerekben

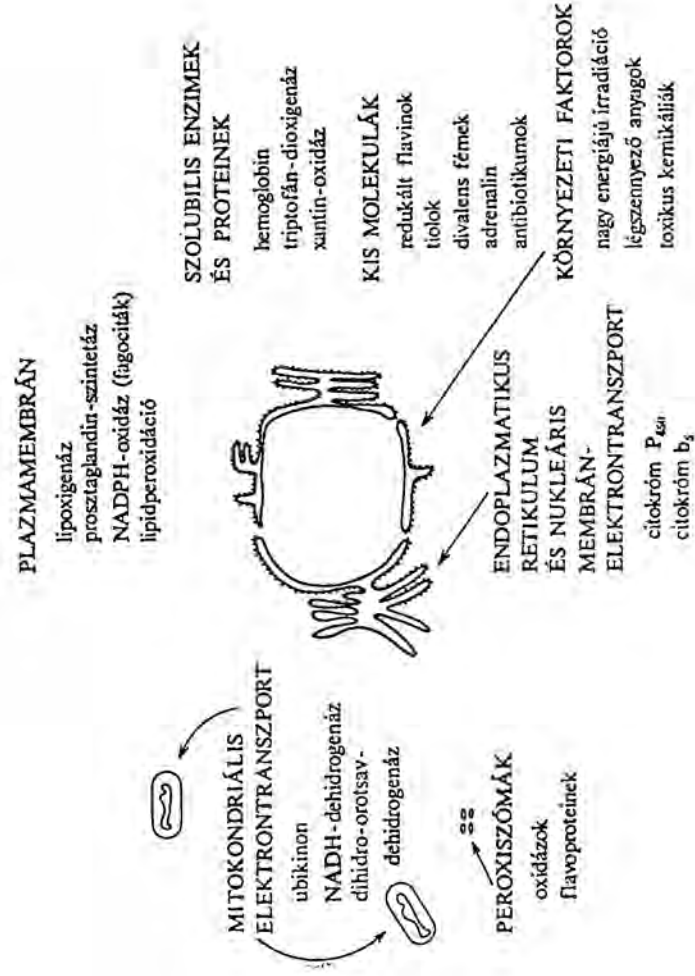
Az oxigén szabad gyökök és reaktív oxigén intermedierek folyamatosan termelődnék az élő szervezetben, ahol az aerob anyagcsere melléktermékeként az oxigén részleges redukciója során jönnek létre (Cohen 1994). Különleges jelentőségüket kémiai reakcióképességük adja, mellyel non-enzimikus oxido-redukciós láncreakciókat képesek beindítani. Ezeknek a folyamatoknak elsősorban az élő szervezetet károsító hatásait ismerjük részletesen, melyek kivédésére, valamint fékezésére bonyolult enzimatikus és non-enzimatikus antioxidáns kompenzációs mechanizmusok léteznek. Számos oxigén szabad gyök mediálta folyamatnak van fiziológiai jelentősége is. Ezek a folyamatok elsősorban lokális, rendkívül gyors és érzékeny szabályozó mechanizmusok közvetítésében szerepelnek (pl. nitrogén monoxid, peroxinitrit), valamint immunológiai folyamatokban, amikor az idegen ágenszt célzottan károsítják (monocita - makrofág rendszer és a neutrofil granulociták által közvetített immunitás) (Halliwell 1994).

A szabad gyökök detektálása az igen rövid élettidejük és rövid térbeli hatótávolságuk miatt nagyon bonyolult. Gyakran a gyökök által mediált reakciók végtermékeit (lipid peroxidok, nitrotirozin, nitritek), az általuk okozott károsodás mértékét (kálium kiáramlás (Wittmann 1989), vvt rigiditás (Tóth 1989), enzimaktivitás, nukleinsav károsodás), az ellenük fellépő védekező mechanizmusok aktivitását (SOD, kataláz, GSS) mérjük. A potenciálisan reaktív oxigén intermedierek által okozott károsodások közvetett vizsgálatára rendszerbe vitt mesterséges vagy természetes scavengereket (Röth 1987) vagy gyök-keltő rendszereket használunk (Maridonneau 1983, Past 1989).

1.3.4. Fiziológiás és patológias szabadgyök-reakciók

A fiziológiás szabadgyök reakciók megfelelően ellenőrzött körülmények között mennek végbe a szervezetben. Fontos szerepük van a különböző sejtek, sejtalkotórészek, enzimek működésében, szintézisében illetve lebontásában. Lényegében a sejt minden

résében keletkezhetnek ROI-ek (2. ábra). Patológiás gyökreakciónak nevezzük a sejtekben, vagy az extracelluláris térben végbemenő kontrollálatlan, abnormis gyökreakciókat. Ilyen reakciókat a fiziológiásan keletkező, a kontrollmechanizmusok alól felszabadult gyökök is kiválthatnak (iszkémia/reperfúzió), létrehozhatják exogén ágensek (kémikáliák, gyógyszerek), vagy fizikai behatások (ionizáló sugárzás, UV fény, stb.).



2. ábra: A szabadgyökök celluláris forrásai (Freeman nyomán).

A fenti reakciók során enzim, fehérje és nukleinsav károsodás jöhet létre. A fehérjék sérülése egyrészt membránkárosodáshoz, másrészt egyes enzimek specifikus aktivitásának elvesztéséhez vezethet. A DNS károsodást a repair mechanizmusok kijavíthatják, de ha állandósul, mutációhoz, a sejt pusztulásához vezethet, vagy karcinogén hatású lehet.

A biomembránok és sejtalkotórészek a lipidperoxidációs (LPO) károsodás fő színhelyei. A mitokondriális és mikroszómális membránok relatíve nagyobb mennyiségű többszörösen telítetlen zsírsavat (PUFA) tartalmaznak foszfolipideikben, mint a plazmamembrán, ezáltal hajlamosabbak peroxidációra. A LPO kontrollálatlan is

végbemeget úgy, hogy nem okoz szövetkárosodást, de előidézője lehet akár reverzibilis, akár irreverzibilis szövetkárosodásnak. Az utóbbi esetben a sejt halála a következmény. A reverzibilitás valószínűleg a sejtek endogén antioxidáns védelmének köszönhető. A szabad gyök reakciók által kiváltott LPO vagy a gyöktermékek kovalens kötődése a biomolekulákhoz közbülső lépéseken keresztül vezet a sejt pusztulásához. Ilyenek lehetnek a foszfolipáz A₂ aktiválása, a lizofoszfátidok felhalmozódása és a már említett DNS lánctörést követő poli-ADP-ribóz polimeráz aktivációja, következményes NAD és ATP deplációval (Ungemach 1987, Schraufstatter 1986).

A mtDNS fokozottan érzékeny az oxidatív stresszhatásokra, mivel a ROI képződés helyéhez közel van és védekezéshez szükséges hisztonok illetve proteinek is hiányoznak. A mtDNS károsodása során a légzési lánc korai fázisban sérül, mely további szuperoxid anion generációhoz és DNS károsodáshoz vezethet. Az ezirányú károsodás szempontjából leginkább érzékeny szervek az agy, a szív, a vázizom és a vese. A fentiek alapján nem meglepő, hogy számos humán vizsgálat és állatkísérlet igazolta az oxidatív stressz szerepét a szívlelgtelenség és más kardiovaszkuláris betegségek patomechanizmusában (Ball 1998).

1.3.5. A szabadgyök-reakciók kontrollja a biológiai rendszerekben

Mivel az élő szervezetekben fiziológias körülmények között is igen sok szabadgyök keletkezik, a gyökmechanizmusok felett szigorú kontrollnak kell léteznie. A membránokat szerkezetük egyes jellegzetes tulajdonságai részlegesen védik. Általánosságban a szabadgyök reakciókat, a gyökök befogása útján gátló vegyületeket scavengereknek nevezzük. Ahhoz, hogy ezek hatásukat kifejthessék, megfelelő koncentrációban el kell jutniuk a megfelelő helyre (Slater 1981). Szintetikus scavengerek terápiás alkalmazása esetén követelmény, hogy toxicitásuk csekély legyen, továbbá, hogy a keletkező scavenger-gyök kevésbé reaktív legyen. Antioxidánsoknak nevezzük az olyan vegyületeket, melyek az oxigénből keletkező reaktív intermedierek toxikus hatásaival szemben védenek. Az antioxidánsok a LPO különböző fázisaiban hathatnak: az iniciáció gátlásával, hidroxidok keletkezésének gátlásával, hidroxidok elbontásával, fémkelator tulajdonságukkal, a szabadgyökök megkötése által. Ismerünk természetes (pl. A-, C-, E-, K-vitamin, szelénium, koenzim Q, tioltartalmú vegyületek) és szintetikus antioxidánsokat. Egy adott antioxidáns egyidejűleg többféle hatásmechanizmussal is

kifejtheti hatását (pl. E-vitamin). Az alacsony szöveti oxigéntenzio fenntartása mellett a ROI-ek közömbösítésére a sejtek többféle enzimmel rendelkeznek: A szuperoxid anion gyököt a szuperoxid-dizmutáz (SOD), a hidrogén-peroxidot a kataláz és a glutation-peroxidáz semlegesíti. A második védővonalat a sejtekben előforduló természetes antioxidánsok, a harmadikat pedig a xenobiotikum-metabolizmus enzimejei (epoxid-hidroláz, citokróm P₄₅₀) képezik. Ha az oxidatív stressz meghaladja a fentiek kapacitását, további védelmet jelent a már károsodott biomolekulákat javító enzimek aktiválódása. Ezek közé tartoznak a proteolitikus, lipolitikus enzimek és a DNS repair enzimejei. Az extracelluláris tér védelmét a cöropoplazmin, a transzferrin, a glukóz mellett a plazmafahérjék (SH- csoport), a húgysav illetve a C- és E-vitamin adja (Wasil 1987, Fehér 1985).

1.4. A hemoreológiai faktorok szerepe a keringésben

A reológia (áramlásban) a különböző anyagok erőhatásra bekövetkező deformálódásával, folyási tulajdonságaival foglalkozó tudomány. Ennek egy részét képezi a folyadékokkal, s ezen belül speciálisan a vérrel foglalkozó tudományág, a hemoreológia. A folyadékokra a folyamatos deformálódás (folyás) jellemző mindaddig, amíg kiegyenlítetlen erők hatnak rájuk

A vér egyik fontos tulajdonsága, hogy nem-newtoni folyadék lévén "viszkozitása" korrekt módon csak függvény formájában értelmezhető, egyetlen adattal nem jellemezhető (Aarts 1989, Coleman 1966, Mátrai 1979, Walawender 1975). Természetesen a klinikai gyakorlatban mindig bizonyos nyírófeszültséghez illetve sebességgrádienshez tartozó viszkozitás értékekről beszélünk, ezeket hasonlítjuk össze.

A teljes vér - mint szuszpenzió - viszkozitását több tényező együttesen befolyásolja, (Bartoli 1982, Begg 1966, Bernasconi 1989, Chien 1982, Copley 1987, Dormandy 1974, Merrill 1969, Mikita 1989, Whittington 1982) főbb meghatározói a következők:

- hematokrit (a szuszpendált részecskék mennyisége)
- plazma viszkozitás (a szuszpenziós folyadék tulajdonsága)
- vvt aggregáció (a szuszpendált részecskék mérete)
- vérsajt deformabilitás (a szuszpendált részecskék saját belső súrlódása).

Funkcionális szempontból az érrendszer általában négy különböző részre szoktuk osztani (Wiederman 1963):

- magas nyomású nagy artériák
- ellenálláserek (kis artériák és arteriolák)
- kapillarisok és venulák (kicsérélődési erek)
- alacsony nyomású kapacitáserek (vénák).

A magas nyomású nagy artériákban az áramlás pulzatis jellegű. Ebben a rendszerben a teljes vérmennyiségnek csupán kb. 10%-a áramlik (3-5 veretérfogatnyi), különösen a szisztole alatt viszonylagosan magas nyírófeszültségnek kitéve.

Az ellenálláserek a lokális vérátáramlás kontrollját szolgálják és szintjükön következik be a legnagyobb nyomásesés. Az áramlás pulzatis jellege még ezen a szinten is jól követhető (Gaehgens 1970). Direkt vényomás és áramlás mérések szerint ezeken az érszakaszokon viszonylag magas nyírófeszültség és nyírási sebesség alakul ki (Lipowsky 1978).

A kicsérélődési erek szakasza hemodinamikai és hemoreológiai szempontból sem tekinthető egységessnek. Míg a kapillarisok területén az összvérmennyiségnek csupán kicsiny hányada található, addig a venulák szintjén ez a mennyiség lényegesen nagyobb. A kapillarisokban a nyírófeszültség és a nyírási sebesség magas, a venulákban viszont a legalacsonyabb az egész érrendszerben. Jellemző még a kapillarisokra, hogy több szövetben (pl.: harántesíktolt izom, szívizom) átlagos átmérőjük kisebb mint a nyugalmi vvt átmérő, így ezeken a részekben a vvt-k csak deformációt követően tudnak áthaladni. A kicsérélődési erekben a vér reológiai tulajdonságai egyrészt következményei, másrészt pedig meghatározói a vér és szövetek közötti lokális folyadékáramlásnak. Egyik oldalról, a fokozott folyadék kiáramlás a szövetek felé emeli a vér lokális hematokritját és fehérje koncentrációját, míg a folyadék érpályába történő beáramlása hemodilúcióhoz vezet. Másik oldalról, a hemoreológiai faktorokban bekövetkező változás érinti a pre- és posztkapilláris ellenállás arányát, s így az intrakapilláris nyomást, mely a lokális folyadék egyensúly megbombolásához vezet.

Az alacsony nyomású kapacitások a magas nyomású artériáktól nem csak a nyomás abszolút értékében különböznek, de abban is, hogy ezekben az erekben a nyomás nagyságát elsősorban nem a perctérfogat és a perifériás ellenállás, hanem a bennük lévő vérmennyiség határozza meg. Ebben az érszakaszban található az összes vér mennyiségének több mint 80%-a. Hemoreológiai jelentőségüket az a tény adja, hogy bennük az áramlás lassú, időnként fiziológiai körülmények között is szinte stagnáló, a fellepő nyírófeszültség alacsony (1 Pa alatt), s ez lehetővé teszi a vérsejtekből felszabaduló mediátorok időben hosszabb hatását az érfalra és fordítva, az érfalból felszabadulókat a vérsejtekre. Ez is elősegíti, hogy az artériás rendszerhez viszonyítva ezen a szakaszon sokkal gyakoribb a vérrögképződés (Tóth 1990e).

Az emberi vér heterogén szuszpenzió, mely különböző méretű és koncentrációjú sejteket tartalmaz (Frojmovic 1982). A sejtek átmérője változik a trombocitától (1-2 μm) a granulocitákig és monocitákig (8-12 μm). A vérsejtek koncentrációja mintegy ezerszeres különbséget mutat a fvs-ek és vvt-k tekintetében. Az érrendszerben történő véráramlás reológiai jellemzőit ezen sejteknek egymáshoz és az érfalhoz való viszonya határozza meg.

A vérsejtek folyási tulajdonságai alapján az érpálya 3 részre osztható:

- tömeges folyás szakasza, az érátmérő $> 300 \mu\text{m}$
- átmeneti zóna, az érátmérő 300 és 8 μm között
- egyenkénti folyás szakasza, az érátmérő $< 8 \mu\text{m}$.

A tömeges folyás szakasza magában foglalja a magas nyomású rendszert, a nagyobb ellenállásereket és a vénákat. Ezen a szakaszon a vér reológiai viselkedését elsősorban a vérsejtek közötti interakciók határozzák meg.

Az átmeneti zónát további 2 részre szoktuk osztani:

- az érátmérő 300 és 30 μm között
- az érátmérő 30 - 8 μm között.

A véráramlásra egyrészt a parabolikus sebességprofil, másrészt pedig az jellemző, hogy az érfalhoz közel viszonylagosan sejtzegény széli plazmaréteg alakul ki (Bayliss 1959), mely réteg vastagsága függ a véráramlás sebességétől. Így egy lassú áramlású és

alacsonyabb hematokritú széli zóna és egy gyors áramlású és magasabb hematokritú belső zóna alakul ki, melyből következik, hogy - átlagot tekintve - a vérszettek gyorsabban haladnak mint a plazma, és ez a hematokrit dinamikus redukciójához vezet (Fahraeus effektus) (Bayliss 1965, Goldsmith 1971, Pries 1981).

Miután a vér viszkozitása erősen függ a hematokrittól, ez azt vonja maga után, hogy ezen az érszakaszon az áramló vér látszólagos viszkozitása a csőátmérővel egyenes arányban változik (Fahraeus-Lindquist effektus) (Fahraeus 1931, Schmidt-Schönbein 1981).

Az átmeneti zóna disztálisabb részében, ahol az erek átmérője 8-30 μm között változik, mely csak 2-5-szöröse a vvt átmérőnek, a vérszettek közötti és a vérszettek és az érfal közötti kölcsönhatások nagy szerepet kapnak. Jellemző ezen érszakaszra az is, hogy az erek fokozatos oszlása során az egyes ágak hematokritja különböző lesz. Amely ág a nagyobb vérmennyiséget kapja, az egyben a magasabb hematokritú is és fordítva (Lipowsky 1981). Ezt a folyamatot fázis szeparációnak nevezzük, mely nagy számú csökkent hematokritú és kisebb számú magasabb hematokritú kiseret eredményez (Fenton 1985). A fázis szeparáció folyamata és a Fahraeus effektus a kiserek területén (10-20 μm) a hematokritnak mintegy 50%-os redukciójához vezet a nagyerekhez viszonyítva. Amennyiben csak ezt vennénk tekintetbe, úgy a teljes vér viszkozitás jelentős csökkenését is várnánk, mely ezzel szemben csak kismértékű. Ez elsősorban azzal magyarázható, hogy ebben a zónában a fehérvérsejtek és vörösvértestek közötti interakciók rendkívül nagy jelentőséget nyernek. A fehérvérsejtek a vörösvértestekhez viszonyítva az érkeresztmetszethez lényegesen nagyobb részt foglalják el, kisebb sebességgel haladnak, ezért feltarthatják áramlásuk közben a vörösvértesteket (Bagge 1976,) melyek így egy-egy fvs mögött kénytelenek vvt "szerelvény" módjára haladni (Palmer 1975). Ennek következtében az fvs-ek mögött megnő a hematokrit értéke. Ugyancsak az áramlási ellenállás növekedésének irányában hat a fehérvérsejteknek az ér endotélhez való kötődése, mely csökkenti a rendelkezésre álló érkeresztmetszetet (Chien 1985). Ilymódon a vázolt, ellenkező irányban ható változások szinte kiegyenlíthetik egymást.

Az egyenkénti folyás szakaszára az jellemző, hogy az erek átmérője hasonló vagy még kisebb a rajtuk átáramló vérszettek átmérőjénél. Ilymódon az áramlást leginkább az egyes elemek mechanikai tulajdonságai (deformabilitás), valamint az érfallal való interakciójuk befolyásolja (Chien 1981, Driessen 1984, Gaehgens 1980, Meiselman 1978, Schmid-

Schönbein 1969, 1980, 1981).

Míg az iszkémiás szívbetegség (ISZB) klasszikus rizikófaktorai (életkor, férfi nem, dohányzás, magas koleszterin szint, hipertónia-betegség, diabetes mellitus, obesitas, mozgásszegény, stresszes életmód, örökletes tényezők) évtizedek óta jól ismertek, addig a hemoreológiai tényezők fontos kóroki szerepe csak az utóbbi évtizedben igazolódott egyértelműen. Poiseuille úttörő munkássága óta a hemoreológia területén jelentős előrelépés történt (Fabraeus 1931, Copley 1981). In vitro laboratóriumi vizsgálatok során - különböző műszereket használva - vizsgálták a normál és patológias emberi vér folyási tulajdonságait (Harkness 1971, Mátrai 1987, Qemada 1989, Saradeth 1993). Több kutató egybehangzóan igazolta, hogy a hemodinamikai és hemoreológiai faktorok közel egyformán fontos szerepet töltenek be a keringésben. Ezen munkák eredményeképpen az elmúlt tíz év során széles körben is ismertté vált a hemoreológiai tényezők szerepe a kardiovaszkuláris betegségek patogenezisében.

Ahhoz, hogy egy hemoreológiai tényezőt valamely betegség patogenezisében számottevő faktorként szerepeltethessünk, a következő feltételeknek kell megfelelnie:

- a hemoreológiai eltérés lehetőleg kimutathatóan primer rizikófaktor legyen,
- a hemoreológiai eltérés lényegesen nagyobb számban forduljon elő az illető betegcsoportban, mint az egészséges populációban,
- a hemoreológiai eltérés nagysága arányban álljon a betegség súlyosságával és prognózisával,
- a hemoreológiai eltérés normalizálása javítsa a beteg klinikai állapotát (Chien 1987).

Természetesen a fenti kritériumok, mint azt egyéb kardiovaszkuláris kórok esetében is tapasztaljuk, csak a betegségek és betegek egy részében érvényesülnek egészítikben, míg más esetekben csak egyes részleteikben.

Hosszú ideig vitatott volt, hogy ezen faktorok elsődleges avagy csak másodlagos szerepet játszanak ezen betegségek kifejlődésében. Az utóbbi húsz évben számos tanulmányt végeztek, amelyek igazolták a hemoreológiai tényezők patofiziológiai szerepét a kardiovaszkuláris kórképekben (Carter 1983, Rainer 1987). A "Puerto Rico Study" során 8700 férfi nyolcvéves utánkövetését végezték el, és azt találták, hogy a miokardiális iszkémia

jelentkezése a magas hematokritú ($Hct > 0,49$) csoportban kétszerese volt az alacsony hematokritú ($Hct < 0,42$) csoporthoz képest (Sorlie 1981). Hasonló eredményre jutottak 8000 férfi tízéves utánkövetéses vizsgálata során Japánban is. Burge és munkatársai a magas hematokritú ($Hct > 0,50$) csoportban hatszoros kardiovaszkuláris mortalitásról számoltak be (Burge 1975). A "Northwick Park Study" az emelkedett fibrinogénszint rizikófaktor szerepét hangsúlyozza, amelyet még az emelkedett koleszterinszint szerepénél is jelentősebbnek találtak (Meade 1980,1986). Hasonló eredményre jutottak Wilhelmssen és munkatársai miokardiális infarktust elszenvedett betegek vizsgálata során (Wilhelmssen 1984). A "Caerphilly/Speedwell Study"-ban 4860 férfi tízéves nyomonkövetése alapján a magasabb fibrinogén és plazma viszkozitás értékek (egymástól is) független rizikófaktor szerepét állapították meg (Sweetnam 1996, Yamell 1991). A jelenleg is folyó "MONICA Project" egyes részeredményeinek értékelése során több hemoreológiai faktor (fibrinogén, plazma és teljes vér viszkozitás) tekintetében is pozitív összefüggést mutattak ki a miokardiális iszkémia kifejlődésével (Koenig 1991a, Lowe 1988, Montalescot 1995).

A fenti nagyobb tanulmányok mellett számos más kutató is hasonló eredményre jutott, így ma már a hemoreológiai tényezők rizikófaktor szerepe széles körben elfogadott (Tóth 1989, Késmárky 1998a,b). Azonban még ma sem teljesen tisztázott, hogy e tényezők kóros irányú változásai elsődlegesen vagy másodlagosan jönnek létre. Valószínűnek látszik, hogy a betegségek egy részében a kóros hemoreológiai viszonyok primer rizikófaktorként jelentkeznek, míg más esetekben a már fennálló helyzetet másodlagos tényezőként súlyosbítják, illetve mindkét módon szerepelnek. Férfiak és nők eltérő kardiovaszkuláris morbiditásának és mortalitásának háttérében is részben a különböző hemoreológiai viszonyok állhatnak. A hematocrit értékek közismert különbsége a teljes vér viszkozitás növelése által számottevően ronthatja a szívizom vérellátását (Carter, 1983, Sorlie 1981) Az azonban még továbbra sem tisztázott, hogy ezen, fent részletezett paraméterek együtt változnak-e a betegség súlyossági fokával, hogy megfelelő kezeléssel befolyásolhatók-e, és hogy befolyásolják-e a prognózist.

A hemoreológiai paraméterek terápiás célú megváltoztatásának számos lehetősége van. Mivel a teljes vér viszkozitás szempontjából a hematokritnak döntő szerepe van, a hematokrit szint csökkentése (vérlebcsofátás), majd pótlása plazma illetve plazma pótszerekkel (hemodilúció) a teljes vér viszkozitás csökkenéséhez vezet. A hipervolemias és izovolemias hemodilúció mellett ismert a vazodilatáció indukálta hemodilúció fogalma is. Ez utóbbi mechanizmus szerint csökkentik a vér viszkozitását az értágítók, mint pl. a nitrátok és a alfa-

blokkolók. A plazma viszkozitás egyik fő tényezőjének számító fibrinogén szint csökkentése során (streptokináz, urokináz, vípera toxin, plazmaferézis) csökken a plazma viszkozitás, az aggregáció, és ennek következtében a teljes vér viszkozitás is (Ehrly 1990). További lehetőség a vvt deformabilitás csökkentése (pl. pentoxiphyllin). A fentiek mellett a kardiovaszkuláris támadáspontú gyógyszerek jelentős része is rendelkezik különböző mértékű reológiai hatással is, ezáltal elsődleges hatásán túl pozitív, de akár kedvezőtlen irányú mikrocirkulációs változásokat is okozhat (Koenig 1991b, Lowe 1984, Rosenson 1997, Waller 1982). A hemoreológiai tényezőknek fontos szerepük van az emelkedett perifériás rezisztencia fenntartásában különösen a mikrocirkuláció területén (Grajek 1988), és a koronária keringés szempontjából is jelentős tényezők lehetnek (Carter 1983, Junker 1998, Rainer 1987, Volger 1984). A kardiológiai betegek esetén a hiperviskozitás kezelésének (hemodilúció, plazmaferézis, gyógyszerek) hatása kevésbé alátámasztott mint perifériás vagy cerebrovaszkuláris betegségek esetén (Mózsik 1992, Tóth 1990e). Korábbi vizsgálatok a diuretikumok negatív hemoreológiai hatásairól számoltak be (Tóth 1987). A lipidszint csökkentőkről, az angiotenzin konvertáló enzim gátlókról, az alfa blokkolókról kedvező, a Ca-csatorna-blokkolókról semleges, vagy némileg kedvező hatást mutattak ki és a béta-blokkolókkal kapcsolatban is hasonló eredmények születtek (Bogár 1986, Heilmann 1988, Kiesewetter 1994).

1.5. Célkitűzések

Vizsgálataink során a fentieket figyelembe véve arra törekedtünk, hogy kidolgozzunk olyan állatkísérletes kardiomiopátia modellt, melyen különböző toxikus hatások illetve azok kivédésének lehetőségeit tanulmányozhatjuk. Az oxidatív stresszhatásokkal szemben fokozottan érzékeny mitokondriális illetve a következményes szív és vázizom károsodást követtük nyomon. A toxikus hatások sejtszintű mechanizmusait vizsgáltuk patkányok AZT kezelése során.

A másik fő vizsgált terület az iszkémia-reperfúzió, krónikus iszkémia, hipertónia és szívelégtelenség patofiziológiája során nagy jelentőséggel bíró szabadgyökös reakciók illetve a protektív hatások in vivo, ex vivo és in vitro tanulmányozása volt.

Figyelembe véve a hemoreológiai faktorok jelentős patológiai szerepét a keringésben, humán vizsgálataink során különböző betegcsoportok gyógyszeres kezelése során vizsgáltuk

a fenti paraméterek változását. A hemoreológiai paraméterek változásainak differenciál diagnosztikus jelentőségét sokváltozós statisztikai módszerrel tanulmányoztuk iszkémiás szívbetegség irányába vizsgált betegeken.

A pozitív inotrop illetve vazodilatátor hatással bíró foszfodiészteráz-III gátló kezelés hemodinamikai hatásait vizsgáltuk nem-invazív módszerekkel refrakter szívelégtelenségben szenvedő betegeken.

2. ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATOK

2.1. AZT által indukált kardiomiopátia patkányban

2.1.1. Bevezetés

A dilatatív kardiomiopátia kialakulásában számos tényező játszhat szerepet, de az esetek nagy részében az etiológiai tényező ismeretlen. A különböző toxikus hatások (alkohol, gyógyszerek, stb.) jelentős szereppel bírnak a fenti betegség kialakításában.

Az AZT (3'-azido-3'-deoxythimidine, zidovudine) az AIDS betegek kezelésében széles körben használt szer, amely gátolja a HIV vírus replikációját (Reardon 1992). Emlős sejtekben az AZT AZT-trifoszfáttá alakul, amely direkt módon gátolja a HIV reverz transzkriptázt és a mitokondriális DNS polimerázt. Az AZT metabolitok inkorporálódhatnak a gazda DNS-be (Copeland 1992), időelőtti lánc terminációt okozva ezáltal, különösen a mitokondriális DNS-ben (mtDNS), amely nem rendelkezik DNS károsodást javító mechanizmusokkal (Brown 1979). Ennek eredményeként hosszú ideig kezelt betegek vázizomzatában a mtDNS tartalom szignifikáns csökkenését találták miopátia tüneteivel (Simpson 1989). Ez vezetett ahhoz a feltételezéshez, hogy az AZT kezelt betegeknél fellépő miopátiáért a mtDNS depláció tehető elsősorban felelőssé (Muller 1992, Suomalainen 1992). Az AZT, illetve metabolitjai okozta gátló hatások nem mindig hozhatók összefüggésbe mtDNS deplációval (Hobbs 1995). Megfigyeléseink szerint már igen rövid ideig tartó (2 hét) AZT kezelés megnöveli a reaktív oxigén spécieszek (ROI) mennyiségét patkány szívizomban, ezért megvizsgáltuk, hogy az AZT kezelés in vivo indukál-e lipid peroxidációt, protein oxidációt és DNS károsodást, melyek a legjellemzőbb változások emelkedett ROI szint mellett. A fentiek mellett vizsgáltuk a DNS töréskor aktiválódó poli-ADP-ribóz polimeráz (PARP) aktivitását. Ezen enzim fontos szerepet játszik a NAD⁺ katabolizmusban és a ROI indukálta sejthalálban (Lindahl 1995, deMurcia 1997). Ezen adatok alapján feltételezhető volt, hogy a ROI mediálta folyamatoknak, beleértve az endogén ADP-ribozilációt szerepe lehet az AZT okozta kardiotoxicitás kialakulásában. A mitokondriális károsodás következtében kialakuló energetikai eltérések során az EKG-n miokardiális iszkémia jelei alakulhatnak ki. A miokardium strukturális elváltozásai további nem specifikus EKG eltéréseket (ritmuszavar, ingervezetési zavar) okozhatnak. A fenti elváltozások speciális körülmények között elvégzett felszíni elektrokardiogrammon regisztrálhatók.

2.1.2. Anyagok és módszerek

Növekedésben lévő, 80-100 grammos him patkányokat kezeltünk intraperitoneálisan 50 mg/kg/nap AZT-vel 14 napon keresztül. Kontroll állatnak hasonló korú és súlyú patkányokat vizsgáltunk. Az esetleges direkt toxikus hatások elkerülése miatt az állatokat az AZT kezelést követően három nappal öltük le. Néhány esetben az állatokat 6 hónapon keresztül nyomon követtük.

2.1.2.1. Elektrokardiogram

Altatott patkányokon Schiller AT-6 EKG készülékkel tüelektródák segítségével 6 elvezetéses EKG-t készítettünk (Einthoven I-II-III és Goldberger aVR, aVL, aVF) a kezelés előtt, egy, majd két hetes kezelést követően illetve egyes esetekben hat hónappal a kezelés után. Az RR, PR, QT távolságok és a J pont változását analizáltuk (Beinfeld 1968, MacFarlane 1989).

2.1.2.2. Elektronmikroszkópia

Szívizom darabokat 3 % glutáraldehidet tartalmazó 0.1 mól/l, pH 7.0 MOPS pufferben fixáltuk egy órán keresztül 4°C-on. A fixált szöveteket mostuk, majd 40 mM OsO₄-et tartalmazó 0.1 M, pH 7.4 foszfát pufferben 4°C-on egy órán át inkubáltuk. Mosást követően a mintákat etanol grádiensen dehidráltuk. A mintákat araldit rezimmel infiltráltuk, amely 56°C-on 48 órán át polimerizálódott. Ezt követően 80 nm-es szeleteket készítettünk, melyeket ólom citráttal és uranil acetáttal festettünk. A transzmissziós elektronmikroszkópiát JEM 1200-EX-II elektronmikroszkóppal készítettük.

2.1.2.3. Szubsztrát meghatározás

A sziveket „freeze-clamped” fagyasztást követően folyékony nitrogénbe helyeztük. Az ATP, ADP, AMP, kreatin foszfát, kreatin koncentrációk meghatározása HPLC-vel történt 4 % perklórsavas extrakciót és KOH-al történt neutralizációt követően (Crescentini 1984). A

szabad ADP koncentráció kiszámítása azzal a feltételezéssel történt, hogy a citoszólban lévő kreatin kináz ekvilibriumban van és az ekvilibrium konstansa pH 7.4-en 166. A NAD⁺ koncentráció meghatározása a szívizom neutralizált perklorosavas extraktumából történt alkohol dehidrogenáz reakcióval (Miles 1996).

2.1.2.4. ROI és peroxinirrit meghatározás

50 mg szívizmot homogenizáltunk 4°C-on 3 ml 150 mM KCl-ot, 20 mM Triszt, 0.5 mM EDTA-t, 1 mM MgCl₂-ot, 5 mM glikózt és 0.5 mM oktánsavat tartalmazó pufferben, pH 7.4. A homogenizátumhoz 5 µM dihidrorodamin123-t (DHR) vagy diklorodihidrofluorescein diacetátot (H2DCFDA) adtunk és 37°C-on 30 percig inkubáltuk (Royall 1993). A reakciót 0.1 M HCl-t tartalmazó 3 ml 70 % jéghideg etanollal állítottuk le. A precipitált proteineket centrifugálással távolítottuk el 3000g-n 15 percig. A szupernatánst NaHCO₃-al semlegesítettük. Ismételt centrifugálást követően Perkin Elmer fluoreszcens spektroszkóppal 500 nm excitációs és 536 nm emissziós hullámhosszal a rhodamine123, 502 nm excitációs és 523 nm emissziós hullámhosszal pedig a fluoreszcein tartalmat határoztuk meg.

2.1.2.5. A fehérje peroxidáció kimutatása

A fehérje peroxidáció mértékét a fehérjék carbonyl csoport tartalmának kimutatásával határoztuk meg 2,4-dinitrophenylhydrazinnal (Oliver 1987).

2.1.2.6. "Single -strand" DNS törés kimutatása

A "Single -strand" DNS törések kimutatását a DNS kettős spirál kitekeredésének alkalikus fluoreszcens analízisével végeztük Jevcak és Birnboim szerint (Birnboim 1981). A fluoreszcencia mérését etidium bromid hozzáadását követően Perkin Elmer lumineszcens spektrométerrel 520 nm excitációs és 590 nm emissziós hullámhosszal végeztük.

2.1.2.7. Lipid peroxidáció detektálása

A lipid peroxidáció mértékét a tiobarbitursav reaktív anyagok (TBRS) képződésével ítéltük meg Tzeng és mtsai által leírt módszer módosításával (Tzeng 1995). A szívizom

szövetet 6.5 % TCA-ban homogenizáltuk majd 15 % TCA-t, 0.375 % TBA-t és 0.25 % HCl-t tartalmazó reagenst adtunk hozzá. 15 percig forrásban lévő vízfürdőbe helyeztük, majd lehűtöttük. Centrifugálást követően a szupernatáns abszorpcióját 535 nm-en mértük. Malondialdehid (MDA) standardot használva a TBRS mennyiséget nmol/g nedves szövetben adtuk meg.

2.1.2.8. ADP-riboziláció kimutatása

50 mg szívizom szövetet Ultra-Turrax-al homogenizáltunk 500 ml 8 M ureát, 20 mM Triszt és 4 mM EDTA-t tartalmazó pufferben, pH 7.8, majd 500 ml 2X Laemmli minta puffert adtunk hozzá, kézi Potterrel tovább homogenizáltuk és 5 percig 10.000 rpm-n centrifugáltuk. SDS-poliakrilamid gél elektroforézist követően - amelyhez 10 %-os gélt használtunk - Western blot analízist végeztünk. Az ADP-ribozilált proteineket anti-ADP-riboz monoklonális antitesttel és anti-egér IgG peroxidáz komplex-el detektáltuk, majd ECL-el (enhanced chemiluminescencia) vizualizáltuk.

2.1.2.9. Southern blot analízis

A mtDNS-t normál patkány májból preparáltuk (Palva 1985). Radioaktívan jelölt (^{32}P) DNS próbát az így preparált mtDNS-ből „random primer” módszerrel készítettünk. Totál DNS-t kontroll és AZT kezelt patkányok szivéből izoláltunk, melyet Sst I-vel emésztettünk, amely linearizálta a mtDNS-t, majd 1.5 % agaróz gélen megfuttattuk, nylon membránra (Hybond-N, Amersham) transzfertáltuk (Sambrook 1989). Prehibridizáció és hibridizáció ^{32}P -el jelölt mtDNS-el (Hybond-N) történt. A mtDNS-t - 24-36 órán keresztil, -70°C -on - autoradiográfiával vizualizáltuk.

2.1.2.10. Statisztikai analízis

Az átlagok közötti szignifikáns különbségek ($p < 0.05$) meghatározásához páros t-próbát használtunk.

2.1.3. Eredmények

2.1.3.1. EKG eltérések AZT kezelés hatására

Egy hetes AZT kezelést követően szignifikánsan megnyúlt RR, PR és QT távolságokat, az I-es és aVL elvezetésekben szignifikáns J pont depressziót és T hullám inverziót találtunk, mely eltérések a második hét végére tovább fokozódtak, ritmuszavar alakult ki (3. ábra).

Az AZT kezelés befejezését követően 6 hónap múlva készült EKG felvételen az előbb leírt EKG eltérések bár bizonyos javulást mutattak, azonban továbbra is kimutathatók maradtak (1. táblázat).

1. táblázat: Az AZT kezelés hatása az RR, PR, QT távolságokra és a J pontra fejlődésben lévő patkányoknál (átlag \pm SEM).

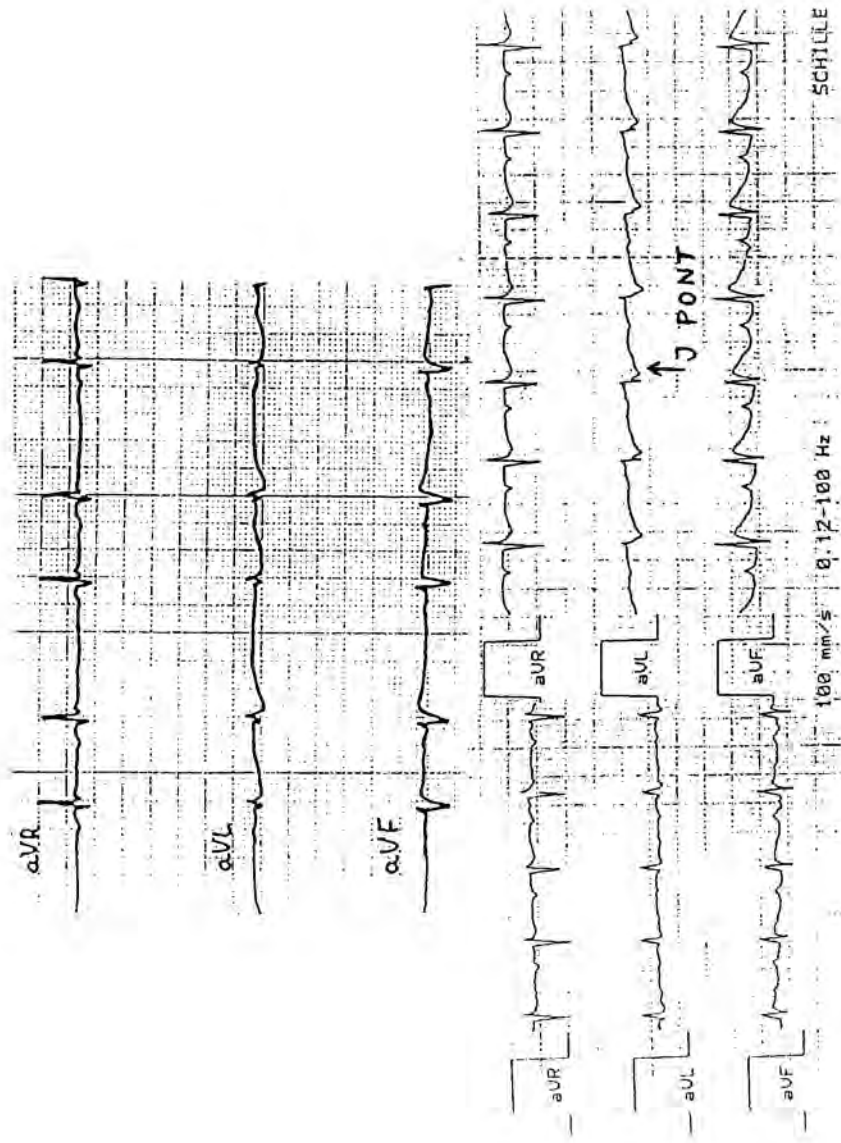
* Az értékek a megfelelő kontroll értékektől $p < 0.001$ szignifikanciával különböznek.

** Az értékek a megfelelő kontroll értékektől $p < 0.01$ szignifikanciával különböznek.

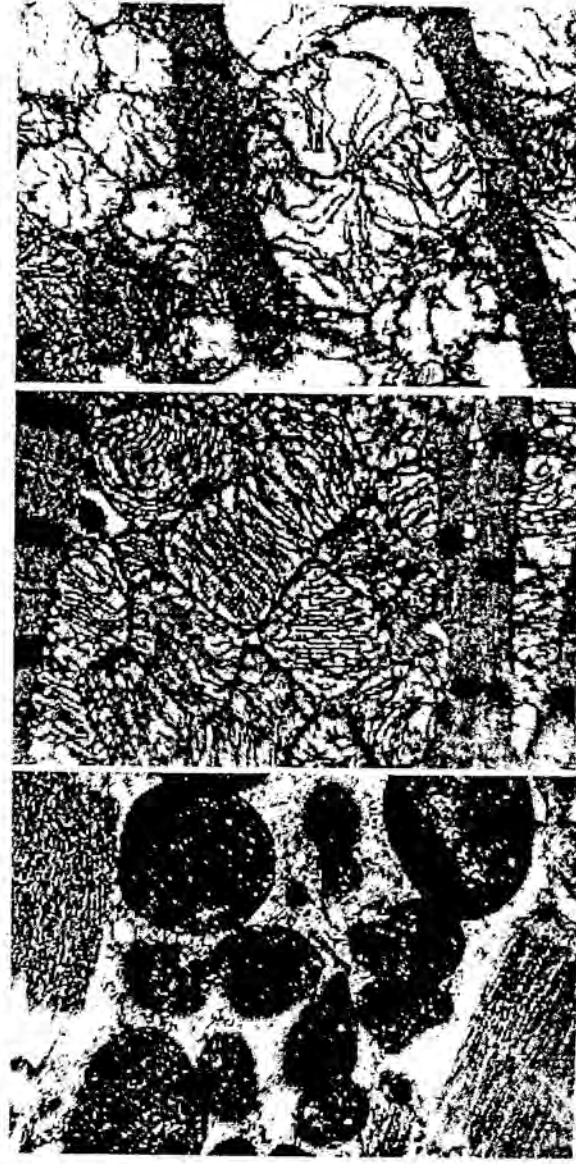
Kezelés	RR	PR	QT (ms)	J(mm)
1 hetes kezelés	213 \pm 16*	80 \pm 7*	103 \pm 3*	-0.8 \pm 0.2*
2 hetes kezelés	284 \pm 16*	82 \pm 3*	112 \pm 9*	-1.1 \pm 0.1*
6 hónap	240 \pm 56	50 \pm 2	95 \pm 15	-0.7 \pm 0.2**
Kontroll patkányok	169 \pm 10	55 \pm 6	73 \pm 5	-0.1 \pm 0.1

2.1.3.2. Az AZT kezelés hatása a mitokondrium struktúrára

Négy AZT kezelt és két kontroll patkány szívet vizsgáltunk elektronmikroszkóppal. A két hetes AZT kezelés nem okozott durva eltérést a szívizom struktúrájában a kontrollhoz képest (4. ábra). A legjellegzetesebb változás a mitokondrium struktúrájában volt megfigyelhető. A kriszta membránok közötti távolságok szignifikánsan megnöttek és helyenként ronccsolódtak (4. ábra). Az elváltozás nem érintette az egész szívizmot. Súlyosan sérült régiók mellett kevésbé károsodott területek is megfigyelhetők (4. ábra) voltak. A morfológiai eltérések hat hónappal a kezelést követően is kimutathatók maradtak.



3. ábra: AZT kezelés hatására kialakuló ritmuszavar és J pont depresszió



4. ábra: Az AZT kezelt szívizom transzmissziós elektronmikroszkópos képe. (A) Kontroll szívizom, (B) AZT kezelt patkány - kevésbé károsodott terület, (C) AZT kezelt patkány - erősen károsodott terület

2.1.3.3. A két hetes AZT kezelés hatása a ROI képződésre, lipid peroxidációra, protein oxidációra, DNS törésre, PARP aktivációra és NAD^+ koncentrációra

A ROI képződést a DHR és a H2DCFDA oxidációjával követtük nyomon. Az AZT hozzáadása a reakció elegyhez nem fokozta a ROI képződést (2. táblázat), mutatva, hogy az AZT mint szerves molekula nem forrása a szabadgyököknek. A két hetes AZT kezelés nagy mértékben növelte a ROI képződést, 235%-al DHR-al, 328%-al H2DCFDA-val mérve (2. táblázat). A lipid peroxidáció mértékét a TBARS meghatározásával becsültük meg, melynek során az AZT kezelt csoportban szignifikánsan emelkedett TBARS mennyiséget detektáltunk a kontrollhoz képest (3. táblázat). Az oxidált proteinek reaktív aldehid csoportjait 2,4-dinitrophenylhidrazinnal stabilizáltuk és detektáltuk. A két hetes AZT kezelés szignifikánsan megnövelte a proteinek carbonyl csoport tartalmát (3. táblázat). Az ismert, hogy a ROI-ek leggyakrabban ún. "single-strand" DNS törést okozhatnak (Szabo 1996). Kísérleti körülményeink között az AZT kezelés hatására szignifikánsan megnőtt a "single-strand" DNS törések száma és a nem károsodott DNS mennyisége 52%-ra csökkent a kontroll 94 %-hoz képest (3. táblázat). Az AZT kezelés megnövelte egy 78 kDa citoplazmatikus protein mono-ADP-ribozilációját, míg az 52 és 56 kDa fehérjék mono-ADP-ribozilációja nem változott (5. ábra). Ez a fehérje minden bizonnyal az ún. glucose-regulated protein (GRP78) (Leno, 1990, Szabo 1996). A PARP enzim (MW~116 kDa) endogén ADP-ribozilációját Western blot analízissel detektáltuk és az enzim fokozott ADP-ribozilációját találtuk az AZT kezelt csoportban (5. ábra). A szívizom NAD^+ koncentrációja a nem kezelt csoportban 0.45 mmól/g nedves szövet volt, mely megfelel az irodalomban található értékeknek, míg az AZT kezelt csoportban 0.19 mmól/g nedves szövet mennyiséget detektáltunk (3. táblázat).

2.1.3.4. Az AZT kezelés hatása az energia termelésre

Az ATP koncentráció közel normális volt az AZT-kezelt állatok szívizomzatában, de szignifikáns emelkedést észleltünk az ADP és AMP koncentrációkban (4. táblázat). A mért adatok szerint az ATP/ADP arány 3.2 volt az AZT kezelt, míg 4.8 a kontroll állatokban. Azonban az ADP jelentős része kötött állapotban van a szívizomban, ezért a szabad ATP / ADP arányt a kreatin foszfát/kreatin arányból számíthatjuk ki. A kreatin foszfát koncentráció

szignifikánsan csökkent az AZT hatásra, míg a kreatin koncentráció enyhén emelkedett. A kalkulált kreatin foszfát/kreatin arány a 2.08-as kontroll értékről 0.58-ra csökkent az AZT kezelt állatokban és a kalkulált ATP/ADP arány a 340-es kontroll értékről 94-re csökkent AZT kezelés hatására (4. táblázat), melynek háttérében a megnövekedett szabad ADP szint áll.

2. táblázat: AZT kezelés által indukált ROI és peroxinitrit képződés patkány szívben (pmol/ml, átlag ± SEM).

* Az értékek a kezeletlen értékektől szignifikánsan nem különböznek.

** Az értékek a kontroll értékektől $p < 0.001$ szignifikanciával különböznek.

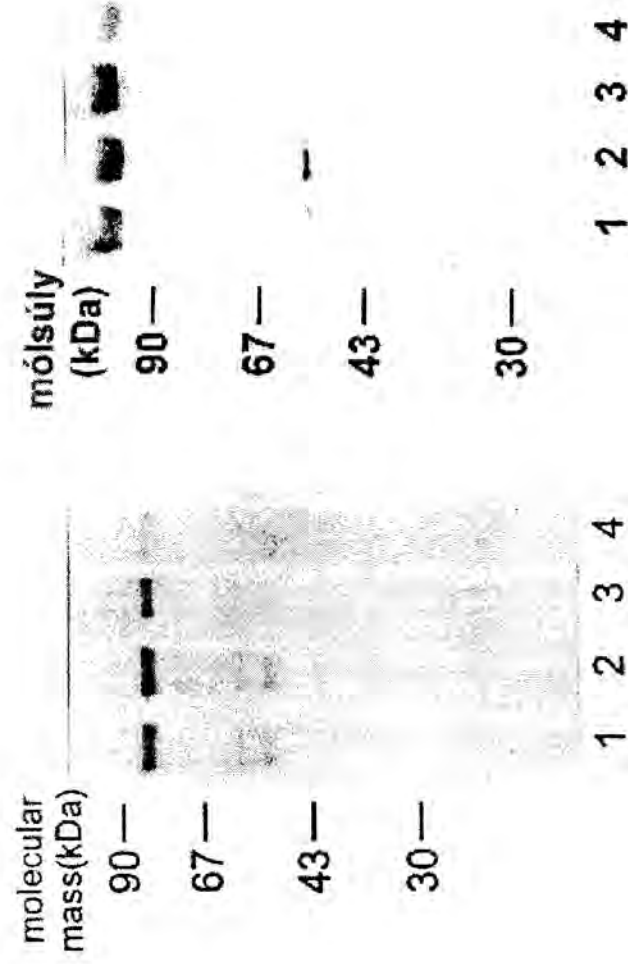
*** Az értékek az AZT kezelt szívek értékeitől szignifikánsan nem különböznek

Kísérleti körülmények	Rhodamine123	Dikloro-fluorescein
Kezeletlen szívek	151 ± 8	14 ± 2
Kezeletlen szívek + AZT	132 ± 14*	11 ± 2*
AZT-kezelt szívek	356 ± 22**	46 ± 5**
AZT-kezelt szívek + AZT	347 ± 19***	45 ± 7***

3. táblázat: AZT kezelés hatása az endogén lipid peroxidációra, protein oxidációra, NAD⁺ tartalomra és a "single-strand" DNS törésre patkány szívben (átlag ± SEM).

* Az értékek a megfelelő kontroll értékektől $p < 0.001$ szignifikanciával különböznek.

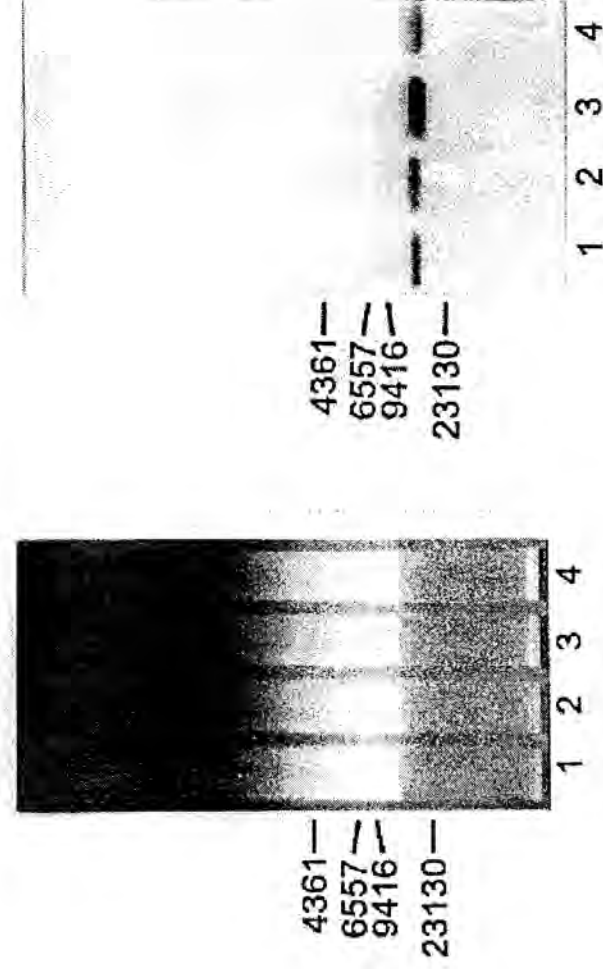
	Kontroll	AZT-kezelt állatok
Protein carbonyl tartalom (nmol/mg protein)	4.9 ± 0.4	10.2 ± 1.1*
TBARS (nmol/gramm nedves szövet)	39.3 ± 2.7	101.2 ± 3.3*
Nem károsodott DNS (%)	94.0 ± 3	52 ± 4*
NAD ⁺ tartalom (µmol/g nedves szövet)	0.45 ± 0.03	0.19 ± 0.02*



5. ábra: AZT kezelés hatása a poli-és mono ADP-ribosilációra patkány szívizomban. (A) Szívizom citoplazmatikus fehérje ADP ribosilációja, Western blot analízissel (B) A szívizom proteinek extrakciója 8 M Urea jelenlétében történt. A nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz szintet Western blot analízissel határoztuk meg. 1-3: AZT-kezelt patkány szívizomból származó proteinek (20 µg protein). 4: Kontroll (kezeletlen, hasonló korú) patkány szívizomból származó proteinek (20 µg protein).

2.1.3.5. A két hetes AZT kezelés hatása a mtDNS mennyiségére

Southern blot analízissel végzett vizsgálatok nem mutatták a mtDNS mennyiségének csökkenését AZT kezelést követően, sőt bizonyos esetekben ennek növekedését észleltük a kontrollhoz képest (6. ábra).



6. ábra: Patkány szívizomból származó mtDNS Southern blot analízise. (A) SstI emésztett DNS elektroforetikus képe (ethidium bromiddal festett DNS fluoreszcencia blottolás előtt) kontroll állatból (1-2) és AZT-kezelt állatból (3-4). (B) SstI emésztett DNS Southern blot analízise kontroll (1-2) és AZT-kezelt állatból (3-4). Négy μg DNS-t linearizáltunk SstI-el, elektroforezizáltuk 1.5 % agaróz gélen és transzferáltuk nylon membránra

2.1.4. Megbeszélés

Irodalmi adatok szerint a hosszantartó, néhány hónapos AZT kezelés gátolja a mtDNS replikációját és ezáltal a mtDNS deplécióját okozza, amelyet az AZT okozta miopátia fő okaként tartanak számon. Munkánkban a rövid ideig tartó, két hetes AZT kezelés hatásait vizsgáltuk növekedésben lévő patkányok szívizomzatára, mely nem okozott csökkenést a mtDNS mennyiségében és érdemi fénymikroszkópos morfológiai illetve morfológiai eltérésekkel sem járt, azonban jelentős miokardiális károsodásra utaló EKG jeleket (szignifikánsan megnyúlt RR, PR és QT távolságokat, az I-es és aVL elvezetésekben szignifikáns J pont depressziót és T hullám inverziót, pitvari és kamrai ritmuszavart) és elektronmikroszkóppal kimutatható abnormalis mitokondrium morfológiát (a kriszta membránok közötti távolságok megnövekedését és helyenként roncsolódását) észleltünk. Ezen adatok az AZT kardiotoxikus hatásának egy lehetséges alternatív mechanizmusára hívják fel a figyelmet.

4. táblázat: AZT kezelés hatása az energia termelésre patkány szívben (átlag \pm SEM).

* Az értékek a megfelelő kontroll értékektől $p < 0.001$ szignifikanciával különböznek.

** Kalkulált paraméterek a metabolikus adatok középértékének felhasználásával.

Metabolitok	Szívizom $\mu\text{mol/gramm}$ protein (vagy mM)	
	Kontroll	AZT-kezelt
ATP	23.7 \pm 2 (16.9)	22.8 \pm 3 (16.2)
ADP	4.9 \pm 0.4 (3.5)	7.1 \pm 0.6 (5.1)*
AMP	1.4 \pm 0.2 (1)	3.2 \pm 0.2 (2.2)*
Pi	17.4 \pm 0.8 (12.4)	21.1 \pm 1.9 (15)
Kreatin foszfát	42.4 \pm 2.1 (30.3)	14.7 \pm 1.3 (10.5)*
Kreatin	20.4 \pm 1.2(14.6)	25.3 \pm 1.5 (18.1)
Szabad ADP	49.8**	173**
ATP/ADP arány	340**	94**
Log[ATP/ADP:Pi]	4.43**	3.79**

A két hetes AZT kezelés megnövelte a ROI képződést, amely számos káros folyamatot indukált: "single-strand" DNS törést, lipid peroxidációt és protein oxidációt. A "single-strand" DNS törések aktiválják a nukleáris PARP-t, amely enzim NAD^+ -ot használ szubsztrátként a poli-ADP-ribóz képződéshez, melyet saját magához illetve egyéb nukleáris proteinekhez köt. Az ADP-ribóz ATP felhasználásával visszaalakulhat NAD^+ molekulává. Ily módon a PARP enzim fokozott aktivációja az intracelluláris NAD^+ szint csökkenéséhez és megnövekedett ATP felhasználáshoz és csökkent képződéshez vezet, mely folyamatok a sejt energia termelését súlyosan károsíthatják (Sümei 1984, 1991). A direkt toxikus hatások mellett ezen energetikai elégtelenség Magyarázhatja az EKG-n észlelt eltéréseket.

Kísérleti körülményeink között az AZT kezelés hatására erősen csökkent NAD^+ -szintet mértünk, ugyanakkor a nukleáris PARP enzim (116 kDa) fokozott működését (fokozott ADP-ribozilációját) találtuk. A szívizom ATP tartalma normális maradt. Ez azzal Magyarázható, hogy a súlyosan károsodott mitokondriumok funkcióját az ép mitokondriumok képesek kompenzálni. Az ADP elérhetőség limitáló faktor a mitokondriális

ATP képződésben, ezért az általunk mért erősen emelkedett ADP-szint aktiválhatja az ATP szintézist az épen maradt mitokondriumokban.

Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy a rövid ideig tartó AZT kezelés nem a mtDNS deplécióján keresztül fejt ki károsító hatását a szívizomban (illetve feltehetőleg egyéb szövetekben is), hanem fokozott ROI képződést indukálva a mitokondriumban káros folyamatok sorát indítja el. Ugyanakkor felveti az AZT kezeléssel egyidejűleg alkalmazott antioxidánsok lehetséges pozitív hatását is (Halliwell 1991, de la Asuncion 1998).

2.2. Miokardium iszkémia/reoxigenizáció okozta károsodások vizsgálata kísérletes modellen

2.2.1. Bevezetés

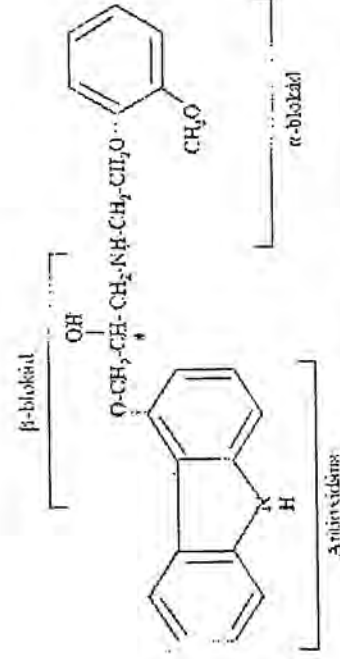
Jól ismert az a tény, hogy az iszkémia-reperfúzió során reaktív oxigén intermedierek (szuperoxid, H_2O_2 , szuperoxid gyök és hidroxil gyök) képződnek (pl. Haber-Weiss és Fenton reakció) (Halliwell 1990). A ROI és peroxinitrit (szuperoxid és NO-ból képződik) lipid peroxidációt (Pan 1994), protein oxidációt (Packer 1991) és DNS károsodást indukálhat (Takeda 1996, Kajstura 1996, Heller 1995). A fenti mechanizmusoknak nagy jelentőséget tulajdonítanak a repperfúziós károsodás létrejöttében (Simpson 1987).

Ha a ROI és peroxinitrit koncentráció tartósan magas, ez single-strand DNS töréshez és következményes nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz (kromatinhoz kötött enzim, melynek a DNS repair-ben van szerepe) aktiválódáshoz vezethet (Lindahl 1995, Radons 1994). Habár a génstabilitás szemponjából a poli-ADP-ribóz polimeráznak (PARP) szerepe van, egeretek a PARP gén inaktivációját követően is életképesek és fertilisek maradtak, mutatva azt, hogy a PARP aktivitás nem vitális a különböző sejtek számára (De Murcia, 1997, Simbulan-Rosenthal 1996, Wang 1995, Wagner 1995). Fontos azonban hangsúlyozni, hogy ezen enzim fontos szerepet játszik a NAD^+ katabolizmusban (Janero 1993). A NAD^+ szint csökkenése jelentős hatással van a mitokondriális energia metabolizmusra, ezáltal sejthalálhoz vezethet. Iszkémia/reperfúzió során a PARP aktiváció szerepére utal az is, hogy ezen enzim gátlása részlegesen kivédi a ROI és NO által okozott toxikus hatásokat (Mizumoto 1993, Said 1996, Thiernemann 1997).

Ha a szabadgyök termeléssel szembeni endogén védekező mechanizmusok (glutation, szuperoxid dizmutáz, kataláz, E vitamin) kimerülnek, akkor szövetkárosodás jöhet létre. Ezen káros reakciók antioxidáns kezeléssel csökkenthetők illetve megakadályozhatók. A jelenleg ismert PARP gátlók azonban, káros mellékhatásaik miatt, terápiásan nem alkalmazhatóak (Cleaver 1991, Rankin 1989).

A béta-blokkolók széles körben használt gyógyszerek a kardiológiai betegek kezelése során. Hipertóniában elsőként választandó szer, iszkémiás szívbetegségben, a primer és szekunder prevenció során kiemelkedő fontosságú, antiaritmiás hatása is ismert. A szívelégtelenség kezelése során is egyre inkább előtérbe kerül a béta-blokkolók használata, mivel bizonyos betegcsoportokban a mind a túlélést, mind a balkamra funkciót javítja

(Wagstein 1993, Packer 1996, CIBIS-II, 1999). A béta-blokkolókon belül a carvedilol külön csoportot képvisel, mint többszörös neurohormonális antagonist, mely nem-szelektív béta-blokkoló és alfa-blokkoló hatása mellett kifejezett antioxidáns és antiproliferatív tulajdonságokkal is rendelkezik (Ruffolo 1997) Az állatkísérletes vizsgálatok során az iszkémia/reperfúzió során létrejövő miokardiális infarktus nagyságát propranolol-al összehasonlítva is szignifikánsan csökkentette (48 illetve 91%-os infarktusredukció). Sejtkulturában (pulmonalis ill. umbilicalis véna endothel) a DHF/Fe-ADP indukálta lipidperoxidációt illetve a GSH csökkenést gátolta (EC₅₀ 2.6 μM) (Yue 1994a, Feuerstein 1993). Az oxidatív stresszhatásnak kitett patkány agyszövet endogén E vitamin szintjét a carvedilol dózisfüggően emelte (Yue 1994b). A szer a különböző növekedési faktorok által indukált simaizomsejt proliferációt és migrációt is gátolta. Az észlelt igen jelentős kardio-, cerebro- illetve vaszkuloprotektív hatás háttérében a ROI által indukált direkt citotoxikus hatások és a gén aktiváció kivédése állhat (Yue 1998). Összehasonlítva más béta-blokkoló hatású szerekkel az ezirányú hatás sokszorosan nagyobb, melynek háttérében a vizsgálatok szerint a molekula kémiai szerkezete áll. Az antioxidáns, antiproliferatív hatás a carbazol csoportnak tulajdonítható (7. ábra).



Carvedilol = 1-(9H-Carbazol-4-yl-oxo)-3-(2-(2-methoxyphenoxy)ethyl)aminó)-2-propanol

7. ábra: A carvedilol kémiai szerkezete.

Ezen kísérletsorozatban Langendorff perfúziós modellen, iszkémia/reperfúzió hatását vizsgáltuk a szívizom fehérjék mono- és poli-ADP-ribozilációjára, a ROI termelésre, a lipid peroxidációra, DNS törésre, a NAD⁺ katabolizmusra és a membrán integritásra. Arra is választ kerestünk, hogy a fenti folyamatokat hogyan lehet carvedilol adásával befolyásolni.

2.2.2. Langendorff perfúziós modell

A Langendorff perfúzió során kifejtett, 300-350 grammos him Wistar patkányok szívét használtuk. Kontroll állatnak hasonló korú és stúlyú patkányokat vizsgáltunk. Az állatokat intraperitonealisan adott ketaminnal (200 mg/kg i.p.) altattuk és hasonló módon bejuttatott Na-heparinnal (100 IU i.p.) antikoaguláltuk. A szívet kipreparáltuk, majd Langendorff módszere szerint (Sherry 1994) az aortán keresztül retrográd perfundáltuk állandó 70 Hgmm-es nyomáson 37 °C-on. A perfúziós oldat módosított foszfátmentes Krebs-Henseleit puffer volt (118 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.25 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄, 25 mM NaHCO₃, 11 mM glukóz és 0.6 mM oktánsav). A kezelt csoport esetén az oldat carvedilol koncentrációja 1 mmol/l volt. A perfúziós rendszert üveg oxigénátoron keresztül 95%-os O₂, 5%-os CO₂ gázzal áramoltattuk át, a pH-t 7.40-re állítottuk be.

A 15 perces stabilizációs periódust követően a szíveket 15 illetve 30 percen keresztül normoxiás körülmények között perfundáltuk, vagy az aorta átáramlás lezárásával 1 óráig globális iszkémiát követően 15 illetve 30 perces reperfüziót alkalmaztunk. Az iszkémiá során a szíveket 37 °C-os perfúziós pufferbe merítettük. A fenti folyamat végén a perfundált, életképes szíveket "freeze clamp" módszerrel fagyasztottuk.

2.2.3. Biokémiai módszerek

2.2.3.1. NAD⁺ meghatározás

A NAD⁺ koncentráció meghatározása a szívizom neutralizált perklórsavas extraktumából történt alkohol dehidrogenáz reakcióval (Bergmeyer 1989). A frissen preparált puffer 0.1 M Trisz, pH 8.40, 1 mM EDTA-t, 4 mM L-cisztein kloridot, 2% etanol, mindegyik követve 300 ml szövet extraktumot, 650 ml puffert és 4 U enzimet tartalmazott. A reakciót az enzim hozzáadásával indítottuk, a szövet pontos NAD⁺ koncentrációját kalibrációs egyenessel határoztuk meg.

2.2.3.2. ADP-ribosziláció vizsgálata

50 mg szívizmot 500 ml 50 mM Trisz-ben (pH 7.80) Ultra-Turrax-al homogenizáltunk, majd 500 ml 2X Laemmli puffert adtunk hozzá és Potterrel homogenizáltuk 5 percig, 10.000

rpm-el centrifugáltuk. SDS-poliakrilamid gél elektroforézist (10% gél) végeztünk, majd blottoltuk nitro-cellulóz membránra Western blot analízis céljából. Az ADP-ribozilált fehérjéket anti-ADP-ribóz monoklonális antitesttel és anti-egér IgG peroxidáz komplex-el detektáltuk majd ECL módszerrel (enhanced chemiluminescentia) vizualizáltuk.

2.2.3.3. ROI és peroxinitrit meghatározás

Peroxidáz, vas, vagy citokrom C és hidroxil gyök jelenlétében a hidrogén peroxid és a peroxinitrit oxidálja a nem fluoreszcens dihydrododamine123-t (DHR) fluoreszcens rhodamine123-á (Miles 1996). Normoxiás körülmények között 15 perc stabilizációs periódust követően 5mM DHR-t adtunk a perfuzátumhoz, majd további 15 percig folytattuk a perfúziót. 60 perces ischaemiát követően közvetlenül a 15 perces reperfúziót megelőzően adtuk a perfuzátumhoz a DHR-t. A perfúzió végén sziveket "freeze clamp" módszerrel fagyasztottuk. A rhodamine123 kimutatásához, 90 mg szivizmot homogenizáltunk 2 ml 20 mM Trisz puffert (pH 7.40) és azonos mennyiségű jéghideg 0.1 M HCl-t tartalmazó 70 % etanolt adtunk hozzá. A precipitált proteineket centrifugálással távolítottuk el 3000g-n 15 percig. A szupernatánt NaHCO_3 -al semlegesítettük. Ismételt centrifugálást követően (6000 g) Perkin Elmer fluoreszcens spektroszkóppal 500 nm excitációs és 536 nm emissziós hullámhosszal határoztuk meg a rhodamine123 tartalmat.

2.2.3.4. Lipid peroxidáció mérése

A lipid peroxidáció mértékének meghatározására a szabad malondialdehid (MDA) szintet mértük HPLC-vel (high performance liquid chromatography) Tosoh, Tsk-6011 HPLC rendszert és C-18, reverz-fázisú, 25 cm x 4.6 mm oszlopot használva, a szivizom neutralizált savas extrakcióját követően illetve a perfuzátumhoz acetónitrilt adva Lazzarino módszere szerint (Lazzarino 1991). Az abszorpciót 266 nm-en mértük.

2.2.3.5. In vitro PARP gátlás izolált enzimen

A poli-ADP-ribóz polimerázt patkánymájából izoláltuk Shah korábban leírt módszere szerint (Shah 1995). A PARP aktivitást 130 ml, 100 mM Trisz-HCl puffert, pH 8.0, 10 mM MgCl_2 -t, 10 % glicerolt, 1.5 mM DTT-t, 100 mM $[\text{H}^+]$ -t, NAD^+ -t, 10 mg aktivált DNS-t, 10

mg hisztont tartalmazó reakciós elegyben határoztuk meg. Az inkubációs idő 10 perc volt és a reakciót triklórecetsav (8%) hozzáadásával állítottuk le. Albumin (0.5 mg) hozzáadását követően jeges közegben 20 percig precipitáltuk, majd a precipitátumot centrifugálással választottuk el (10 perc, 10.000 g). A precipitátumot 3x mostuk 8%-os triklórecetsavval, majd a féléjéhez kötött radioaktivitást Beckman szcintillációs számlálóval határoztuk meg.

2.2.3.6. Sejtmembrán integritás vizsgálata

Az intracelluláris enzim-felszabadulást a perfuzátum LDH (laktát dehidrogenáz EC 1.1.1.27), CK (kreatin kináz EC 2.7.3.2) és GOT (glutamát oxaloacetát transzamináz EC 2.6.1.1) meghatározásával mértük normoxia és iszkémia/reperfúzió során (Lazarino 1995, Bergmeyer 1989).

2.2.3.7. Statisztikai analízis

Az átlagok közötti szignifikáns különbségek ($p < 0.05$) meghatározásához páros t-próbát használtunk.

2.2.4. Eredmények

2.2.4.1. ROI meghatározás

Mivel a DHR sejt permeábilis és az oxidált rhodamine123 mitokondriumon belül marad, a rendszer alkalmas lehet in situ ROI kimutatására perfundált szíveken. A rhodamine123 normoxiás körülmények között is detektálható volt. A DHR oxidációja rhodamine123-a ROI hatására iszkémia/reperfúzió során szignifikánsan megnövekedett. A fenti folyamatot az NO-ból és szuperoxidból képződő peroxinitrit is okozhatja, ezért korábban hasonló kísérleti körülmények között NO-szintáz inhibitor MMArg-al perfundáltuk a szívet (Kojda 1997), mely nem okozott szignifikáns csökkenést a rhodamine 123 képződésben. Carvedilol-al végzett perfúzió során az iszkémia/reperfúzió okozta rhodamine123 képződés szignifikánsan csökkent, jelezve a carvedilol antioxidáns hatását az alacsonyabb egyensúlyi ROI szintet (5. táblázat).

5. táblázat: Carvedilol hatása a szabadgyök termelésre iszkémia-reoxigenizáció során Langendorff szerint perfundált patkányszíveken (átlag \pm SEM, 5 patkányszív).

* Az értékek szignifikánsan különböznek a megfelelő normoxiás és iszkémia-reoxigenizáció + carvedilol értékektől, $p < 0.01$.

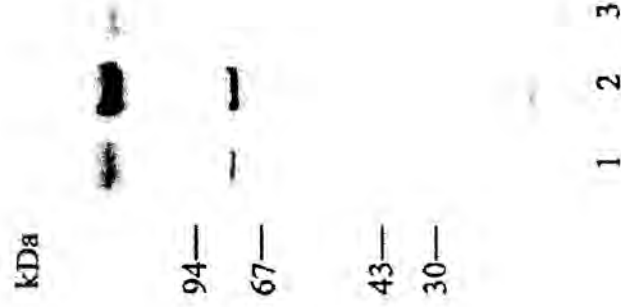
	Rhodamine-123 fluoreszcencia
Normoxiás	21.4 \pm 1.7
Iszkémia-reoxigenizáció	28.7 \pm 1.8*
Iszkémia-reoxigenizáció+1 μ mol/l carvedilol	23.8 \pm 2.4

2.2.4.2. Az iszkémia/reperfúzió hatása szívizom fehérjék mono-ADP-ribozilációjára

A szívizom proteinek Western blot analízise egy 78 kD-os protein (egy a HSP70 proteincsaládhoz tartozó fehérje, mely valószínűleg a GRP78) fokozott ADP-ribozilációját mutatta iszkémia/reperfúzió során. Langendorff perfúzió során az iszkémia/reperfúzió szignifikánsan megnövelte a GRP78 ADP-ribozilációját, de ha a perfúziós folyadék 1 mM carvedilolt is tartalmazott az jelentősen csökkent (8. ábra).

2.2.4.3. A PARP aktiválódása iszkémia/reperfúzió során

A nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz standard módszerekkel nem volt extrahálható a patkány szívizom mintákból. Ha az extrakciós puffer 8 M ureát tartalmazott, a magas molekulásúlyú poli-ADP-ribóz polimeráz ADP-ribozilációja detektálhatóvá vált Western blot analízissel. A poli-ADP-ribóz polimeráz (~116 kD) ADP-ribozilációját az iszkémia/reperfúzió szignifikánsan megnövelte. Ez a hatás feltehetően a "single-strand" DNS törések fokozódása miatt következett be. Carvedilol jelenlétében a reperfúzió során szignifikánsan csökkent a ROI szint a következményes "single-strand" DNS törés és a nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz ADP-ribozilációja (8. ábra).



8 ábra: A nukleáris PARP iszkémia/reperfúzió indukálta poli- és mono-ADP-ribosilációja. 1. Kontroll szív. 2. Postszkémiás szív (1 óra iszkémia és 30 perc reperfúzió) (10 μ gram fehérje). 3. Postszkémiás szív (1 óra iszkémia és 30 perc reperfúzió) 1 μ M carvedilol jelenlétében (10 μ gram fehérje).

2.2.4.4. Iszkémia/reperfúzió hatása a NAD^+ katabolizmusra

A poli-ADP-ribóz polimeráz aktiválódása szignifikáns intracelluláris NAD^+ szint csökkenéshez vezethet, ezért szívizom NAD^+ tartalmát normoxia, iszkémia és iszkémia/reperfúzió körülményei között is meghatároztuk. 1 óra iszkémia a NAD^+ szint enyhe fokú csökkenéséhez vezetett, de a $NAD^+/NADH$ arány, ahogy ez várható volt, szignifikánsan csökkent. Iszkémia/reperfúzió szignifikánsan csökkentette az intracelluláris NAD^+ szintet. A szívizom perfúziója során észlelhető NAD^+ szint csökkenést carvedilol részlegesen kivédte (6. táblázat).

2.2.4.5. Lipid peroxidáció a posztisztkémias szívben

Az általánosan elfogadott, hogy az iszkémia/reperfúzió lipid peroxidációt indukál (Janssen 1993), melynek mértéke a malondialdehid termeléssel jellemezhető (Ohtsuki 1995). Kísérleti körülményeink között, HPLC módszerrel sem normoxia, sem iszkémia esetén a szabad malondialdehid szintek nem voltak detektálhatóak (a mérési tartomány alatt voltak). A reperfúzió első perceiben azonban a szabad malondialdehid szint mérhető volt. A perfuzátum carvedilol tartalma esetén a reperfúzió során mért szabad malondialdehid szint szignifikánsan csökkent (7. táblázat).

6. táblázat: Carvedilol hatása az iszkémia-reoxigenizáció okozta NAD^+ szint csökkenésre patkányszív Langendorff perfúziója során (átlag \pm SEM, 5 patkányszív).

* Az értékek szignifikánsan különböznek a carvedilol-al nem kezelttől, $p < 0.05$

** A NAD^+ és a $NADH$ szint összege, mivel a NAD^+ jelentős része $NADH$ -á redukálódik iszkémia alatt.

Kísérleti körülmény	Reperfúzió			
	0 perc	5 perc	30 perc	60 perc
	$\mu\text{mol (NAD}^{\text{+}}\text{)/gramm nedves szövet}$			
Kontroll	0.49 \pm 0.03			
Iszkémia	0.38 \pm 0.04**			
Iszkémia-reoxigenizáció		0.29 \pm 0.03	0.26 \pm 0.02	0.24 \pm 0.02
Iszkémia-reoxigenizáció+ 1 $\mu\text{mol/l}$ carvedilol		0.39 \pm 0.05*	0.30 \pm 0.03*	0.29 \pm 0.03*

2.2.4.6. Citoplazmatikus enzim kiáramlás

Az iszkémia/reperfúzió okozta membrán károsodás a szívizomsejtekből enzimfelszabadulást vált ki. A CK, LDH és GOT szintek mérését normoxiás, posztisztkémias és 1 μM carvedilol-al perfundált posztisztkémias szívek esetén végeztük el.

Az enzimfelszabadulás igen alacsony szintű volt normoxiás körülmények között, míg az iszkémia/reperfúzió igen jelentős CK, LDH és GOT felszabadulást váltott ki. Amennyiben a

szívet carvedilol jelenlétében perfundáltuk, az enzimiáramlás foka szignifikánsan csökkent (7. táblázat).

7. táblázat: Carvedilol hatása a lipid peroxidációra és az intracelluláris enzim kiáramlásra iszkémia-reoxigenizáció során (átlag \pm SEM, 5 patkányszív).

* Az értékek szignifikánsan különböznek a megfelelő normoxiás és iszkémiareoxigenizáció + carvedilol értékektől, $p < 0.001$.

** Az értékek szignifikánsan különböznek a megfelelő normoxiás és iszkémiareoxigenizáció + carvedilol értékektől, $p < 0.01$.

	GOT	LDH	CK	MDA
	mU/ml			
Normoxia	2 \pm 1	1 \pm 1	4 \pm 2	<1
Iszkémia/reperfúzió	96 \pm 8*	419 \pm 36*	148 \pm 17*	23 \pm 2.7**
Iszkémia/reperfúzió+ 1 μ mol/l carvedilol	32 \pm 12	44 \pm 14	8 \pm 4	7.6 \pm 2.7

2.2.4.7. A nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz direkt gátlása

Iszkémia/reperfúzió körülményei között a carvedilol gátolta a PARP ADP-ribozilációját, mely a szer direkt vagy indirekt hatása is lehet. Patkánymájból izolált enzim vizsgáltuk carvedilol direkt hatását a PARP-ra. A hatást nikotinamidhoz viszonyítottuk. A kontrollhoz viszonyítva a 10 μ M carvedilol a nikotinamidhoz hasonlóan szignifikánsan gátolta a Beckman szcintilláció számolóval detektált H₃-NAD beépülést (8. táblázat).

2.2.5. Megbeszélés

A szabadgyökök és metabolitjaik fontos szereppel bírnak a reperfúziós károsodás során. Oxidatív károsodás során a mono- és poli-ADP-riboziláció, a celluláris metabolizmusok és a jelátvitel tanulmányozása fontos lehet. Patkányszív Langendorff perfúziója során az iszkémia-reperfúzió ROI (hidroxil gyök, hidrogén peroxid) és peroxinitrit képződéshez vezet, mely oxidálja a nem fluoreszcens dihydrohodamine123-t (DHR) fluoreszcens

rhodamine123-á. A zömmel mitokondriálisan képződő ROI a sejt egyéb struktúráira is hatással van, különböző DNS töréseket - köztük az úgynevezett "single-strand" DNS törés - okozhat. Korábbi kísérleteink során igazoltuk a "single-strand" DNS törések fokozódását iszkémia-reperfúzió során, mely a nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz aktivitásának fokozódásához vezet. Habár ismert a PARP fiziológias funkciója, az nyilvánvaló, hogy az iszkémia-reoxigenizáció okozta sejtkárosodás csökkenthető a PARP gátlásával (Thiemermann 1997). A fentieket sejtkultúrán, perfundált szerveken és élő állatokon is igazolták. A PARP aktiválódása észlelhető neuronkárosodás, stroke (Eliasson 1994), miokardiális infarktus (Thiemermann 1997), citokin vagy oxidatív hatás okozta pancreas-, máj- és tüdőepitélsejt károsodás során (Mizumoto 1993, Radons1994, Robert 1991). A PARP aktiválódása fontos szerepet játszik a NAD^+ szint csökkenésben, mely jelentős hatással van a mitokondriális energia metabolizmusra, ezáltal sejthalálhoz vezethet. Más NAD^+ katabolizáló enzim (pl. NAD^+ -glikohidroláz) nem aktiválódik iszkémia-reperfúzió körülményei között (Ruuge 1991).

8. táblázat: Carvedilol hatása a patkánymájból izolált nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz aktivitására.

	PARP aktivitás
Kontroll	1858±34
Carvedilol	
1µM	961±82
10µM	875±24
Nikotinamid	
1 mM	933±42
5 mM	138±79

A carvedilol többszörös neurohormonális antagonist, mely nem-szelektív béta-blokkoló és alfa-blokkoló hatása mellett kifejezett antioxidáns és antiproliferatív tulajdonságokkal is rendelkezik, melyet a molekula carbazol csoportjának tulajdonítanak. Az

állatkísérletes vizsgálatok során észlelt igen jelentős kardioprotektív hatás háttérében a ROI által indukált direkt citotoxikus hatások és a gén aktiváció kivédése állhat.

Jelen vizsgálatunk során a patkány szívizomsejtek nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz aktivitásának fokozódását a carvedilol csökkentette, melynek háttérében az alacsonyabb ROI szint és ennek megfelelően a "single-strand" DNS törések kivédése állhat. Az alacsonyabb ROI szint magyarázhatja a posztisztkémiai sejtkárosodás csökkenését. Kísérleti körülményeink között az iszkémia-reperfúzió jelentősen fokozta a malondialdehid termelést. A carvedilol jelenlétében végzett perfúzió csökkent lipidperoxidációra utal. Az iszkémia-reperfúzió okozta szívizomsejt és membránkárosodás, ezáltal az enzimfelszabadulás mértéke (Latocha 1991) is jelentősen csökkent, ha a perfuzátum carvedilolt is tartalmazott. Az in-vitro, izolált PARP-on végzett kinetikai vizsgálat során a cardvedilol gátolta a PARP által katalizált reakciót. Ennek alapján feltételezhető, hogy a carvedilol iszkémia/reoxigenizáció során észlelhető protektív hatásának háttérében a jól ismert antioxidáns hatás mellett direkt a PARP-al való interakció is áll.

Vizsgálatunk során carvedilol protektív hatásainak celluláris illetve molekuláris mechanizmusait vizsgáltuk patkányszíven Langendorff perfúzió során. Kimutattuk, hogy carvedilol csökkentette az iszkémia-reoxigenizáció okozta ROI termelést, lipid peroxidációt, membránkárosodást. A protektív hatások háttérében scavenger hatás illetve csökkent ADP-riboziláció állhat. poli-ADP-ribóz polimerázt patkánymájából izolálva, majd carvedilol-al kezelve, feltételezhető a szer direkt PARP gátló hatása is. A szívelégtelenség, a hipertónia és iszkémias szívbetegség patofiziológiájában, a betegség progressziójában a szabad-gyökös folyamatoknak jelentős szerepe lehet. Vizsgálataink alapján, a fenti betegségek kezelése során észlelhető kedvező klinikai eredmények háttérében, a béta-blokkoló hatás mellett a carvedilol antioxidáns tulajdonsága is jelentős tényező lehet.

3. IN-VITRO REOLÓGIAI VIZSGÁLATOK

3.1. Szabadgyök okozta vörösvértest károsodás vizsgálata reológiai modellen

3.1.1. Bevezetés

Ha a szabadgyök produkció meghaladja az endogén védekező mechanizmusok (pl. glutation, szuperoxid dizmutáz, kataláz, E vitamin) kapacitását, szövetkárosodás jöhet létre. Az oxidatív károsodás szempontjából a vörösvértestek különösen veszélyeztetettek, mivel magas oxigéntenziónak vannak kitéve és vastartalmuk magas (Baskurt 1996). Fokozott oxidatív veszélyállapotnak tekinthető az iszkémia-reperfúzió, a szeptisz, a glukóz-6-foszfát dehidrogenáz deficiencia vagy a különböző hemoglobinopátiák (Machiedo 1989). Az oxidatív stressz során megváltoznak a vörösvértestek mechanikai tulajdonságai, csökken a deformálhatóság, növekszik az aggregáció és a viszkozitás. A deformabilitás csökkenése mikrocirkulációs zavarokhoz vezethet (Schmid-Schönbein 1988). Ezen káros mechanizmusok antioxidánsokkal részben vagy egészben kivédhetők (Powell 1989).

Jelen vizsgálataink során a szabadgyök generátor phenazin methosulphate (PMS) hatását (Maridonneau 1983, Hebbel 1990) illetve a károsodás kivédésének lehetőségeit vizsgáltuk in vitro reológiai modellen.

3.1.2. Reológiai modell

Egészséges önkéntesektől (10-10 vérminta) 30 ml vénás vért vettünk, melyet Na-heparinnal antikoaguláltunk. A teljes vért 1500 g-n 10 percig centrifugáltuk, a felülúszót eltávolítottuk, majd a vörösvértesteket PBS-el (phosphate buffered saline; pH 7.4; ozmolaritás 310 mOsm; 10 mmol/l glukóz tartalom) háromszor mostuk. Az utolsó centrifugálást követően a felülúszót eltávolítottuk, majd mikrohematokrit centrifugával megmértük a hematokritot, mely mintegy 90% volt. A mosott vvt-et PBS-ben reszuszpendáltuk 20% haematocritot beállítva (Baskurt 1998).

A pentoxiphyllin kísérletnél 8-8 ml mintát inkubáltunk vízfürdőben 37°C-on 1 órán keresztül, 1./ kezelés nélkül; 2./ + 1 mg/ml pentoxiphyllin; 3./ + 2 mmol/l PMS; 4./ + 2 mmol/l PMS + 0.1 mg/ml pentoxiphyllin; 5./ 2 mmol/l PMS + 1 mg/ml pentoxiphyllin.

A carvedilol kísérletnél 8-8 ml mintát inkubáltunk vízfürdőben 37°C-on 2 órán keresztül, 1./ kezelés nélkül; 2./ + 10 µmol/l carvedilol; 3./ + 1 mmol/l PMS; 4./ + 1 mmol/l PMS + 1 µmol/l carvedilol; 5./ 1 mmol/l PMS + 10 µmol/l carvedilol.

Az inkubáció 0. és 120. percében mintát vettünk az extracelluláris Na⁺ és K⁺ szintek meghatározására (Past 1989, Wittmann 1989). Az inkubációs periódus végén a mintákat centrifugáltuk, a vvt-ket PBS-be reszuszpendáltuk, majd 60%-os haematocritot állítottunk be. A vvt szuszpenzió viszkozitását kapilláris viszkoziméteren (Hevimet 40, Hemorex, Budapest - 90 1/s sebességgrádiens mellett) mértük. (Tóth 1989). A különböző minták inkubációját 30 perccel egymás után indítottuk, ezért minden mérés az inkubációs periódus végétől számítva 20 perccel belül megtörtént.

A viszkozitás méréseket 60% hematokritra standardizálva végeztük, mivel ennek a szuszpenzióknak a folyási görbéje a normál emberi teljes vérhez hasonló lefutást mutat és kapilláris viszkoziméterrel pontosan, jól reprodukálhatóan mérhető. Mivel a teljes vér viszkozitást meghatározó tényezők közül a htc értéket standardizáltuk (60%), a PBS-ben szuszpendált vvt-k esetén aggregációval, plazma viszkozitással lényegében nem kell számolnunk, reológiai modellünkben a vvt szuszpenzió viszkozitás változása csaknem egészében deformabilitás függő.

3.1.3. Pentoxiphyllin vizsgálata

A pentoxiphyllinnek ismertek kedvező hemodinamikai hatásai, mint a perifériás ellenállás csökkentése, a verő és a percvolumen növelése, a vér áramlási tulajdonságainak javítása. A fentiek háttérben több tényező áll, foszfodiészteráz gátlás illetve intracelluláris ATP szint növekedés révén a vörösvértestek flexibilitása fokozódik, csökken a plazma fibrinogén szint és fokozódik a plazma fibrinolitikus aktivitása, csökken a vvt-k aggregációs készsége. A tromboxán szintézis csökkentése, valamint a érfali prosztaciklin szintézis fokozása révén gátolja a trombocita aggregációt is. A fent leírt mechanizmusok révén a hemoreológiai paraméterek illetve a mikrocirculáció javulnak. Ismertek irodalmi adatok a szer kedvező hatásáról koronária illetve perifériás erek iszkémia/reperfúziója során is. Ez utóbbiak háttérben feltehetően a szabadgyökös mechanizmusok kivédése áll (Ciuffetti 1991, Dauber 1992). Ezen eredmények vezettek arra, hogy reológiai modellünkben megvizsgáljuk pentoxiphyllin hatását.

A 20%-os vvt szuszpenzió inkubálása során 2mM PMS szignifikánsan növelte a felülülő K⁺ koncentrációját és a 60%-os vvt szuszpenzió viszkozitását. Az inkubációs elegy pentoxiphyllin tartalma dózisfüggően a káliumkiáramlás és a viszkozitás csökkenéséhez vezetett (9. táblázat).

9. táblázat: Pentoxiphyllin és PMS hatása a szupernatáns K⁺ koncentrációjára és a 60%-os vvt szuszpenzió viszkozitására (Hevimet 40, kapilláris viszkoziméter, 90 l/s sebességgrádiens, átlag±SEM, 10 vérminta).

* A kontroll értékhez viszonyítva szignifikáns különbség $p < 0.01$.

** PMS kezelt értékhez viszonyítva szignifikáns különbség $p < 0.05$.

Minta	K ⁺ koncentráció (mmol/l)	Viszkozitás (90 l/s)
Kontroll	4.2±0.2	4.2±0.2
Pentoxiphyllin 1 mg/ml	4.3±0.2	4.3±0.3
PMS 2 Mm	6.7±0.5*	6.0±0.6*
PMS 2mM + Pentoxiphyllin 0.1 mg/ml	5.5±0.4**	5.4±0.5**
PMS 2mM + Pentoxiphyllin 1 mg/ml	5.3±0.6**	5.2±0.4**

3.1.4. Carvedilol vizsgálata

A carvedilol többszörös neurohormonális antagonistá, mely nem-szelektív béta-blokkoló és alfa-blokkoló hatása mellett kifejezett antioxidáns és antiproliferatív tulajdonságokkal is rendelkezik, melyet a molekula carbazol csoportjának tulajdonítanak (Feuerstein 1996). A fenti kombinált hatások miatt hipertóniában, iszkémiás szívbetegségben hatékony (Ruffolo 1997). Mivel gátolja a fokozott szimpatikus aktivitás kardiovaszkuláris hatásait, csökkenti a szívizom noradrenalin szintjét, vazodilatátor és antiproliferatív hatással is rendelkezik, szívélgtelenség kezelésében is egyre szélesebb körben alkalmazzák. Az állatkísérletes vizsgálatok során észlelt igen jelentős kardioprotektív hatás háttérében a ROI által indukált direkt citotoxikus hatások és a gén aktiváció kivédése állhat (Feuerstein 1993, Yue 1994a). Az irodalomban vannak adatok carvedilol kedvező hemoreológiai hatását illetően. Hipertóniás betegek kezelése során a vvt deformabilitás

növekedését, a vvt és trombocita aggregáció és a plazma viszkozitás csökkenését észlelték (Nagakawa 1990). Az jól ismert, hogy az oxigén szabadgyökök és termékeik megváltoztathatják a vvt-k funkcionális tulajdonságait, ezáltal mikroreológiai jellemzőit (Baskurt 1994). A deformabilitás csökkenésének hátterében a membránfehérjék konformáció változása (pl. spektrin-hemoglobin keresztkötések) állhat (Snyder 1985). Irodalmi adatok szólnak a szabadgyökök hatására kialakult vvt membrán fehérje keresztkötések mellett (Baskurt 1998). A másik lehetséges mechanizmus, melyet nem hagyhatunk figyelmen kívül, a lipid peroxidáció fokozódása. Az előbb említett nemkívánatos reológiai hatások (rigiditás, aggregáció-, vérviszkozitás fokozódása, stb.) klinikai szempontból a mikrocirkuláció megváltozásához és reperfüzió során az úgynevezett "no-reflow" jelenséghez vezethet.

10. táblázat: Carvedilol és PMS hatása a szupernatáns K^+ koncentrációjára és a 60%-os vvt szuszpenzió viszkozitására (Hevimet 40, kapilláris viszkoziméter, 90 l/s sebességgrádiens, átlag \pm SEM, 10 vérminta).

* A kontroll értékhez viszonyítva szignifikáns különbség $p < 0.01$.

** PMS kezelt értékhez viszonyítva szignifikáns különbség $p < 0.05$.

Minta	K^+ koncentráció (mmol/l)	Viszkozitás (90 l/s)
Kontroll 0. Perc	3.9 \pm 0.1	4.1 \pm 0.1
Kontroll 120. Perc	4.0 \pm 0.1	4.2 \pm 0.1
Carvedilol 1 μ M	4.0 \pm 0.2	4.2 \pm 0.2
PMS 1 mM	6.2 \pm 0.4*	5.8 \pm 0.3*
PMS 1mM + Carvedilol 1 μ M	5.7 \pm 0.5	5.5 \pm 0.4
PMS 1mM + Carvedilol 10 μ M	5.5 \pm 0.3**	4.9 \pm 0.4**

A 20%-os vvt szuszpenzió inkubálása során 1mM PMS a felülúszó szignifikáns K^+ koncentráció fokozódásához vezetett. Carvedilol (1 illetve 10 μ mol/l) kezelés a K^+ kiáramlást szignifikánsan csökkentette. A 60%-os vvt szuszpenzió viszkozitása kezelés nélkül az inkubációs periódus során nem változott. Carvedilol kezelés önmagában nem csökkentette a viszkozitást. A PMS kezelés szignifikáns viszkozitás növekedéshez vezetett,

melyet a carvedilol jelentősen csökkentett (10. táblázat).

3.1.5. Megbeszélés

Az oxigén szabadgyökök vörösvértest károsító hatása jól ismert, melynek során funkcionális változások keletkezhetnek, membrán és citoplazmatikus struktúrák érintettek (Novak 1989, 1995). Methemoglobinémia mellett fokozott lipidperoxidációt és membrán fluiditás változást is igazoltak (Chiu 1989, Snyder 1985, Watanabe 1990). A deformabilitás változása a fokozott LPO mellett a membrán proteinek strukturális átalakulása (pl. spektrin-hemoglobin összekapcsolódás) miatt is létrejöhet (Snyder 1985). A vörösvérsejtek oxidatív károsodásának vizsgálatakor a xantin oxidáz/hipoxantin rendszer sejten kívüli szuperoxid képződéshez vezet, melynek során elsősorban a vvt aggregáció változik érdemben (Baskurt 1998). PMS-el a sejten belül generált szuperoxid fokozott sejtrigiditáshoz, kellően magas koncentráció esetén ehinocitózishoz is vezet (Snyder 1985). Reológiai modellünkben a membránkárosodás illetve a deformabilitás változását vizsgáltuk. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy a PMS által intracellulárisan generált szuperoxid aniongyök a vörösvértest membrán rigiditásának fokozódásához és ezáltal csökkent deformabilitáshoz vezet (Hebbel 1990, Baskurt 1998). Eredményeink arra utalnak, hogy pentoxiphyllin illetve carvedilol részlegesen képes kivédeni a PMS (intracellulárisan generált szuperoxid) által indukált vvt membrán károsodást, ezáltal a vvt-k strukturális illetve mechanikai jellemzői javulnak.

4. KLINIKAI VIZSGÁLATOK

4.1. Enoximon hatásának vizsgálata iszkémiás és nem iszkémiás dilatatív kardiomiopátiás betegeken

4.1.1. Bevezetés

A kardiovaszkuláris betegségek incidenciája folyamatos növekedést mutat. A hipertónia, a koszorúér betegség, kardiomiopátiák mint fő etiológiai tényezők a miokardium funkciójának csökkenéséhez és szimptomatikus szívelégtelenséghez vezetnek. A szívelégtelenség gyakori, súlyos betegség, melynek a modern gyógyszeres kezelés ellenére az egy éves mortalitása NYHA-IV stádiumban (New York Heart Association osztályozás szerinti legsúlyosabb funkcionális állapot) az 50%-ot is meghaladja. A dilatatív (primer vagy szekunder) kardiomiopátia és a következményében kialakult szívelégtelenség estében a gyógyszeres terápia lehetőségei sokrétűek. El kell különíteni egymástól a krónikus illetve az akut szívelégtelenség kezelését. Az alkalmazott főbb gyógyszercsoportok a vazodilatátorok, az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gátlók, a diuretikumok, béta-blokkolók és a pozitív inotrop szerek. A szívelégtelenség modern patofiziológiai szemléletét illetve a randomizált nemzetközi tanulmányok eredményeit figyelembe véve az ACE gátlók és a béta-blokkolók szerepe kiemelkedő fontosságú (Bristow 1996, Packer 1996, The CONSENSUS Trial Study Group 1987, The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II), 1999, Waagstein 1993). A pozitív inotrop szerek közül a legszélesebb körben a digitális készítmények használatosak. A gyógyszercsoport további tagjai a béta-agonisták, a Ca-szenzitizálók illetve a foszfodiészteráz-III gátlók (PDEI), úgymint az amrinon, milrinon és az enoximon. Ezek a szerek gátolják a ciklikus AMP lebontását a szívizomzatban és a perifériás erek simaizomzatában, s ez fokozott miokardiális kontraktilitásban, valamint perifériás vazodilatációban nyilvánul meg (Morita 1995). A szívfrekvencia és a vérnyomás változása nem kifejezett. A pozitív inotrop hatás ellenére a szívizom oxigénigényének fokozódása nem jelentős, melyet a vazodilatátor hatás magyaráz (Vernon 1991). Krónikus szívelégtelenség során a szívizomzat béta receptorainak száma jelentősen csökken (különös tekintettel a béta-1 receptorok - úgynevezett béta receptor "down reguláció"), megváltozik a béta-1 és béta-2 receptorok aránya. Ilyenkor a szív egyrészt béta agonistákkal (endogén és exogén) kellően

nem stimulálható, másrészt a szívelégtelenség hosszútávú kezelésében kedvező hatásokkal bíró béta-blokkoló terápia kezdetekor a klinikai tünetek, akár kritikus rosszabbodása észlelhető. Ezen megfontolások alapján nem meglepő, hogy irodalmi adatok alapján, refrakter szívelégtelenség esetén intravénás béta-agonista kezelés (dobutamin) és a PDEI kezelés kombinációja szinergista hatást mutat (Gilbert 1995, Jondeau 1994, Caldicott 1993). Ugyancsak a fenti megfontolás alapján, az orális béta-blokkoló kezelés kezdetekor a szívelégtelenség tüneteinek súlyosbodását átmentei orális PDEI kezeléssel ki tudták védeni ("bridge to beta-blockade") (De Marco 1998, Shakar 1998). A szívizomzat cAMP szintjének emelkedése azonban ritmuszavarokhoz illetve hirtelen halálhoz vezethet, mely kérdésessé teszi ezen gyógyszercsoport klinikai hatékonyságát (Remme 1993). Lezárultak kontrollált vizsgálatok is (PROMISE), melyek eredménye azt mutatta, hogy tartós orális PDEI kezelés ugyan a klinikai tünetek javulásához vezetett, de a betegcsoport mortalitása fokozódott (Packer 1989, 1991, Dec 1993, Cowley 1994). Más a helyzet refrakter krónikus illetve akut szívelégtelenség során. Ilyenkor rövid idejű intravénás inodilatátor kezelés átmeneti, vagy tartós javuláshoz vezethet (Kulka 1993), illetve azon centrumokban, ahol a szívtranszplantáció reálisan elérhető lehetőség, a műtétig tartó periódus áthidalásában segíthet ("bridge to transplantation") (Bristow 1994, O'Connell 1991).

4.1.2. Betegek és módszerek

Vizsgálatunk során intravénás enoximon (Perfan, Marion Merrel Dow) hatását vizsgáltuk a hemodinamikai paraméterek változására dilatatív kardiomiopátiás betegeken (Berti 1996, Smith 1991).

17 beteget, 10 férfi, 7 nő (átlagéletkor 56 ± 12 év, 35 és 72 év között) kezeltünk. A szívelégtelenség etiológiája 8 esetben iszkémiás, 9 esetben más etiológiájú dilatatív kardiomiopátia volt. A betegek átlagos ejekciós frakciója izotóp ventrikulográfiás módszerrel 21%, echokardiográfia vizsgálattal mérve 24% volt. A betegek refrakter, súlyos szívelégtelenségnek megfelelően NYHA-III (10 beteg) illetve NYHA-IV-es (7 beteg) stádiumban voltak. A betegek kombinált orális gyógyszeres kezelésben részesültek (ACE inhibitor, diuretikum, nitrát, digoxin, amiodaron, antikoaguláns kezelés), melyet a vizsgálat során nem függesztettünk fel. A kezelést megelőzően 1 héten belül izotóp ventrikulográfiás vizsgálatot végeztünk (MB 9100 Gamma), a balkamra falmozgás és az ejekciós frakció meghatározására. Az infúziós kezelést közvetlenül megelőzően echokardiográfias vizsgálat

történt (Picker SE 151B), melynek során az üregmértetek, a szisztolés (frakcionális rostróvídülés -FS, ejekciós frakció - EF%), és a diasztolés (E/A, izovolumetriás relaxáció - IVR) balkamra funkció és az áramlási paraméterek (aorta Vmax) meghatározására került sor. Alapvizsgálatként radiocirkulográfiás (RCG) vizsgálatot is végeztünk (NK 362 Gamma), a mért paraméterek a vérőlvolumen (SV), percvolumen (CO), percvolumen index (CI) voltak. A betegeket impedancia- kardiográfiás vizsgálattal (IKG - ICG M401 ASK) az első 60 perc során folyamatosan monitoroztuk. Mértük a vérőlvolumen, percvolumen, percvolumen index, a szisztémás vascularis rezisztencia (SVR), a szisztolés, a diasztolés vérmennyiség, artériás középnyomás, szívfrekvencia változását. Infúziós pumpával 1 mg/tskg enoximon-t adtuk intravénásan 30 perc alatt, s az EKG-t folyamatosan monitoroztuk. Ismételt echokardiográfiás vizsgálatot végeztünk 60 perc múlva, majd 24 óra múlva RCG, echokardiográfia illetve IKG vizsgálat történt.

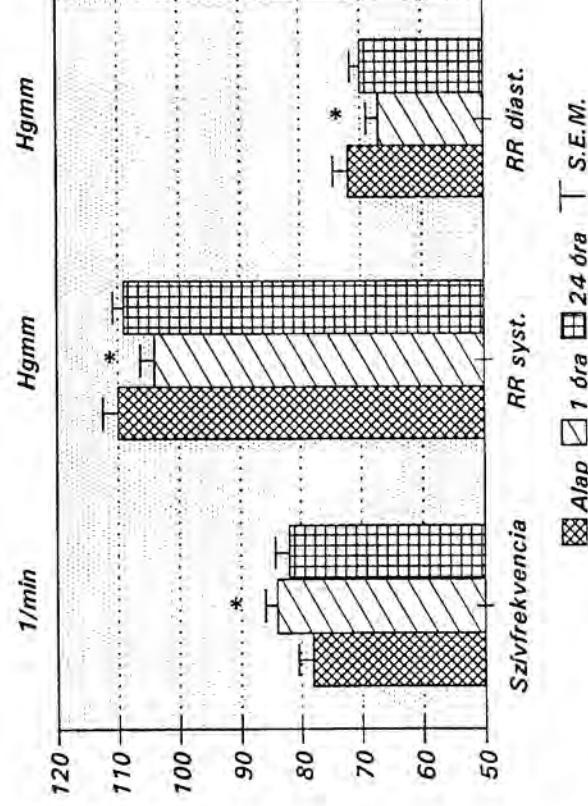
4.1.3. Eredmények

Az 1 órás kontroll vizsgálatkor az alapvizsgálathoz képest a szívfrekvencia szignifikánsan növekedett, a szisztolés és a diasztolés vérmennyiség szignifikánsan csökkent (*9. ábra*). Ezek a változások ugyanakkor nem voltak klinikailag jelentősek. A vérőlvolumen illetve szívindex kiinduláskor az alapbetegségnek megfelelően kórosan alacsony volt. Enoximon adását követően ezek a paraméterek igen jelentősen növekedtek (24%), mind IKG-val, mind RCG-vel mérve. A szívindex 24 óra múlva is szignifikánsan magasabb volt (*10. ábra*). A szer vazodilatátor hatásának megfelelően az IKG-val mért SVR erősen szignifikánsan csökkent (22%) és még 24 óra múlva is alacsonyabb volt mint a kiindulási érték (*11. ábra*). A szisztolés funkció javulásának megfelelően az echokardiográfiával mért FS% illetve EF% 1 óra múlva szignifikánsan növekedett (13%-16% illetve 24%-29%), az aorta kiáramlás pulzatilis Dopplerrel mért Vmax értéke 0.7 m/s-ról 0.81 m/s-ra emelkedett, az EF és aorta Vmax érték kismértékben 24 óra múlva is magasabb volt (*12. ábra*). A szer diasztolés funkcióra való hatásának eredményeként a kórosan rövid IVR az 1 órás kontroll során szignifikánsan növekedett (*13. ábra*). A vizsgálat során egy esetben észleltünk minősített kamrai ritmuszavart.

4.1.4. Megbeszélés

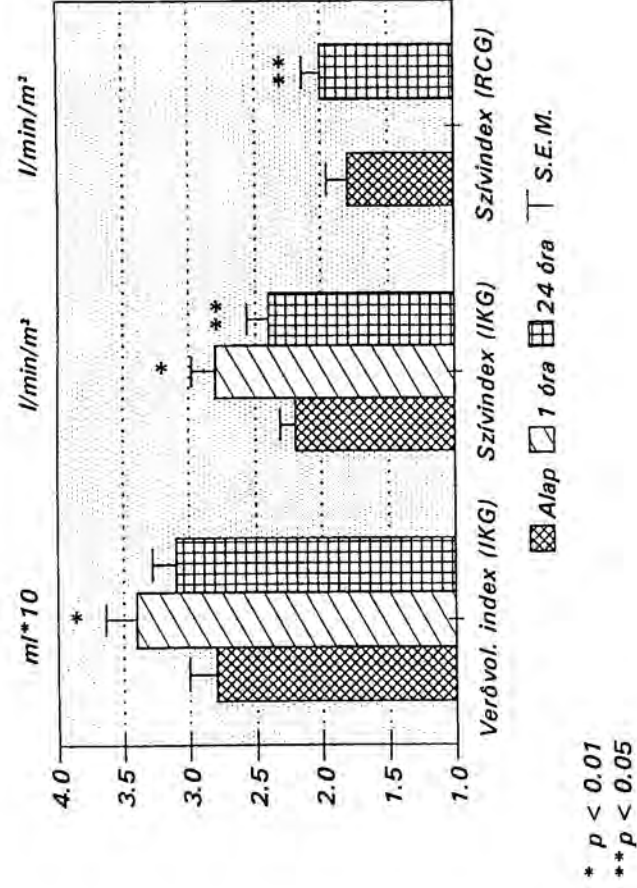
Tartós orális pozitív inotrop kezelés mellett a hirtelen szívhalál kockázata megnő, melynek háttérében ezen szerek proaritmiás hatása állhat (The Xamoterol in Severe Heart Failure Study Group 1990, Uretsky 1990). Súlyos szívelégtelenségben szenvedő betegek digitális kezelése mellett az ösztimuláció érdemben nem változik, de a betegek életminősége javul (Riaz 1998). Az intravénás pozitív inotrop kezelés során célunk a kritikus állapotban lévő beteg hemodinamikai státuszának javítása. Az ambuláns intermittáló dobutamin kezelés során a maximális orális terápia mellett is refrakter szívelégtelenségben szenvedő betegek keringési státusza javítható, azonban a kezelés során malignus ritmuszavar kialakulásának esélye nem csekély (Tajjan 1998) Jelen vizsgálatunk során Magyarországon elsők között vizsgáltuk a pozitív inotrop és vazodilatátor hatással bíró PDE-III gátló parenterális enoximon kezelés rövidtávú hemodinamikai hatásait refrakter szívelégtelenségben szenvedő betegeken.

Vizsgálatunk során megállapítottuk, hogy 30 perc alatt iv. adott 1 mg/tskg enoximon hatására a hemodinamikai paraméterek, a balkamra szisztolés és diasztolés funkciója szignifikánsan javulnak. A kedvező hatások részben a szer adását követően 24 órával is fennmaradnak. Komolyabb mellékhatást a vizsgálat során nem észleltünk, a betegek a kezelést jól tolerálták (egy esetben jelentkezett nem súlyos kamrai ritmuszavar). A fentiek alapján úgy gondoljuk, hogy refrakter szívelégtelenség esetén a rövidtávú, intermittáló PDE-III gátló kezelésnek szerepe lehet a terápiában.

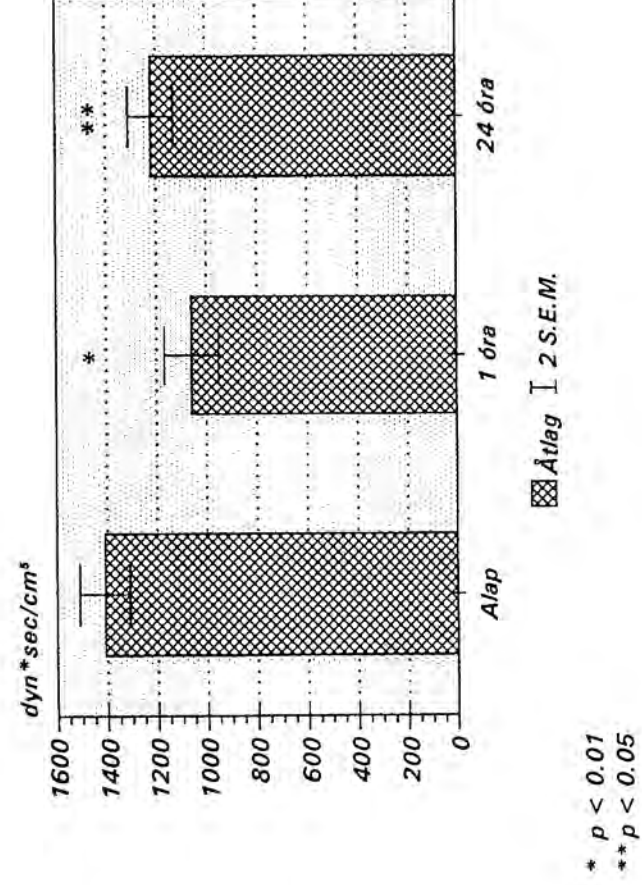


* $p < 0.05$

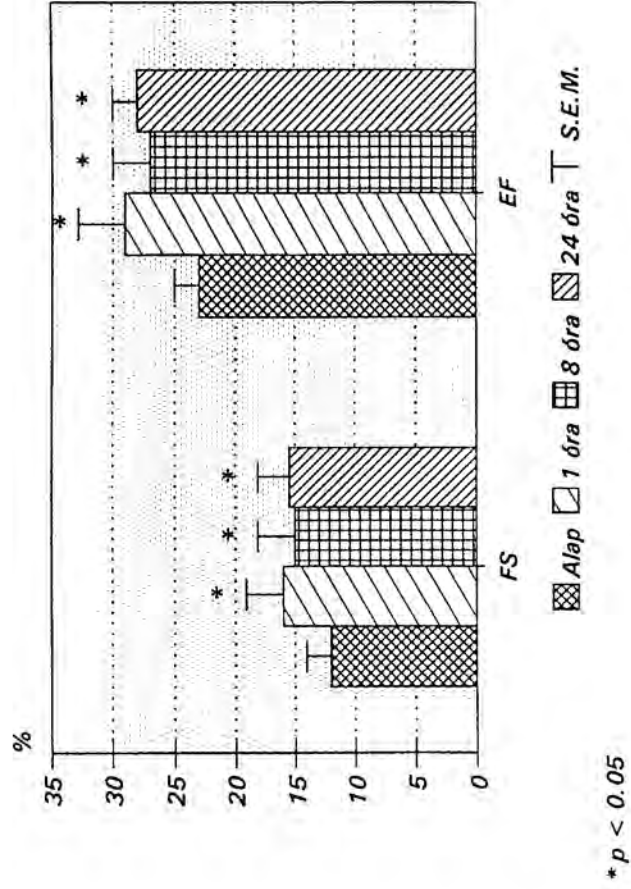
9. ábra: A szívfrekvencia és a vérnyomás változása.



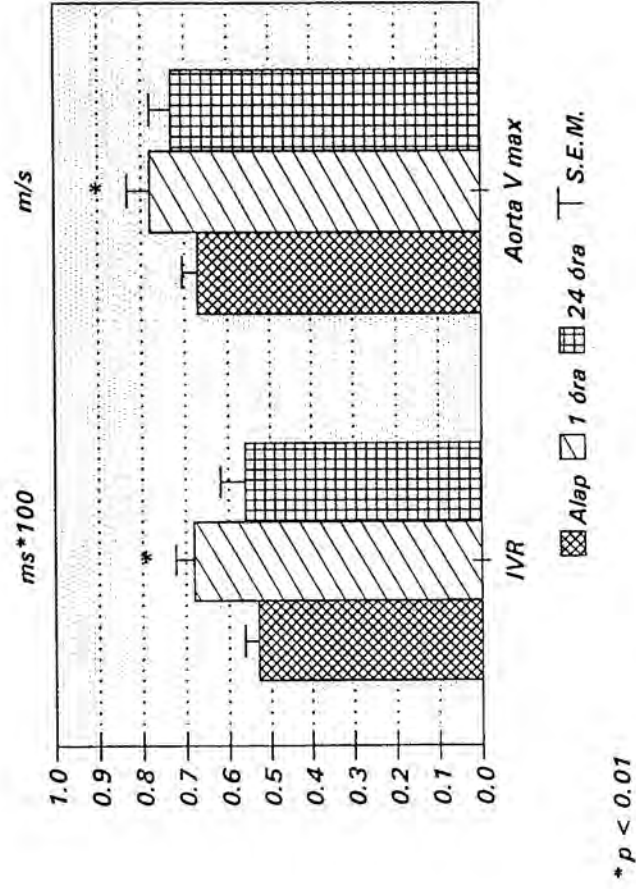
10. ábra: Az IKG-val és RCG-val mért vérővolumen index és szívindex változása.



11. ábra: A szisztémás vaszkuláris rezisztencia változása.



12. ábra: A frakcionális rostróvidülés és ejekciós frakció változása.



13. ábra: Az izovolumetriás relaxációs idő és az aorta kiáramlás Vmax. értékei.

4.2. Kardiiovaszkuláris támadáspontú gyógyszerek reológiai hatásának vizsgálata

4.2.1. Bevezetés

A hemoreológiai paraméterek változása jól ismert különböző kardiiovaszkuláris betegségek esetén. Ezen változások mind ok, mind következmény lehetnek, de több paraméter tekintetében igazolt elsődleges rizikófaktor szerepük. A jól ismert ISZB rizikófaktorok közül a dohányzás (fibrinogén szintet emeli) illetve a hiperlipidémia tovább rontják a hemoreológiai paramétereket. A magas fibrinogén szint egyben önálló kardiiovaszkuláris rizikónak tekinthető (Boda 1997, Ernst 1990, Kannel 1987, Koenig 1995). Az ISZB mellett a magasvérnyomás betegség a leggyakrabban előforduló körkép a felnőtt populációban. Vizsgálatok szerint a hemoreológiai paraméterek változása korrelálhat a betegség súlyosságával és a szövődmények megjelenésével (Annapuma 1990, Devereux 1984, Dintenfass 1977, Ernst 1984, Koenig 1989, 1991b, Vékási 1996). Az artériás vérnyomást a perctérfogat és a teljes perifériás rezisztencia határozza meg, ez utóbbi pedig az artériás érellenállás mellett a keringő vér viszkozus ellenállásából tevődik össze. A hemoreológiai tényezőknek fontos szerepük lehet az emelkedett perifériás rezisztencia fenntartásában különösen a mikrocirkuláció területén (Grajek 1988). A kardiológiai betegek esetén a hiperviskozitás kezelésének (hemodilúció, plazmaferézis, gyógyszerek) hatása kevésbé alátámasztott mint perifériás vagy cerebrovaszkuláris betegségek esetén (Mózsik 1992, Tóth 1990e). A kardiiovaszkuláris támadáspontú gyógyszerek jelentős része rendelkezik különböző mértékű reológiai hatással is, ezáltal elsődleges hatásán túl pozitív, de akár kedvezőtlen irányú mikrocirkulációs változásokat is okozhat (Bogár 1986, Ehrly 1990, Koenig 1991b, Lowe 1984, Rosenson 1997, Waller 1982). Korábbi vizsgálatok a diuretikumok negatív hemoreológiai hatásairól számoltak be (Tóth 1987). A Ca-csatorna-blokkolókról semleges, vagy némileg kedvező hatást mutattak ki és a béta-blokkolókkal kapcsolatban is hasonló eredmények születtek (Heilmann 1988, Kiesewetter 1994). Vizsgálataink során iszkémiás szívbetegségben, hipertóniában, hiperlipidémiában szenvedő betegcsoportok gyógyszeres kezelése során vizsgáltuk nitrát, alfa-blokkoló illetve lipidszökkentők hatását a hemoreológiai és hemodinamikai paraméterek változására.

4.2.2. Módszerek

Vizsgálatink során a vérvételek a véna cubitalisból történtek, standard körülmények között. A hematokrit értékét mikrohematokrit-centrifuga segítségével határoztuk meg. A plazma és a teljes vér viszkozitás mérése Hevimet 40 kapilláris illetve Contraves Low Shear 100 rotációs viszkoziméteren történt 90 illetve 4.59 1/s sebességgrádiens mellett. A kapilláris viszkozimetria során (közepes és magas sebességgrádiens) a plazma viszkozitás 1.3 mPas-ig, a teljes vér viszkozitás 90 1/s-nál 4.5 mPas-ig, a rotációs rendszerben a 0.53 1/s-nél (alacsony sebességgrádiens) 29-30 mPas, 4.59 1/s-nél (alacsony-közepes sebességgrádiens) 9.5-10 mPas tekinthető normálisnak (Mátrai 1977, Whittington 1984). A fibrinogénszintet nephelometriás módszerrel határoztuk meg. A mérések szobahőmérsékleten (22 °C), a vérvételtől számítva 3 órán belül történtek.

A hemodinamikai mérések (verővolumen, percvolumen, percvolumen index, szisztémás vascularis rezisztencia) nem-invazív módon impedancia-kardiográfiás módszerrel történtek (ICG M401 ASK).

Az ergometriás vizsgálatokat Marquette Case 15 járószalagos rendszeren, Bruce protokoll szerint végeztük.

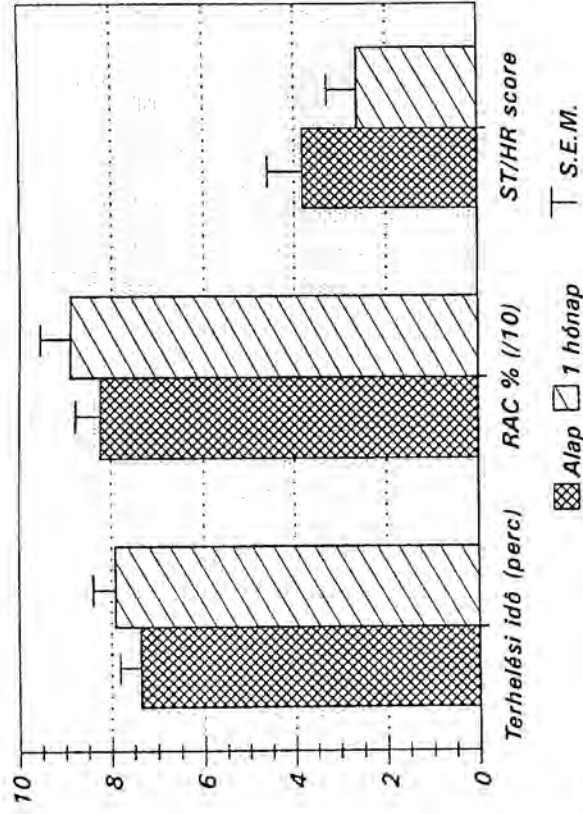
4.2.3. Nitrát

Ugyan a nitrátok antianginás hatása már több mint száz év óta ismert, még ma is az egyik leggyakrabban alkalmazott gyógyszer csoport az ISZB kezelésében (Grobecker 1990). A szer fő hatása a vaszkuláris simaizom relaxáció előidézése. Ezen hatást az NO felszabadulás által mediált cGMP szint növekedés révén érik el. A vazodilatátor hatás a coronariákon, az 100 µm feletti perifériás artériákon és a vénákon is érvényesül, de ez utóbbi hatás a legkifejezettebb. A nitrátok növelik a vénás térfogatot, ezáltal nő a perifériás vénákban a vérmennyiség. Az alacsonyabb vénás tónus az előterhelés csökkenéséhez vezet, melynek következtében csökken a falfeszülés, a miokardium oxigénigénye. A kollaterális keringés javítása, ezáltal az szubendokardialis iszkémia csökkentése is jelentős. Előrehaladott iszkémiás szívbetegségben az endogén, endotélium által kibocsátott NO mennyisége jelentősen csökken. A különböző kórfolyamatok során kialakuló endothel diszfunkció mérésének non-invazív módszere ismert (Nagy 1998). Exogén módon bevitt nitrogén monoxiddal az egyértelmű antianginás hatás mellett az endotél diszfunkció számos

következménye is kivédhető lenne, ugyanakkor a NO és a szuperoxid anion reakciója következtében károsító hatású szabad gyökök keletkezhetnek (pl. reperfüzió során). A fentiek mellett a nitrátok mérsékelt trombocita-aggregáció gátló hatása is ismert. Az isosorbid-5-mononitrátok az egyik legmodernebb nitrátszintmentes. A szer biológiai hasznosíthatósága igen magas, gyakorlatilag nincs hepatikus "first-pass" metabolizmus.

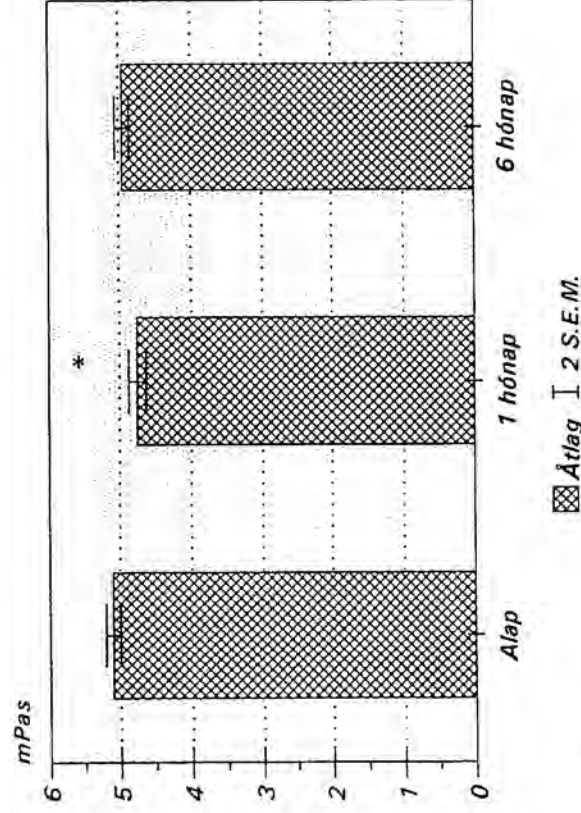
51 iszkémiás szívbeteget kezeltünk (átlagos életkor: 53.1±9.2 év, 18 nő és 33 férfi) hat hónapig napi 40-60 mg isosorbid-5-mononitráttal (Olicard R, Solvay Pharma). A kezelés megkezdése előtt 19 beteg nem kapott kardiovaszkuláris támadszpontú gyógyszert, 10 beteg kapott nitrátot (Nitromint R, Sustac), 6 kalcium-csatorna blokkolót (Corinfar, Baypress), 3 beteg béta-blokkolót (Betaloc, Tenormin) és 6 beteg ACE-gátlót (Tensiomín, Renitec, Lotensin). Azoknál a betegeknél, akik nitrátot kaptak, 48 órás átmeneti, hosszabb hatású nitráttól mentes periódust követően lecseréltük azt Olicard Retard-ra, a többi, előzőleg más gyógyszeres terápiában részesült beteg kezelését pedig kiegészítettük azzal. A vizsgált gyógyszer alkalmazása előtt, illetve 1 és 6 hónapos kezelés után határoztuk meg a betegek teljes vér és plazma viszkozitását, a fibrinogén szintet, a hematokritot, a fehér- és vörösvérsejtszámot, valamint maximális, tünetmentes ergometriás vizsgálatot végeztünk (Bruce 1973, Morris 1991) folyamatos impedancia-kardiográfiás monitorozás mellett (Kubicek 1966, Horváth 1993).

A percvolumen nem változott szignifikánsan, de a maximális illetve a szummált ST depresszió értéke, a perifériás vaszkuláris rezisztencia és a vérnyomás csökkent ($p<0.05$), a betegek terhelési toleranciája (RAC%) nőtt (14. ábra). A vizsgálati periódus során a plazma viszkozitása nem változott, míg a teljes vér viszkozitása mérsékelten, de szignifikáns módon csökkent az első hónapban, de ez a kezdeti javulás a hatodik hónap végén már nem volt kimutatható (15. ábra). Ennek hátterében felmerül a nitrát tolerancia illetve a vénás pool növekedése miatti kezdeti autohemodilúció csökkenése.



$p < 0.01$

14. ábra: A terhelési idő, a RAC% és az ST/HR score változása a vizsgálat során.



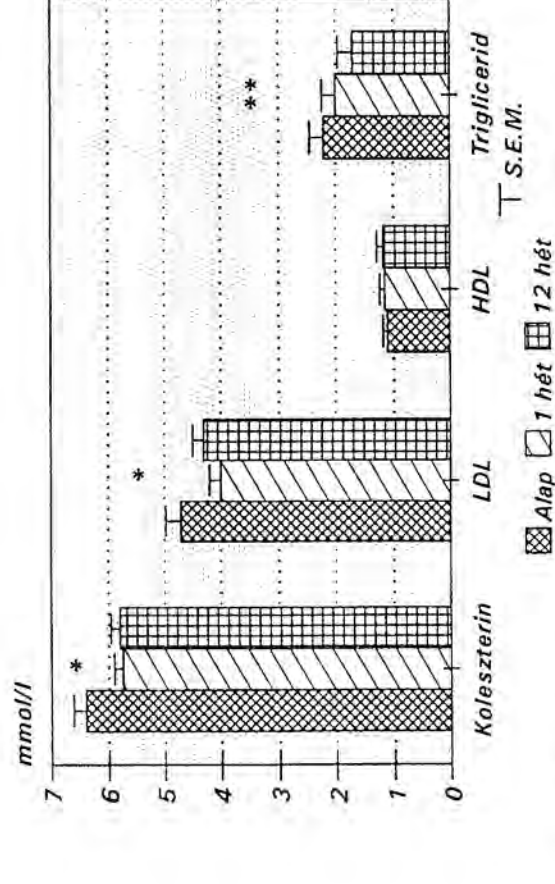
* $p < 0.01$

15. ábra: A teljes vér viszkozitás változása.

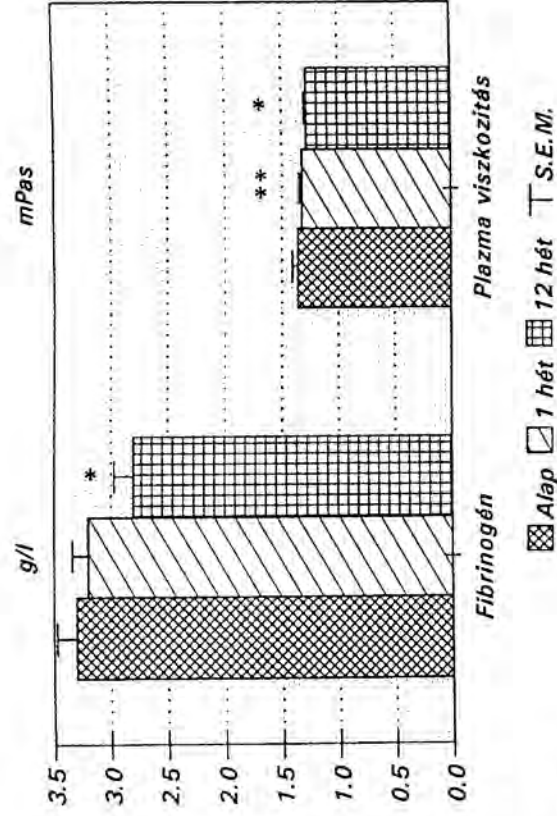
4.2.4. Alfa-receptor blokkoló

A doxazosin hosszú hatástartamú, szelektív alfa-1-adrenoreceptor-antagonista. E receptorok blokkolása a szimpatikus tónus csökkenését okozza, amely a perifériás erek

dilatációját és ezen keresztül a vérnyomás csökkenését eredményezi. A szer - más alfa-1-adrenoreceptor-blokkolókhöz (pl. prazosin) hasonlóan - kedvezően befolyásolhatja a plazmalipidek szintjét is (Fulton 1995). Tanulmányunkban doxazosin hemoreológiai és hemodinamikai hatásait vizsgáltuk 20 esszenciális hipertóniás betegen (átlagélekor: 54±10 év). Hipertóniás kórelőzményük átlagosan 12.7 éve állt fenn. Egy hét gyógyszermentes kimosási időszakot követően kezdtük a doxazosin terápiát 1 mg/nap dózissal, majd fokozatosan emelve, az átlagos dózis 6.7 mg volt. A hemoreológiai (hematokrit, fibrinogén, plazma és teljes vér viszkozitás) és hemodinamikai (percvolume és percvolume index, szisztémás vaszkuláris rezisztencia) paraméterek és plazma lipidszintek változását vizsgáltuk. A méréseket a kezelés kezdete előtt, 1 majd 12 hetes kezelést követően végeztük. Az alaphatás, a vérnyomás és a szisztémás vaszkuláris rezisztencia szignifikáns csökkenése mellett ($p < 0.001$), a koleszterin és trigliceridszintek is szignifikánsan csökkentek (16. ábra). A hemoreológiai paraméterek is kedvező irányban változtak. A fibrinogén és a plazma viszkozitás szignifikánsan csökkent (17. ábra). Az egy hetes hematokrit értékek alacsonyabbak voltak, majd emelkedés volt észlelhető. A teljes vér viszkozitás változása a hematokrithez volt hasonló, de az emelkedés mértéke nem érte el azt, és a korrigált vérvizkozitás a vizsgálat végén is szignifikánsan alacsonyabb volt (18. ábra).

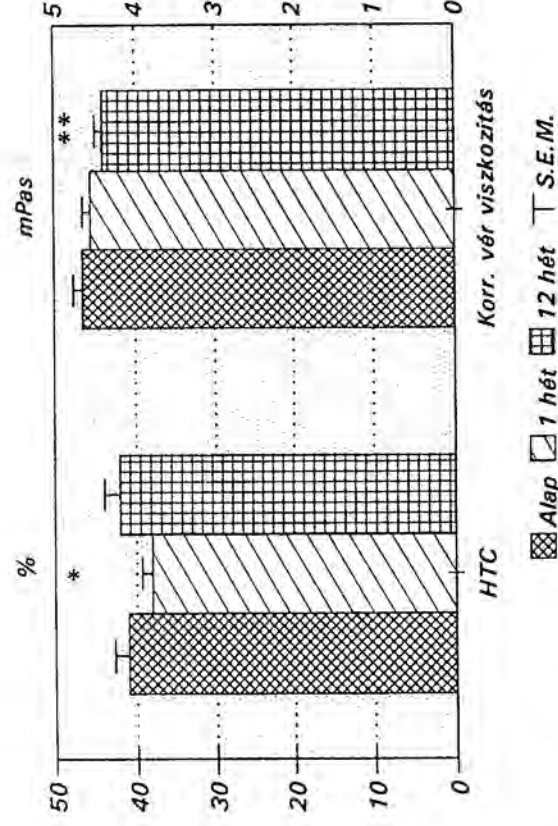


16. ábra: A koleszterin, LDL-, HDL-koleszterin és triglicerid szintek változása.



* $p < 0.01$
 ** $p < 0.05$

17. ábra: A fibrinogén szint és a plazma viszkozitás változása.



* $p < 0.01$
 ** $p < 0.05$

18. ábra: A hematokrit és a 40%-os hematokritértékre korrigált teljes vér viszkozitás (90 l/s) változása.

Vizsgálataink a korábbi eredményekkel összhangban azt mutatják, hogy a doxazosinnal kezelt betegek plazmalipid paraméterei jelentősen javulnak. Értégtő hatása mellett a doxazosin a fibrinogén és a plazma viszkozitás csökkentésén keresztül is hozzájárulhat a

perifériás ellenállás csökkenéséhez. E faktorok a vvt aggregáció kedvező irányban történő változását is eredményezhetik. Ezek a változások együttesen csökkenthetik a perifériás viszkózus ellenállást és ezáltal javíthatják a véráramlást (Ajmani 1997, Natsume 1982). A hematokrit szint kezdeti csökkenése a vazodilatáció okozta autohemodilúció jelenségével magyarázható. Mindezen előnyös változások a hypertonia gyakori kardiovaszkuláris szövődményének, az iszkémiás szívbetegség rizikójának jelentős mértékű csökkenéséhez is hozzájárulhatnak (Leschke 1990, Moller 1991, Tsinamdzvrisivili 1991).

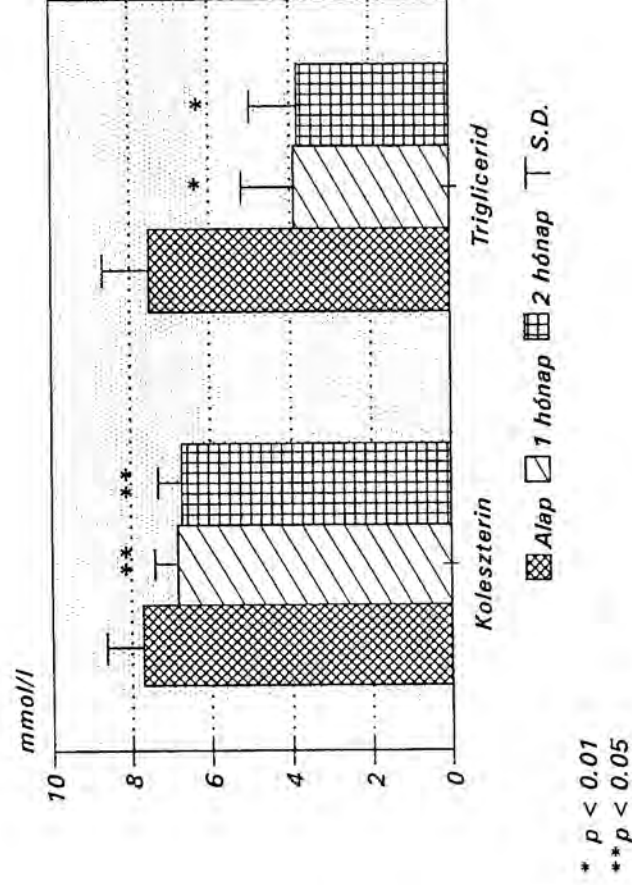
4.2.5. Lipidcsökkentők

4.2.5.1. Omega-3-zsírsvav

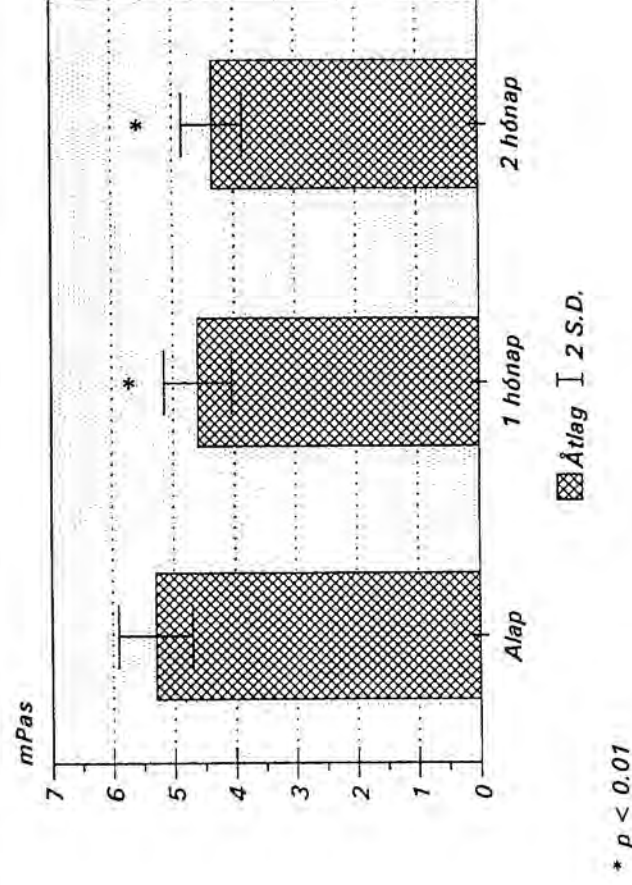
Az régóta ismert, hogy a grönlandi eszkimók koronária szívbetegség incidenciája és plazma trigliceridszintje alacsony. Ennek háttérében jellegzetes táplálkozási szokások, a magas halfogyasztás áll (Ascherio 1995, Haglund 1990, Kromhout 1985). A halzsír nagy mennyiségben tartalmaz hosszúlánú telítetlen zsírsvavakat (omega-3-zsírsvavak - eikozapentaénsav, dokozapentaénsav). Korábbi tanulmányok kimutatták ezen zsírsvavak kedvező hatását a lipidprofilra IIb illetve V típusú hiperlipoproteinémiában (Nordoy 1998). A legfőbb hatás a VLDL illetve a VLDL-apoB szintézis csökkentése, ezáltal a triglicerid szint jelentős, a koleszterinszint mérsékelt csökkentése (Franceschini 1993, Otto 1996, Saynor 1992). Állatkísérletes vizsgálatok során az iszkémia-reperfúzió okozta károsodást, a vaszkuláris és miokardiális szuperoxid anion termelést csökkentette, javította a mitokondriális oxidatív metabolizmust és az endothel funkciót (Bilo 1994, Demaison 1994, Fleischhauer 1993, Nasa 1998, Schjott 1996, Supari 1995, Yuan 1998). Az omega-3-zsírsvavak hatással vannak a trombocita funkcióra, a prosztaglandin szintézisre is, csökkentik a fibrinogén szintet és a monociták leukotrién termelését, ezért koronária angioplasztikát követő resztenózis kivédésében is segíthetnek (Dehmer 1988, Sacks 1995). Kimutatták enyhe vérnyomáscsökkentő hatását is (Bao 1998). Mindezen hatások kedvező irányú hemoreológiai változásokat okozhatnak (Ernst 1988b, 1989, 1991, Yetiv 1988, Tóth 1990c,d).

Első tanulmányunk során 20 ISZB-s hiperlipidémiás beteget (átlagéletkor: 53±11 év) kezeltünk 2 hónapon keresztül napi 3x2 kapszula Ameu R-al (0.5 g lazacolaj, mely 33% omega-3-zsírsvavat tartalmaz). Alap, 1 illetve 2 hónapos kontrollvizsgálat történt.

Meghatároztuk a rutin laboratóriumi és a reológiai paramétereket, majd ergometriás vizsgálatot végeztünk. A vizsgálat során az ergometriás paraméterek javultak (RAC% $50 \pm 14.65 \pm 10$, ST score $1.2 \pm 0.4 - 0.9 \pm 0.5$), a plazma viszkozitás ($1.38 \pm 0.04 - 1.34 \pm 0.05$ mPas) illetve a fibrinogén szint ($5.1 \pm 0.6 - 4.5 \pm 0.7$ g/l) csökkenő tendenciát mutattak (nem szignifikáns változások). A koleszterin és triglicerid szintek és a teljes vér viszkozitás szignifikánsan csökkent (19,20. ábra).

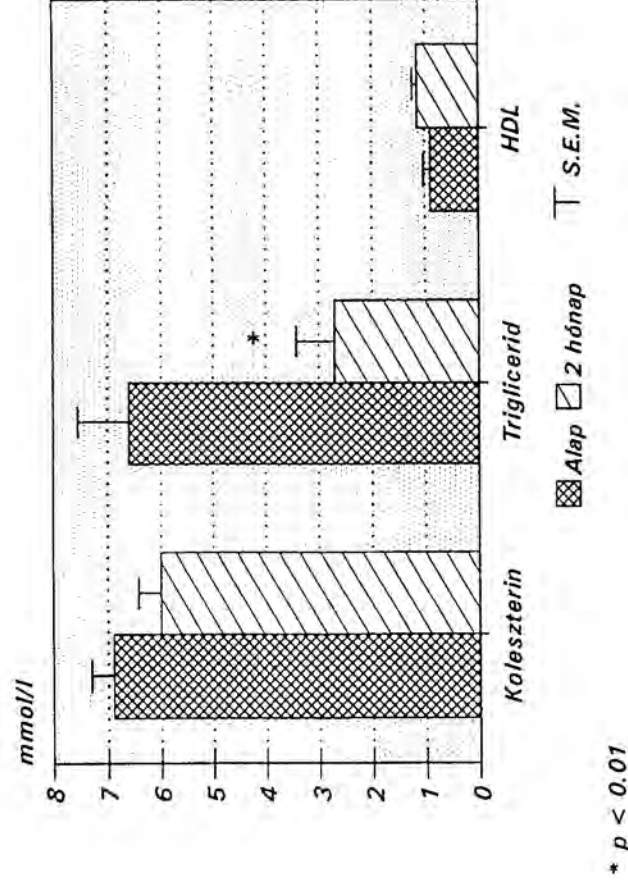


19. ábra: A koleszterin és triglicerid szint változása.

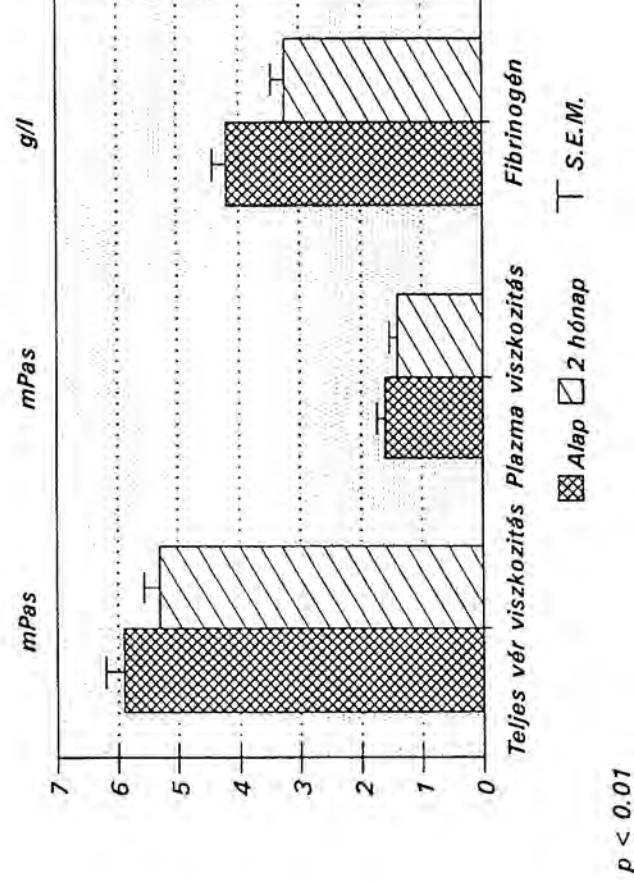


20. ábra: A teljes vér viszkozitás változása.

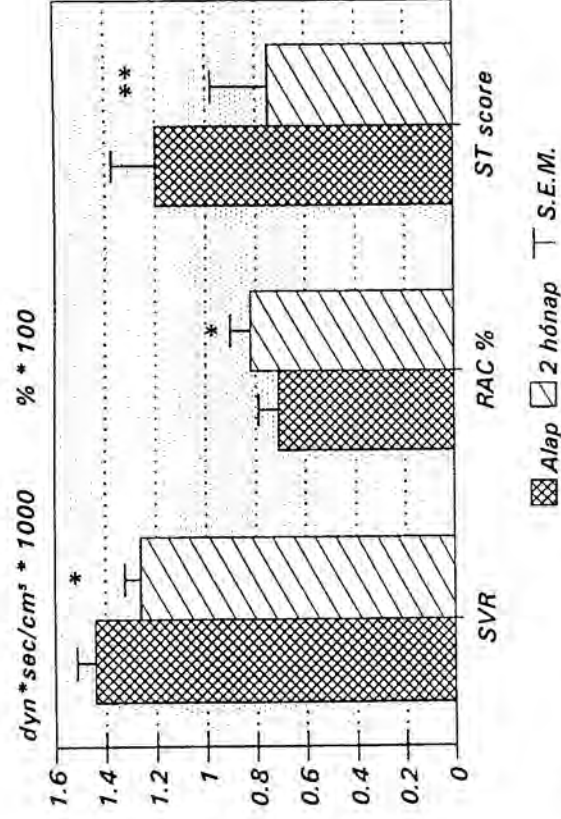
Második tanulmányunk során hasonló betegcsoportot vizsgáltunk (10 beteg, átlagéletkor: 50 ± 9 év), de az Amey R-t nagyobb dózisban (napi 5 gramm) alkalmaztuk. Az ergometriás vizsgálatot impedancia-kardiográfias monitorozással kötöttük egybe, egyébiránt a vizsgálati protokoll a korábbiakkal egyező volt. Magasabb dózisú lazacolaj kezelés során az ergometriás paraméterek szignifikánsan javultak, a reológiai paraméterek és lipidszintek is szignifikánsan csökkentek (21-23. ábra).



21. ábra: A koleszterin, triglicerid és HDL-koleszterin szint változása.



22. ábra: A plazma és teljes vér viszkozitás és a fibrinogén szintek változása.



* $p < 0.01$

** $p < 0.05$

23. ábra: A szisztémás vaszkuláris rezisztencia, RAC% és az ST score változása.

Megállapítottuk, hogy az omega-3-zsírsvav kezelés koszorúérbetegek esetén kedvezően befolyásolja a lipid illetve a hemoreológiai és hemodinamikai paramétereket. Ahhoz, hogy a fenti változások klinikailag is szignifinánsak legyenek a szert tartósan, magas dózisban kell alkalmazni.

4.2.5.2. Lovastatin

A lovastatin a HMG CoA reduktáz enzim kompetitív antagonistája, ennek megfelelően gátolja a HMG CoA mevalonsav átalakulást. Ennek eredményeképpen a máj koleszterin szintézise és epesav termelése jelentősen csökken. Ennek hatására a májsejtek LDL receptorainak száma nő és a fokozott felvétel miatt a plazma LDL szint illetve koleszterinszint csökken. Homozigóta familiáris hiperlipidémiában, amikor az LDL receptorok hiányoznak a szer kevésbé hatásos, de heterozigótákon a hatás kifejezett. A HMG CoA reduktáz gátlók a koleszterinszintet jelentős, a trigliceridszintet kisebb mértékben csökkentik. Az arterioszklerózis és az iszkémiás szívbetegség kialakulásának egyik legfontosabb rizikófaktora a hiperkoleszterinémia. Multicentrikus vizsgálatok a

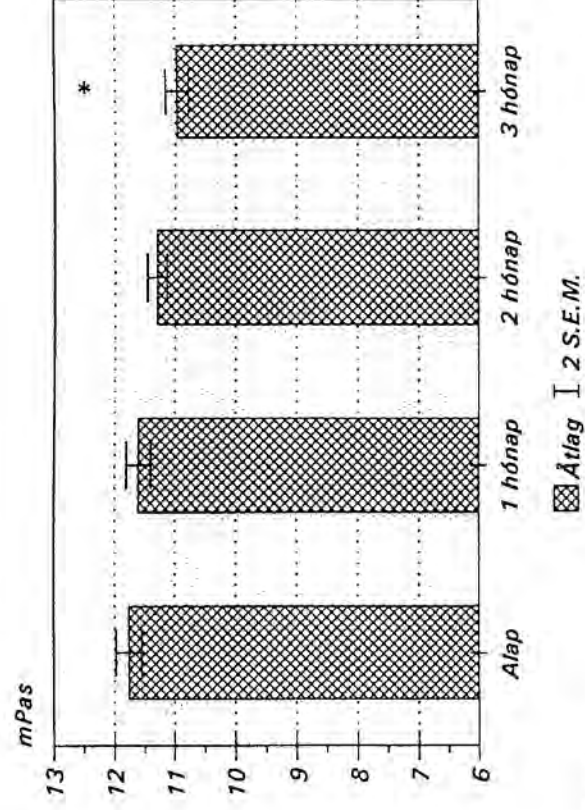
kardiovaszkuláris halálozás csökkenését mutatták ki lipidcsökkentő terápia hatására (Heinonen, 1994, Scandinavian Simvastatin Survival Group 1994, Shepherd 1995, Gotto 1999). Koronarográfiás vizsgálatokkal ennek háttérében a plakkok méretének regresszióját és stabilizálását valószínűsítették (MAAS Investigators 1994). A hiperkoleszterinémia ugyanakkor, ahogy azt koleszterinrel etetett nyulakon kimutatták, együtt jár az endothelsejtek fokozott szuperoxid anion termelésével is (Ohara 1995).

Ismert azonban, hogy a HMG-CoA redukáz gátlók nemcsak a koleszterinszintézist, hanem a fehérjék posztranszlációs modifikációjában fontos szerepet betöltő izoprén származékok termelődését is nagymértékben képesek gátolni. Ez utóbbi hatásnak köszönhetően a HMG-CoA redukáz gátlók több olyan járulékos hatással is bírnak (érfali simaizom proliferáció gátlás, szabadgyök-termelés csökkentése, gyulladáscsökkentő hatás), amelyek szintén hozzájárulhatnak kedvező kardiovaszkuláris hatásaikhoz (Corsini 1995, Czopf 1995, Halmosi 1999). A fentiek ismertetése nem meglepő, hogy a gyógyszercsoport a ISZB primer illetve szekunder prevenciójában központi szerepet tölt be.

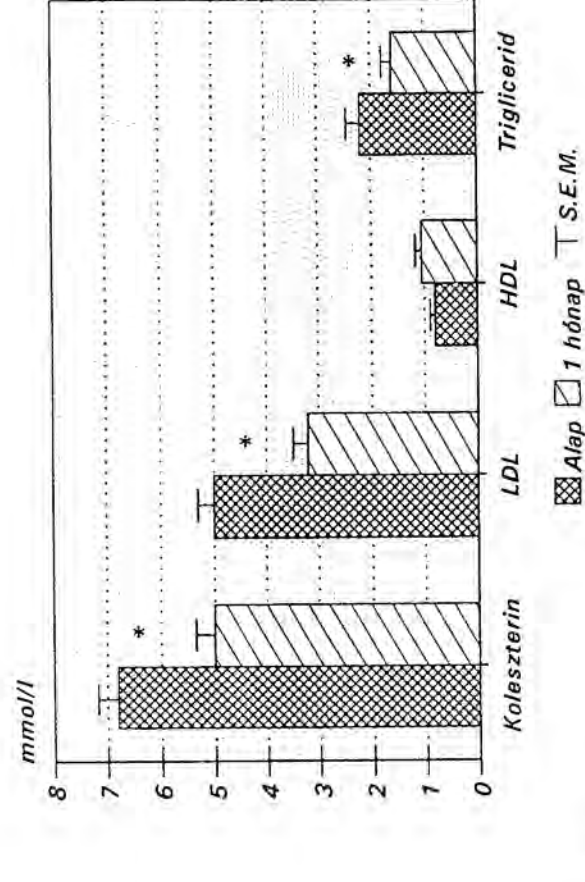
22 beteg (átlagos életkor: 56 év) három hónapon keresztül napi 20-40 mg lovastatin (Mevacor, MSD) kezelésben részesült. Alap, 1, majd 3 hónapos kezelés után határoztuk meg a betegek teljes vér és plazma viszkozitását, a fibrinogén szintet, a hematokritot, a fehér- és vörösvérsejtszámot, valamint a lipidprofil.

A lovastatin terápia a hematokritot és a fibrinogén szintet nem változtatta meg jelentősen. A plazma viszkozitás enyhén csökkenő tendenciája mellett viszont a vér viszkozitásban kismértékű, de szignifikáns (24. ábra) csökkenés volt megfigyelhető alacsony sebességgrádiens mellett mérve. A szérum összkoleszterin 28%-al, az LDL-koleszterin 36%-al, a triglicerid koncentrációja 28%-al (25. ábra) csökkent az első hónap végére és a vizsgálati periódus további részében már nem volt lényeges változás megfigyelhető. A HDL-koleszterin szintje nem változott szignifikánsan a kezelés során.

A fenti reológiai változások háttérében a szérum koleszterin szint csökkenés direkt, vagy munkacsoportunk vizsgálati alapján az azzal párhuzamosan csökkenő szabadgyök-képződésen keresztül megvalósuló indirekt hatását jelezheti (Halmosi 1999).



24. ábra: Lovastatin kezelés hatása a teljes vér viszkozitásra alacsony sebességgrádiens mellett (4.59 1/s).



25. ábra: Lovastatin kezelés hatása a lipidprofilra.

4.3. A reológiai tényezők szerepe az iszkémiás szívbetegség diagnosztikájában sokváltozós osztályozás alapján

4.3.1. Bevezetés

Az iszkémiás szívbetegség (ISZB) jelentősége a morbiditási és mortalitási statisztikák birtokában nem vitatható. A betegség diagnosztizálására számos invazív illetve nem-invazív vizsgálati lehetőség ismeretes (Gibson 1989). A rutinszerűen végzett 12 elvezetéses nyugalmi EKG mellett, a széles körben alkalmazott terheléses EKG vizsgálat jelentőségét mind a diagnosztika, mind a prognózis terén számos szerző igazolta (Bruce 1969,1980, Kesmarky 1999). Az egyes vizsgáломódszerek érzékenysége és fajlagossága azonban önmagában nem mindig kielégítő. A feldolgozásokat összevetve, a vizsgálat érzékenysége és fajlagossága jelentősen eltérő, 38-91% illetve 20-88% (Bruce 1980), ezen belül további különbségek adódnak a nemek tekintetében. Hazai vizsgálatok férfiak esetében 68%-os, nőknél 62%-os érzékenységet, valamint 89 illetve 81%-os fajlagosságot mutattak (Jánosi 1990,1992a,b). A terheléses Thallium-201 miokardium perfúziós vizsgálat érzékenysége 68-96%, fajlagossága 65-100% közötti értékeket mutat a nemzetközi irodalom tükrében (American Collage of Physicians 1990, Carillo 1978, Kotler 1990). Mindkét vizsgálatot elvégezve a fenti mutatókban további javulás érhető el. Figyelembe kell venni azt is, hogy invazivitása illetve költségessége miatt a leghatékonyabb döntéstámogató koronarográfia csak megfelelően kiválasztott betegeken végezhető el. Az egyes módszerek kombinációja hozzásegíthet a differenciál diagnosztikus nehézségek csökkentéséhez. A fenti problémák megoldásához próbáltunk közelebb jutni azáltal, hogy mellkasi panaszok miatt ISZB irányába vizsgált betegeinken több nem-invazív vizsgálóeljárást alkalmaztunk. A hemoreológiai paraméterek etiológiai szerepe bizonyítottanak tekinthető iszkémiás szívbetegségben, hiszen kóros irányba történő változásuk ronthatja a koronária keringést és ezáltal a miokardium oxigén ellátását (Dintenfass 1969, Junker 1998, Neumann 1991, Stoltz 1981, Stauer 1984, Volger 1984) ezért az eddig is rutinszerűen használt ergometriai és szívizom perfúziós vizsgálatokat farmakológiai terheléssel és a hemoreológiai paraméterek mérésével egészítettük ki (Tóth 1989, 1990a,b). Több multicentrikus nemzetközi tanulmány eredménye szerint (MONICA Project, Framingham Study) ISZB-ben ez utóbbi paraméterek általában kórosak és jól korrelálnak a betegség súlyossági fokával is (Koenig 1988, Krobot 1992, Lowe 1988), sőt önálló rizikófaktor szerepük is felvetődik (Ernst 1988a, 1990, Fuchs

1984). Eredményeinket a szokásos statisztikai módszerek mellett sokváltozós alakfelismerő eljárással (PRIMA) is értékeltük (Juricskay 1985, Tóth 1990f).

4.3.2. Betegek és módszerek

4.3.2.1. Betegek

Osztályunkon 44 (23 férfi, 21 nő) ISZB gyanújával felvett beteg vizsgálatait végeztük el, átlagélethettségük: 48 ± 8 év, közülük 8 hipertóniás, 5 hiperlipidémiás (3 II-es ill. 2 IV-es típusú), diabeteses beteg nem volt.

4.3.2.2. Ergometria

Az anamnézist illetve a fizikális vizsgálatot követően nyugalmi 12 elvezetéses EKG-t készítettünk, majd Bruce protokoll szerint többlépcsős, maximális, tüneteltartott ergometriás stressz tesztet végeztünk. Vizsgálatainkat Marquette Case 15 járószalagos rendszeren végeztük, melynek során becsültük a relatív aerob kapacitást (RAC%) értéket, elemeztük a terheléses vérnyomás és frekvencia választ, az ST szakasz változását az esetlegesen észlelhető ritmuszavarokat (Mezey 1990, Toth 1989). Az értékelés során használt score rendszert az *11. táblázatban* foglaltuk össze.

4.3.2.3. Dobutamin terheléssel végzett TI-201 szcintigráfia

Az ergometriát követő 2 héten belül 12 órája antianginás gyógyszert ill. 48 órája β -blokkolót nem szedő betegeken iv. Dobutrex (dobutamin) terheléssel egybekötött Thallium-201 miokardium perfúziós szcintigráfiát végeztünk (Manning 1988). A terhelés során emelkedő dózisban (5-10-20 mg/kg/perc) dobutamint infundáltunk intravénás kanülön keresztül. Nem kielégítő frekvencia emelkedés esetén a dózist 40 mg/kg/perc-re emeltük illetve sze. Atropint adtunk. Folyamatos EKG monitorozás mellett, terhelési szintenként, ill. panasz esetén 12 elvezetéses EKG-t készítettünk. Az ST score értékeket, valamint a vérnyomás és frekvencia választ az ergometriához hasonlóan, score rendszer segítségével értékeltük. A perfúziós vizsgálat során 2 mCi (74 MBq) Thallium-201-et adtunk iv. 10 ml

fiziológias NaCl-al beöblítve. A detektálást három projekcióból, anterior, 40 LAO, 70 LAO, 300.000 impulzus előválasztással MB 9100-es (Gamma) gammakamera segítségével végeztük. A terheléses vizsgálatot követően 3 órával (redistribúció) a felvételeket megismételtük. A Thallium vizsgálatokat is score rendszer segítségével értékeltük a statisztikai feldolgozás során, melyet a 11. táblázatban foglaltunk össze.

11. táblázat: Az értékelés során használt ST, VES ésThallium-perfusio score rendszer.

	Score
0.1 mV-ot nem meghaladó ST depresszió	0
0.2 mV-ot nem meghaladó ST depresszió	1
0.2 mV-ot meghaladó ST depresszió	2
0.1 mV-ot meghaladó ST eleváció	
VES nem észlelhető	0
VES gyakoriság < 3/min. monotop	1
VES gyakoriság > 3/min. monotop	2
Bigeminia, politop VES illetve egyéb súlyosabb formák	3
Perfúziós defektus nincs	0
Tranziens iszkémia igazolható egy régióknak megfelelően	1
Tranziens iszkémia igazolható több régióknak megfelelően	2
Állandó perfúziós defectus	

4.3.2.4. Hemoreológiai vizsgálat

A szívizom perfúziós vizsgálat előtt éhgyomorra vénás vért vettünk és meghatároztuk a rutin laboratóriumi és hemoreológiai paramétereket (htc, teljes vér és plazma viszkozitás, fibrinogén szint). A teljes vér és plazma viszkozitás méréseket Hevimet 40 kapilláris viszkoziméteren végeztük megfelelő standard körülmények között.

4.3.2.5. Echokardiográfia

Minden beteg esetében 2D, M mód ill. Doppler echokardiográfias vizsgálatot végeztünk (Picker SE51-B). Kardiomiopátia, kongenitális rendellenességek illetve billentyűbetegség észlelése esetén betegeink kizárásra kerültek a további értékelésből.

4.3.2.6. Statisztikai értékelés

A vizsgálati eredmények, elsősorban az ergometria alapján a betegeket 3 csoportba osztottuk: 1. ISZB jelen vizsgálatokkal nem igazolható (8 beteg, ergometriás score 0), 2. ISZB gyanúja (17 beteg, ergometriás score 1), 3. ISZB (19 beteg, ergometriás score 1-2). A betegek 27 vizsgálati paraméterének statisztikai értékeléséhez programcsomagot használtunk, melyet IBM-AT személyi számítógépen futtattunk. Az eredményeket középérték, SD valamint Student féle "t" próbával értékeltük.

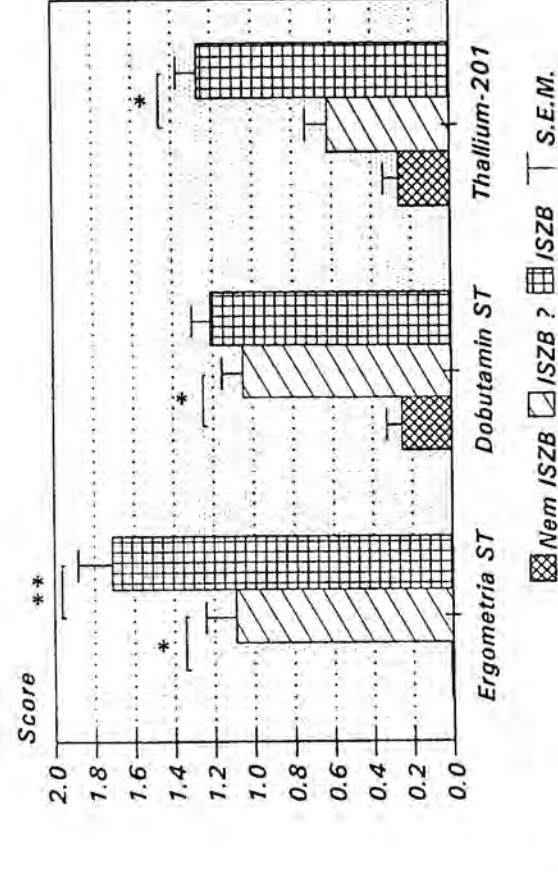
A betegeknek különböző diagnosztikus kategóriákba történő besorolására sokváltozós statisztikai módszert (PRIMA: Pattern Recognition by Independent Multicategory Analysis) alkalmaztunk. A módszer lényege, hogy a tanulási fázisban minden osztályra vonatkozóan olyan osztályjellemzőket szolgáltat, melyek a felismeréskor az egyes osztályozandó objektumok (itt a betegek) mért tulajdonságai alapján úgynevezett osztálytávolságok hozzárendelését teszik lehetővé. A számolt osztálytávolságok segítségével döntési szabály fogalmazható meg: abba az osztályba soroljuk az objektumot, melyhez legközelebb van, illetve az osztálytávolsága kisebb egy adott küszöbértéknél. A tanulási periódust követően megvizsgáltuk az input tulajdonságok osztálydefiniálásban játszott szerepét, diszkrimináló erejét. Ezek az adatok az osztályozás szempontjából releváns tulajdonságok súlyozott kiválasztását teszik lehetővé. Ezt követően elvégeztük a tananyag újraosztályozását. Az osztályozás hatékonyságát az osztályonkénti és átlagos felismerőképességgel jellemeztük, melyet az újraosztályozás során helyesen osztályozott és a valódi osztályba tartozó objektumok százalékosan kifejezett számarányával adtuk meg.

4.3.3. Eredmények

Az egyes osztályok átlagéletkor szerint gyakorlatilag homogének bizonyultak (44 ± 9 , 47 ± 7 , 50 ± 7 év). A nemek megoszlása szerint vizsgálva, az I-es (nem ISZB-s) csoportba

lényegesen több nő (6/8), míg a 3-asba (ISZB-s) több férfi (14/19) került besorolásra (Lerner 1986). Mivel a tanítási periódus során az osztályba sorolás legfőbb alapja az ergometriás vizsgálat ST score érték volt, nem meglepő, az egyes csoportok között mutatkozó szembetűnő különbség az ergometriás score értékek tekintetében. Hasonló különbségeket észleltünk a dobutamin terhelés során mért ST score értékekben is, de itt a különbség a 2-es ill. a 3-as csoport között nem volt ilyen egyértelmű. A 2. és a 3. csoport járószalagos terheléses jellemzőit a 12. táblázatban foglaltuk össze. A Thallium score értékek szerint is jól elkülönültek egymástól a csoportok, itt azonban a 2-es és a 3-as csoport esetében is statisztikailag szignifikáns különbségeket észleltünk. Az eredményeket az 26. ábrán mutatjuk be.

A hemoreológiai paramétereket vizsgálva az 1-es csoport normál tartományban lévő teljes vér és plazma viszkozitásával valamint fibrinogén szintjével szemben a 2-es csoportban enyhén, míg a 3-as csoportban jelentősen emelkedett értékeket mértünk. A 27. ábrán ezen eredmények láthatók.



* $p < 0.01$
 ** $p < 0.05$

26. ábra: Az ST és Thallium-201 szcintigráfias score értékek.

Az egyéb vizsgált paraméterek csoportonkénti átlagait összehasonlítva emelkedő, de még normál tartományon belüli htc és hgb értékeket észleltünk. Hasonló módon változtak a

Broca index értékei is ugyanezt észleltük a koleszterin illetve triglicerid szintek esetén is azzal a különbséggel, hogy a 2-es és 3-as csoportban ezen paraméterek már kórosan magasak voltak. Összehasonlítva az 1-es csoportot a 2-es és 3-assal, az ergometria során magasabb szisztolés és diasztolés vérnyomás értékeket észleltünk az utóbbi két csoportban. A különbség a szisztolés értékekben volt statisztikailag szignifikáns. A Dobutrex terhelés során mért szisztolés és diasztolés vérnyomás értékeiben érdemi különbséget nem észleltünk. A 2-es és a 3-as csoport között az ergometriás ST és Thallium score, valamint a teljes vér viszkozitás illetve a már említett férfi nem gyakorisága tekintetében észleltünk szignifikáns különbségeket.

12. táblázat: A 2. és a 3. csoport ergometriás, valamint a 3. csoport koronarográfiás vizsgálatainak jellemzői.

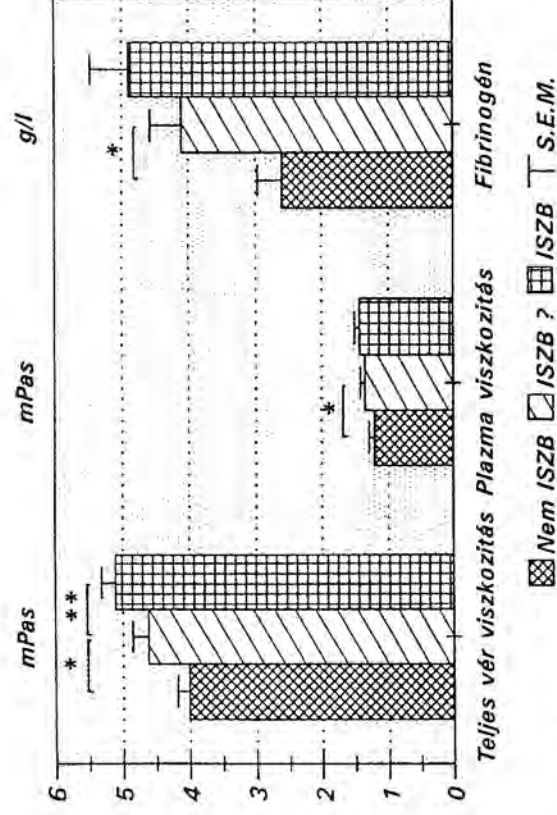
	2. csoport	3. csoport
Terheléses vizsgálat		
Terhelési idő (perc)	7.9 ± 2.6	7.5 ± 1.6
Terhelési szint	3.3 ± 0.9	2.8 ± 0.5
ST/HR score	3.1 ± 0.9**	5.6 ± 2.5
ST 0.1 mV (perc)	5.7 ± 2.3*	3.6 ± 1.8
Terhelési szint 0.1 mV	2.3 ± 0.6**	1.5 ± 0.5
Koronarográfia		
Negativ		2
Miokardiális izomhíd		1
Egy-ér		7
Kettő-ér		3
Főtörzs/Három-ér		6

PRIMA módszerrel történő értékelés során a tanítási periódust követően elvégeztük a betegek újraosztályozását, melynek során az osztályonkénti átlagos felismerőképesség 95%-osnak bizonyult. Ezt követően a betegeket időrendi sorrendben két csoportra osztva, 19

beteg paraméterei képezték a tanítás alapját. Ezen betegek eredményei alapján osztályoztuk újra az időrendileg második csoportba került 25 betegünket, melynek során a program osztályonkénti becslőképessége 76%-nak bizonyult. A 3-as illetve az 1-es csoport tekintetében tévedés nem volt. A fenti statisztikai módszert alkalmazva az osztályok jól elkülönültek egymástól. Az eredő osztálytávolságok értékeit a 28. ábrán foglaltuk össze.

Az egyes csoportok elkülönítésénél illetve az osztály-definiálásban leginkább releváns paramétereket a 13-15. táblázatban mutatjuk be.

Természetesen törekedtünk eredményeink validálására is, így a 3-as csoportban minden betegnél megtörtént a koronarográfiás vizsgálat, melynek eredményeit a 12. táblázatban foglaltuk össze.

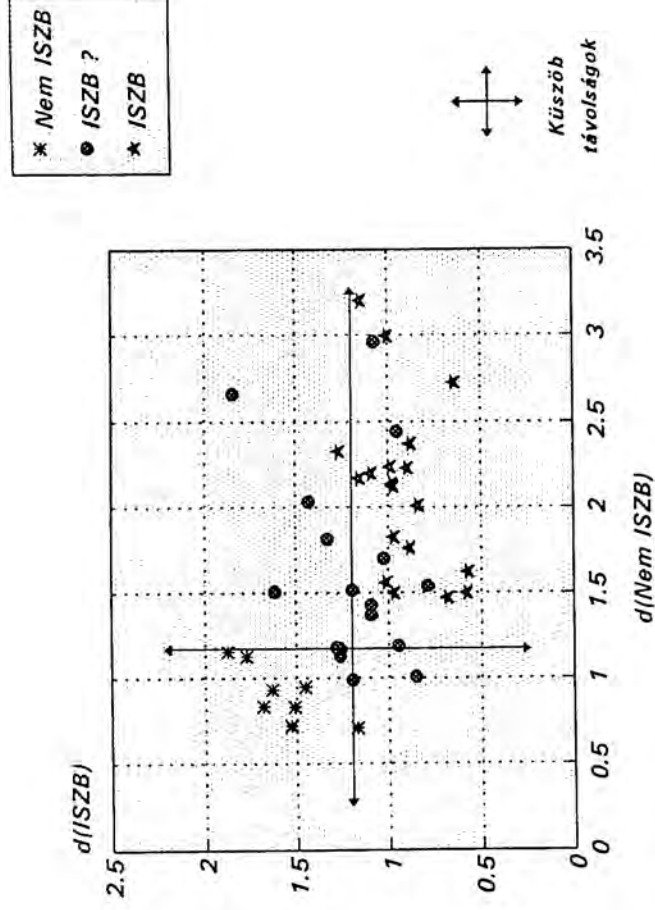


* $p < 0.01$
 ** $p < 0.05$

27. ábra: A teljes vér és plazma viszkozitások és a fibrinogén szintek.

4.3.4. Megbeszélés

Vizsgálataink során az ISZB diagnosztikájában általánosan használt eljárásokat továbbiakkal egészítettük ki, melyek közül kiemelnénk a rutinszerűen nem vizsgált hemoreológiai paraméterek figyelemre méltó változását. A betegek csoportosításánál az egyes vizsgálatok önálló értékelése mellett a döntéstámogatásban sikerrel használtuk a PRIMA sokváltozós statisztikai módszert.



28. ábra: A nem ISZB-ISZB csoportok osztálytávolságának értékei (n=44).

13. táblázat: A diszkriminációs erők sorrendje az 1.-2. csoport között.

Tulajdonság	Diszkriminációs koefficiens
1. Ergometria ST score	2.25
2. Plazma viszkozitás	1.62
3. Fibrinogén szint	1.44
4. Dobutamin ST score	1.42
5. Teljes vér viszkozitás	1.21
6. Ergometria szisztolés vényomás	1.18
7. Ergometria Robinson index	0.74
8. Nem	0.66
9. Thallium score	0.65
10. Hematokrit	0.62

14. táblázat: A diszkriminációs erők sorrendje az 1.-3. csoport között.

	Tulajdonság	Diszkriminációs koefficiens
1.	Ergometria ST score	3.15
2.	Fibrinogén szint	2.28
3.	Teljes vér viszkozitás	2.23
4.	Plazma viszkozitás	2.21
5.	Dobutamin ST score	2.15
6.	Thallium score	1.75
7.	Nem	1.72
8.	Ergometria szisztolés vényomás	1.14
9.	Hematokrit	0.78
10.	Broca index	0.71

15. táblázat: A diszkriminációs erők sorrendje az 2.-3. csoport között.

	Tulajdonság	Diszkriminációs koefficiens
1.	Thallium score	1.19
2.	Ergometria ST score	1.11
3.	Teljes vér viszkozitás	0.88
4.	Nem	0.82
5.	Haemoglobin szint	0.69
6.	Plazma viszkozitás	0.67
7.	Fibrinogén szint	0.53
8.	Dobutamin frekvencia	0.44
9.	Életkor	0.38
10.	Hematokrit	0.37

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgálataink során különböző gyógyszerhatásokat és reológiai változásokat tanulmányoztunk in-vivo és ex-vivo állatkísérletes modelleken, in vitro és kardiológiai betegeken.

1./ Megállapítottuk, hogy két hetes AZT kezelés megnövelte a ROI képződést, amely ún. „single-strand” DNS törést, lipid peroxidációt és protein oxidációt indukált.

A „single-strand” DNS törések aktiválják a nukleáris PARP-t, mely enzim NAD^+ -ot használ szubsztrátként a poli-ADP-ribóz képződéshez. Kísérleti körülményeink között az AZT kezelés hatására erősen csökkent NAD^+ -szintet mértünk, ugyanakkor a nukleáris PARP enzim (116 kDa) fokozott ADP-ribozilációját találtuk, azonban a szívizom ATP tartalma normális maradt. Ez azzal magyarázható, hogy a súlyosan károsodott mitokondriumok funkcióját az ép mitokondriumok képesek kompenzálni. Az ADP elérhetőség limitáló faktor a mitokondriális ATP képződésben, ezért az általunk mért erősen emelkedett ADP-szint aktiválhatja az ATP szintézist az épen maradt mitokondriumokban.

Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy a rövid ideig tartó AZT kezelés nem a mtDNS deplécióján keresztül fejt ki károsító hatását a szívizomban (illetve feltehetőleg egyéb szövetekben is), hanem fokozott ROI képződést indukálva a mitokondriumban káros folyamatok sorát indítja el. Ugyanakkor felveti az AZT kezeléssel egyidejűleg alkalmazott antioxidánsok lehetséges pozitív hatását is.

2./ Vizsgáltuk carvedilol hatását a celluláris illetve molekuláris mechanizmusokra patkányszíven, Langendorff perfúzió során. A szabadgyökök és metabolitjaik fontos szereppel bírnak a reperfüziós károsodás kiváltásában. Oxidatív károsodás során a mono- és poli-ADP-riboziláció, a különböző DNS törések (köztük a „single-strand” DNS törés) fokozódnak. A PARP aktiválódása fontos szerepet játszik a NAD^+ szint csökkenésben, mely jelentős hatással van a mitokondriális energia metabolizmusra, ezáltal sejthalálhoz vezethet. Az iszkémia/reoxigenizáció okozta sejtkárosodás csökkenthető a PARP gátlásával.

Megállapítottuk, hogy a patkány szívizomsejtek nukleáris poli-ADP-ribóz polimeráz aktivitásának fokozódását carvedilol kezeléssel csökkentette, melynek háttérében az

alacsonyabb ROI szint és ennek megfelelően a single-strand DNS törések kivédése állhatott. Az alacsonyabb ROI szint magyarázhatja a posztisztkémiai sejtkárosodás csökkenését. Kísérleti körülményeink között a carvedilol kezelés jelentősen csökkentette a lipidperoxidációt, ezáltal a malondialdehid termelést is. Iszkémia/reperfúzió membránkárosodáshoz vezetett, jelentősen növelte a citoplazmatikus enzim-felszabadulást, melyet a carvedilol részlegesen kivédett.

A protektív hatások hátterében a ROI szint csökkenése mellett csökkent ADP-riboziláció állhat, mely a carvedilol direkt és indirekt hatása is lehet. Poli-ADP-ribóz polimerázt patkánymájából izolálva, majd carvedilol-al kezelve, feltételezhető volt a szer direkt PARP gátló hatása is, melyre irodalmi adatok eddig nem utaltak.

3./ In vitro reológiai modellen tanulmányoztuk a szabadgyök generátor phenazin methosulphate (PMS) vörösvértest károsító hatását illetve a károsodás kivédésének lehetőségét.

Megállapítottuk, hogy pentoxiphyllin illetve carvedilol részlegesen képes kivédeni a PMS (ill. szabadgyökök) által indukált vvt membránkárosodást, ezáltal a vvt-k strukturális illetve mechanikai jellemzői javulnak, mely a vvt szuszpenzió viszkozitásának csökkenésében nyilvánul meg.

4./ Intravénás enoximon (Perfan) hatását vizsgáltuk a hemodinamikai paraméterek változására jelentősen csökkent szisztolés funkciójú refrakter szívelégtelenségben szenvedő iszkémiás és nem iszkémiás dilatatív kardiomiopátiás betegeken.

Vizsgálatunk során megállapítottuk, hogy 30 perc alatt iv. adott 1 mg/tskg enoximon hatására a hemodinamikai paraméterek, a balkamra szisztolés és diasztolés funkciója szignifikánsan javulnak. A kedvező hatások részben a szer adását követően 24 órával is fennmaradnak. Komolyabb mellékhatást a vizsgálat során nem észleltünk, a betegek a kezelést jól tolerálták, ennek megfelelően megállapítottuk, hogy refrakter szívelégtelenség esetén a rövidtávú intermittáló PDE-III gátló kezelésnek szerepe lehet a terápiában.

5./ Iszkémiás szívbetegségben szenvedő betegek 1 hónapos isosorbid-5-mononitrát kezelése során szignifikáns teljes vér viszkozitás csökkenést észleltünk, az ergometria során mért maximális illetve a szummált ST depresszió értéke csökkent, a betegek terhelési toleranciája (RAC%) nőtt. Az ergometriás paraméterek kedvező irányú változása a hatodik

hónap végén is kimutatható volt, de a teljes vér viszkozitás csökkenés már nem volt szignifikáns. Ennek hátterében felmerül a nitrát tolerancia illetve a vénás pool növekedése miatti kezdeti autohemodilúció jelenségének csökkenése.

6./ Esszenciális hipertóniás betegek alfa blokkoló (doxazosin) kezelése során a 12 hetes periódus végén az alaphatás, (szisztémás vaszkuláris rezisztencia illetve vérnyomás csökkenés) és a kedvező metabolikus változások mellett a reológiai paraméterek szignifikáns javulását is észleltük.

Vizsgálataink arra utalnak, hogy a hemoreológiai faktorok a hipertóniás célszervkárosodás kialakulásában szerepet játszhatnak. A hipertónia gyógyszeres kezelése során a metabolikus illetve reológiai változásokat is figyelemmel kell követni.

7./ Hiperlipidémiás betegekben omega-3-zsírsvad adását követően a koleszterin illetve triglicerid szintek kedvező irányban történő változásával párhuzamosan plazma- és teljes vér viszkozitás csökkenést is mértünk.

Megállapítottuk, hogy a fenti szerek alaphatásuk mellett kedvező primer illetve szekunder hemoreológiai hatásokkal is rendelkeznek, melyek eléréséhez a szert magas dózisban (napi 5 gramm) kell adni.

8./ Hiperlipidémiás betegek lovastatin terápiaja során a szérumban a koleszterin, az LDL-koleszterin, triglicerid illetve a teljes vér viszkozitás szignifikáns csökkenését észleltük, alacsony sebességgrádiensű viszkozimetria során. A fenti reológiai változások hátterében a direkt lipidprofil változás illetve az azzal párhuzamosan csökkenő szabadgyök-képződés állhat.

9./ Vizsgálataink során az ISZB diagnosztikájában általánosan használt eljárásokat továbbiakkal egészítettük ki. Kiemelnénk a rutinszerűen nem vizsgált hemoreológiai paraméterek figyelemre méltó változását, mely a koszorúér betegség súlyosságával korrelált és a betegcsoportok elkülönítésében erős diszkriminatív erővel bírt. A betegek csoportosításánál az egyes vizsgálatok önálló értékelése mellett a döntéstámogatásban sikerrel használtuk a PRIMA sokváltozós statisztikai módszert.

6. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACE	- angiotenzin konvertáló enzim
ATP	- adenzin trifoszfát
AZT	- 3'-azido-3'-deoxythimidine, zidovudine
cAMP	- ciklikus adenzin monofoszfát
CI	- percvolumen index
CK	- kreatin kináz
CO	- percvolumen
DCM	- dilatatív kardiomiopátia
DHR	- dihidrorhodamin123
ECL	- „enhanced chemiluminescence”
EDTA	- etilén diamin tetraacetát
EF	- ejekciós frakció
EKG	- elektrokardiogram
FS	- frakcionális roströvidülés
Fvs	- fehérvérsejt
GOT	- glutamát oxaloacetát dehidrogenáz
GRP78	- „glucose regulated protein”
GSH	- redukált glutation
GSSG	- oxidált glutation
H2DCFDA	- dikloro-dihidro-fluoreszcein-diacetát
HIV	- humán immundeficiencia vírus
HMG CoA	- béta-hidroxi-béta-metil glutaril coenzim A
HPLC	- „high pessage liquid chromatography”
HSP	- „heat shock protein”
htc	- hematokrit
hgb	- hemoglobin
IKG	- impedancia-kardiográfia
ISZB	- iszkémiás szívbetegség
IVR	- izovolumetriás relaxáció
LDH	- laktát dehidrogenáz
LDL	- „low-density lipoprotein”

LPO - lipidperoxidáció
MDA - malondialdehid
MOPS puffer - „3-[N-morpholino] propane-sulphuronic acid”
mtDNS - mitokondriális DNS
NAD⁺ - nikotinamid adenin dinukleotid
NO - nitrogén monoxid
NYHA - „New York Heart Association osztályozás”
PARP - poli-ADP-ribóz polimeráz
PBS - „phosphate buffered saline”
PDEI - foszfodiészteráz gátló
PMS - „phenazine methosulphate”
PRIMA - „Pattern Recognition by Independent Multicategory Analysis”
PTCA - perkután transluminális koronária angioplasztika
PUFA – többszörösen telítetlen zsírsav
RAC - relatív aerob kapacitás
RCG - radiocirculográfia
ROI - reaktív oxigén intermedier
ROS - reaktív oxigén species
S.E.M. - „standard error of the mean”
SOD - szuperoxid dizmutáz
SV - verővolumen
TBARS - „thiobarbituric acid.reactive substances”
VLDL - „very low-density lipoprotein”
vvt - vörösvértest

7. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

Könyvfejezet:

Kesmarky, G., Toth, K., Vajda, G., Habon, L., Halmosi, R., Habon, T., Endrei, D.: Hemorheological alterations after percutaneous transluminal coronary angioplasty. In: Cardiovascular Flow Modelling and Measurement with Application to Clinical Medicine, Oxford Press, under press, 1999.

Közlemények:

1./ Tóth K., Ernst E., Mezey B., Habon T., Juricskay I., Jávor T.: Omega-3-zsírsavak haemorheológiai hatásai ischaemiás szívbetegségben és hyperlipidaemiában. Magyar Belorv. Arch., 43: 333-337, 1990.

2./ Habon T., Tóth K., Juricskay I., Zámbo K., Mezey B.: Ergometriai, haemorheológiai és szívizom-perfusios vizsgálatok értékelése sokváltozós alakfelismerő módszerrel ischaemiás szívbetegekben. Orv. Hetilap, 135: 1357-1361, 1994.

3./ Toth, K., Habon, T., Horvath, I., Mezey, B., Juricskay, I., Mozsik, G.: Hemorheological and hemodynamical parameters in patients with ischemic heart disease at rest and at peak exercise. Clin. Hemorheol., 14: 329-338, 1994.

4./ Toth, K., Ernst, E., Habon, T., Horvath, I., Juricskay, I., Mozsik, G.: Hemorheological and hemodynamical effects of fish oil (Ameu) in patients with ischemic heart disease and hyperlipoproteinemia. Clin. Hemorheol., 15: 867-875, 1995.

5./ Sárosi I., Debreceni G., Mühl D., Kónyi A., Bogár L., Tekeres M., Tóth K., Habon T., Czopf L., Zámbo K., Schmidt E.: A verapamil és a bisoprolol összehasonlító vizsgálata szívinfarktuson átesett betegek szekunder prevenciójában. Orv. Hetilap, 138: 1939-1945, 1997.

6./ Habon, T., Toth, K., Keltai, M., Lengyel, M., Palik, I.: An Adult Case of Kawasaki Disease with Multiplex Coronary Aneurysms and Myocardial Infarction: The Role of Transoesophageal Echocardiography. *Clin. Cardiol.* 21: 529-532, 1998.

7./ Szabados, E., Fischer, G. M., Toth, K., Csete, B., Nemeti, B., Trombitas, K., Habon, T., Endrei, D., Sumegi, B.: Role of reactive oxygen species and poly-ADP-ribose polymerase in the development of AZT-induced cardiomyopathy in rat. *Free Radic. Biol. Med.*, 26: 309-317, 1999.

8./ Tóth K., Tóth A., Márton Z., Czopf L., Késmárky G., Halmosi R., Habon T., Juricskay I., Mózsik G.: A terheléses EKG vizsgálat során bekövetkező QRS amplitúdó változások értékelése ischaemiás szívbetegségben. *Magyar Belorv. Arch., nyomtatás alatt, 1999.*

9./ Toth, A., Marton, Z., Czopf, L., Kesmarky, G., Halmosi, R., Juricskay, I., Habon, T., Toth, K.: QRS score: a composite index of exercise-induced changes in the Q-, R- and S-waves during exercise stress testing in patients with ischemic heart disease. *European Heart J.*, under publication.

10./ Habon T., Szabados E., Késmárky G., Halmosi R., Past T., Tóth K., Sümegi B.: Carvedilol antioxidáns hatásának vizsgálata ischaemia-reperfusio és vörösvértest membrán károsodás során. *Acta Pharm. Hung., közlés alatt.*

11./ Habon, T., Szabados, E., Kesmarky, G., Halmosi, R., Toth, K., Sumegi, B. The effect of carvedilol on enhanced ADP-ribosylation and red blood cell membrane damage caused by free radicals. *Free Radic. Biol. Med.*, under publication.

Folyóiratban megjelent előadáskivonatok:

1./ Toth, K., Ernst, E., Habon, T., Mezey, B., Juricskay, I.: Hemorheological effects of omega-3-fatty acids (Ameu) in patients with ischemic heart disease and hyperlipoproteinemia. *Perfusion*, 4: 448, 1991.

- 2./ Habon, T., Toth, K., Mezey, B., Juricskay, I., Javor, T.: Hemorheological, ergometric and cardiac perfusion studies and their analysis in ischemic heart disease. Clin. Hemorheol., 11: 803, 1991.
- 3./ Toth, K., Habon, T., Horvath, I., Mezey, B., Juricskay, I., Ernst, E.: Hemorheological and hemodynamic effects of omega-3-fatty acids (Ameu) in patients with ischemic heart disease. Clin. Hemorheol., 13: 390, 1993.
- 4./ Toth, K., Habon, T., Horvath, I., Mezey, B., Juricskay, I.: Hemorheological and hemodynamic parameters in patients with ischemic heart disease at rest and during exercise stress test. Clin. Hemorheol., 13: 391, 1993.
- 5./ Habon T., Tóth K., Mezey B., Horváth I., Burger É., Juricskay I.: Enoximone haemodinamikai hatásának vizsgálata non invasiv módszerekkel congestiv szívelégtelenségben. Magyar Kardiológusok Társasága 1993. évi Tudományos Kongresszusa, Balatonfüred. Card. Hung., Abstracts: 34, 1993.
- 6./ Habon, T., Toth, K., Wittmann, I., Past, T., Juricskay, I.: The protective effect of pentoxifylline on the free radical induced red blood cell membrane damage. Clin. Hemorheol., 13: 316, 1993.
- 7./ Mezey B., Tóth K., Habon T., Keller J., Csere P.: Postinfarctusos betegek követéses vizsgálata ergometriával és impedancia kardiográfiával. Magyar Kardiológusok Társasága 1994. évi Tudományos Kongresszusa, Balatonfüred. Card. Hung., Abstracts: 9, 1994.
- 8./ Habon, T., Toth, K., Juricskay, I.: The possible role of hemorheological parameters in the diagnostics of ischemic heart disease. Biorheology, 32: 117, 1995.
- 9./ Toth, K., Habon, T., Czopf, L., Endrei, D., Juricskay, I., Mozsik, G.: The hemorheologic and hemodynamic effects of Olicard Retard (isosorbide-5-mononitrate) in patients with ischemic heart disease. Clin. Hemorheol., 15: 474, 1995.

- 10./ Sümege B., Tóth K., Habon T., Endrei D., Juricskay I.: Zidovudin indukálta kísérletes cardiomyopathia patkányokon. Magyar Kardiológusok Társasága 1995. évi Tudományos Kongresszusa, Balatonfüred. Card. Hung., Abstracts: 43, 1995.
- 11./ Czopf, L., Toth, K., Habon, T., Endrei, D., Mozsik, G., Roth, E.: The effect of isosorbide-5-mononitrate on the production and metabolism of reactive oxygen species and rheological parameters in patients with ischemic heart disease. Clin. Hemorheol., 15: 475, 1995.
- 12./ Habon T., Tóth K, Skorán O, Keltai M, Lengyel M., Palik I.: Multiplex coronaria aneurysmák - Kawasaki betegség myocardialis infarctussal szövődött felnőttkori esete. Magyar Kardiológusok Társasága 1996. évi Tudományos Kongresszusa, Balatonfüred. Card. Hung., Abstract: 82, 1996.
- 13./ Habon. T., Sümege, B., Tóth, K, Németi, B., Trombitás, K., Endrei, D.: Zidovudine induced cardiomyopathy in rat. First International Symposium on Myocardial Cytoprotection, Pecs, Hungary. Card. Hung., Suppl. 97/2, Abstract: 45, 1996.
- 14./ Toth, K., Habon, T., Juricskay, I., Meiselman, H. J.: The role of hemorheological factors in the pathogenesis of ischemic heart disease. First International Symposium on Myocardial Cytoprotection, Pecs, Hungary, . Card. Hung., Suppl. 97/2, Abstract: 32, 1996.
- 15./ Sarosi, I., Muhl, D., Konyi, A., Debreceni, G., Bogar, L., Tekeres, M., Toth, K., Habon, T., Czopf, L., Zambo, K., Schmidt E.: Comparative assessment of verapamil and bisoprolol in the secondary prevention of myocardial infarction. Cardiovascular Drugs and Therapy, 11, Suppl.2: 384, 1997.
- 16./ Habon T., Szabados E., Késmárky G., Past T., Tóth K., Sümege B.: Carvedilol antioxidans hatásának vizsgálata ischaemia-reperfusio és vörösvértest membrán károsodás során. Magyar Kardiológusok Társasága 1998. évi Tudományos Kongresszusa, Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 98/1: 77, 1998.

- 17./ Tóth K., Késmárky G., Vékási J., Nemes J., Czopf L., Habon T., Kapronczay P., Halmosi R., Juricskay I., Mózsik G.: Haemorheológiai és haemodinamikai paraméterek vizsgálata és azok változása alfa-1 receptor blokkoló kezelés hatására essentialis hypertoniában. *Hypertonia és Nephrologia Suppl.* 2/5: 237, 1998.
- 18./ Késmárky G., Vajda G., Habon L., Márton Z., Halmosi R., Habon T., Juricskay I., Tóth K.: A plazma fibrinogén szint haemorheológiai jelentősége koszorúérbetegségben. *Magyar Kardiológusok Társasága 1999. évi Tudományos Kongresszusa, Balatonfüred.* Card. Hung., Suppl. 99/2: 66, 1999.
- 19./ Szabados E., Literáti Nagy P., Sümegei B., Habon T., Tóth K.: A BGP15 cardioprotectiv hatásának vizsgálata az ischaemia-reperfusio okozta sejtkárosodásokban.: *Magyar Kardiológusok Társasága 1999. évi Tudományos Kongresszusa, Balatonfüred.* Card. Hung., Suppl. 99/2: 32, 1999.
- 20./ Habon T., Szabados E., Késmárky G., Past T., Tóth K., Sümegei B., Mózsik G.: Carvedilol celluláris és rheológiai hatásainak vizsgálata ischaemia-reperfusio és vörösvértest membrán károsodás során. XLVI. Dunántúli Belgyógyász Vándorgyűlés, Alsópáhok. *Magyar Belorv. Arch. Suppl.*, 1: 16, 1999.
- 21./ Kesmarky, G., Toth, A., Marton, Z., Czopf, L., Halmosi, R., Juricskay, I., Habon, T., Toth, K.: QRS score: a composite index of exercise-induced changes in the Q-, R- and S-waves during exercise stress testing in patients with ischemic heart disease. *Eur. Heart J.*, 1999.
- 22./ Toth, K., Kesmarky, G., Marton, Z., Habon T., Habon, L., Vajda, G., Juricskay, I.: Hemorheological changes in different forms of myocardial ischemia. *Biorheol.*, 36: 25, 1999.
- 23./ Kesmarky, G., Halmosi, R., Marton, Z., Vajda, G., Habon, L., Habon, T., Roth, E., Toth, K., Mozsik, G.: Blood rheology and oxidative stress in percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Biorheol.*, 36: 26, 1999.
- 24./ Habon, T., Kesmarky, G., Szabados E., Halmosi, R., Sumegi, B., Toth, K.: The effect of carvedilol on red blood cell membrane damage and ADP-ribosylation caused by free radicals. *Biorheol.*, 36: 51, 1999.

Előadáskivonatok:

- 1./ Toth, K., Ernst, E., Mezey, B., Juricskay, I., Habon, T., Javor, T.: Omega-3-fatty acids in the treatment of patients with ischemic heart disease and hyperlipoproteinemia. International Congress on Triglycerides, Vienna, Austria. Abstracts: P-38, 1990.
- 2./ Habon T., Tóth K., Mezey B., Juricskay I., Zámbo K., Nemessányi Z., Jávor T.: Ergometriai, haemorheológiai és szívizom-perfusios vizsgálatok értékelése sokváltozós alakfelismerő módszerrel ischaemiás szívbetegeken. Magyar Kardiológusok Társasága 1991. évi Tudományos Ülése, Balatonfüred. Abstracts: 128, 1991.
- 3./ Habon T., Tóth K., Past T., Wittmann I., Juricskay I., Jávor T.: Pentoxifyllin kedvező hatása a szabad gyök generálta vvt membrán károsodásra haemorheológiai modellen - Az antiischaemiás hatás lehetséges mechanizmusa? Magyar Kardiológusok Társasága 1992. évi Tudományos Ülése, 7-9., Balatonfüred. Abstracts: 126, 1992.
- 4./ Tóth K., Mezey B., Juricskay I., Habon T., Jávor T.: Haemorheológiai faktorok kóroki szerepe ischaemiás szívbetegségben. Magyar Kardiológusok Társasága 1992. évi Tudományos Ülése, Balatonfüred. Abstracts: 75, 1992.
- 5./ Tóth K., Jáni M., Horváth I., Habon T., Juricskay I., Mózsik G.: Olicard Retard (Isosorbid-5-Mononitrát) haemodinamikai és haemorheológiai hatásainak vizsgálata. Az Impedancia Kardiográfia alkalmazási lehetőségei, Dombóvár. Abstracts: 26, 1993.
- 6./ Tóth K., Habon T., Horváth I., Mezey B., Juricskay I., Mózsik G.: Haemodinamikai és haemorheológiai paraméterek ischaemiás szívbetegségben. Az Impedancia Kardiográfia alkalmazási lehetőségei, Dombóvár. Abstracts: 35, 1993.
- 7./ Habon T., Tóth K., Juricskay I., Zámbo K., Mezey B., Mózsik G.: Ergometriai, haemorheológiai és szívizom-perfusios vizsgálatok értékelése sokváltozós alakfelismerő módszerrel ischaemiás szívbetegekben. VIII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, Balatonkenese. Abstracts: 88, 1994.

- 8./ Tóth K., Habon T., Horváth I., Mezey B., Juricskay I., Mózsik G.: Haemorheológiai és haemodinamikai paraméterek vizsgálata ischaemiás szívbetegségben. VIII. Magyar Klinikai Hemoreológiai Kongresszus, Balatonkenese. Abstracts: 89, 1994.
- 9./ Czopf, L., Toth, K., Habon, T., Endrei, D., Mózsik, Gy., Roth, E.: The effect of isosorbide-5-mononitrate on the production and metabolism of reactive oxygen species and rheological parameters in patients with ischemic heart disease. XV. Kísérletes Sebész Kongresszus, Pécs, Abstracts: 96, 1995.
10. Habon, T., Toth, K., Skoran, O., Keltai, M., Lengyel, M., Palik, I.: Multiplex coronary aneurysm - An adult case of Kawasaki disease with myocardial infarction. 3rd International Congress of the WHMA, Pecs, Hungary, Abstracts, 1996.
- 11./ Czopf, L., Toth, K., Habon, T., Halmosi, R., Roth, E.: The effect of lovastatin on the production and metabolism of reactive oxygen species and on rheological parameters in patients with hyperlipoproteinemia. 3rd International Congress of the WHMA, Pecs, Hungary, Abstracts, 1996.
- 12./ Kesmarky, G., Toth, K., Vajda, G., Habon, L., Halmosi, R., Habon, T., Endrei, D.: Hemorheological alterations after percutaneous transluminal coronary angioplasty. Cardiovascular Flow Modelling and Measurement with Application to Clinical Medicine, Salford, UK, Abstract book, 1998.
- 13./ Habon T., Tóth K., Szabados E., Készmárky G., Halmosi R., Past T.: Cardiovascularis támadáspontú gyógyszerek rheológiai hatásai. I. Magyar Interdiszciplináris Konferencia az Agy, a Szív és a Végtagok Mikrokeringéséről, Balatonkenese, Abstract book: 23, 1998.
- 14./ Készmárky G., Tóth K., Halmosi R., Habon T., Vajda G., Habon L.: Coronaria interventiók hatása a vér rheológiai tulajdonságaira. I. Magyar Interdiszciplináris Konferencia az Agy, a Szív és a Végtagok Mikrokeringéséről, Balatonkenese, Abstract book: 24, 1998.
- 15./ Habon, T., Szabados, E., Kesmarky, G., Halmosi, R., Past, T., Toth, K., Sumegi, B.: The antioxidant and rheological effect of carvedilol. 2nd International Symposium on Myocardial Cytprotection, Pecs, Hungary. Abstract book: 11, 1998.

16./ Toth, K., Kesmarky, G., Habon, L., Vajda, G., Habon, T., Juricskay, I., Mozsik, G.: Hemorheology and hemodynamics: a complex approach to the coronary circulation. 2nd International Symposium on Myocardial Cytoprotection, Pecs, Hungary. Abstract book: 51, 1998.

17./ Kesmarky, G., Toth, K., Vajda, G., Habon, L., Halmosi, R., Habon, T., Roth, E., Lantos, J., Mozsik, G.: Examination of oxidative stress after coronary angioplasty. 2nd International Symposium on Myocardial Cytoprotection, Pecs, Hungary. Abstract book: 21, 1998.

18./ Halmosi, R., Czopf, L., Kesmarky, G., Habon, T., Toth, K., Juricskay, I., Roth, E., Lantos, J., Mozsik, G.: The effect of lovastatin and nitrate on free radical mediated processes in patients with ischemic heart disease. 2nd International Symposium on Myocardial Cytoprotection, Pecs, Hungary. Abstract book: 12, 1998.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- Aarts, P. A. M. M., Heuvelmans, J. H. A., Goslinga, H.: Blood viscosity evaluation by regression analysis to differentiate for hematocrit. *Clin. Hemorheol.*, 9: 583-592, 1989.
- Ajmani, R. S.: Hypertension and hemorheology. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 17: 397-320, 1997.
- American College of Physicians: Efficacy of Exercise Thallium-201 Scintigraphy in the Diagnosis and Prognosis of Coronary Artery Disease. *Ann. Intern. Med.*, 113: 703, 1990.
- Annapurna, V., Puniyani, R. R., Gupte, R. V.: Red cell deformability and erythrocyte lipids in hypertension. *Clin. Hemorheol.*, 10: 95-101, 1990.
- Ascherio, A., Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Giovannucci, E. L., Willett, W. C.: Dietary intake of marine n-3 fatty acids, fish intake, and the risk of coronary disease among men. *N. Engl. J. Med.*, 13:332(15): 977-982, 1995.
- Bachinski, L. L., Roberts, R.: New Theories: Etiologies of DCM. *Cardiology Clinics*, 16(4): 603-610, 1998.
- Bagge, U.: Granulocyte rheology. *Blood Cells*, 2: 481-490, 1976.
- Ball, A. M., Sole, M. J.: Oxidative stress and the pathogenesis of heart failure. *Cardiology Clinics*, 16(4): 665-675, 1998.
- Bao, D. Q., Mori, T. A., Burke, V., Puddey, I. B., Beilin, L. J.: Effects of dietary fish and weight reduction on ambulatory blood pressure in overweight hypertensives. *Hypertension*, 32(4): 710-717, 1998.
- Bartoli, V., Pasquini, G., Albanese, B., Morini, R., Manescalchi, P.G. and Livi, C.: The influence of hematocrit and plasma viscosity on blood viscosity. *Clin. Hemorheol.*, 2: 319-327, 1982.

Baskurt, O. K.: Activated granulocyte induced alterations in red blood cells and protection by antioxidant enzymes. *Clin. Hemorheol.* 16: 49-56, 1996.

Baskurt, O. K., Temiz, A., Meiselman, H. J.: Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties. *Free Radic. Biol. Med.*, 24(1): 102-10, 1998.

Bayliss, L. E.: The axial drift of the red cells when blood flows in a narrow tube. *J. Physiol.*, 149: 593-613, 1959.

Bayliss, L. E.: The flow of suspensions of red blood cells in capillary tubes: Changes in the "cell free" marginal sheath with changes in the shearing stress. *J. Physiol.*, 179: 1-25, 1965.

Begg, T. B., Hearn, J. B.: Components in blood viscosity. *Clin. Sci.*, 31: 87-93, 1966.

Beinfeld, W. H., Lehr, D.: P-R interval of the rat electrocardiogram. *Am. J. Physiol.*, 214: 205-211. 1968.

Beinfeld, W. H., Lehr, D.: QRS-T variations in the rat electrocardiogram. *Am. J. Physiol.*, 214: 197-204, 1968.

Bergmeyer, H. U. ed.: *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York, 1989.

Bernasconi, C., Del Santo, A., Marrali, F., Agostoni, A.: Standardized correction of whole blood viscosity for the main determinants: a computerized system. *Clin. Hemorheol.*, 9: 633-640, 1989.

Berti, S., Palmieri, C., Ravani, M., Bonini, R., Iascone, M. R., Clerico, A., Manfredi, C., Iervasi, G., Ferrazzi, P., Biagini, A.: Acute enoximone effect on systemic and renal hemodynamics in patients with heart failure. *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 10(1): 81-7, 1996.

Bilo, H. J., Gans, R. O.: Fish oil: a panacea? *Biomed. Pharmacother.*, 44(3): 169-74, 1990.

Bimboim, H. C., Jevcak, J. J.: Fluorimetric method for rapid detection of DNA strand breaks in human white blood cells produced by low doses of radiation. *Cancer Research*, 41: 1889-1892, 1981.

- Boda Z.: A fibrinogen, mint önálló cardiovascularis rizikótényező és gyógyszeres befolyásolásának kérdései. *Orv. Hetil.*, 138: 2455-2460, 1997.
- Bogar, L., Toth, K., Matrai, A. and Tekeres, M.: Does isosorbide-dinitrate have an effect on the rheology of human blood? *Biorheol.*, 23: 295, 1986.
- Bristow, M. R.: Use of oral enoximone in pharmacologic bridging to cardiac transplantation. *Z. Kardiol.*, 83 Suppl. 2: 15-9, 1994.
- Bristow, M. R., Gilbert, E. M., Abraham, W. T.: Carvedilol produces dose-related improvements in left ventricular function and survival in subjects with chronic heart failure. *Circulation*, 94: 2807-2816, 1996.
- Brown, W. M.: Rapid evaluation of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 76: 1967-1971, 1979.
- Bruce, R. A., Hornsten, T. R.: Exercise Stress Testing in Evaluation of Patients with Ischemic Heart Disease. *Progr. Cardiovasc. Dis.*, 11: 371-390, 1969.
- Bruce, R. A., Kusumi, F., Hosmer, D.: Maximal oxygen intake and monographic assessment of functional aerobic impairment in cardiovascular disease. *Am. Heart J.*, 85: 546-560, 1973.
- Bruce, R. A.: Value of maximal exercise tests in risk assessment of primary coronary heart disease events in healthy men. *Am. J. Card.*, 46: 371-376, 1980.
- Burge, P. S., Johnson, W. S., Prankerd, T. A. J.: Morbidity and mortality in pseudopolycythemia. *Lancet*, i: 1266-1269, 1975.
- Caldicott, L. D., Hawley, K., Heppell, R., Woodmansey, P. A., Channer, K. S. Intravenous enoximone or dobutamine for severe heart failure after acute myocardial infarction: a randomized double-blind trial. *Eur. Heart J.*, 14(5): 696-700, 1993.
- Carillo, A. P.: Correlation of exercise thallium-201 myocardial scans with coronary arteriograms and the maximal exercise test. *Chest*, 73: 321, 1978.

- Carter, C., McGee, D., Reed, D., Yano, K., Stemmermann, G. Hematocrit and the risk of coronary heart disease: The Honolulu Heart Program. *Am. Heart J.*, 105: 674-679, 1983.
- Chien, S.: Hemorheology in disease, pathophysiological significance and therapeutic implications. *Clin. Hemorheol.*, 1: 419-442, 1981.
- Chien, S.: Hemorheology in clinical medicine. *Clin. Hemorheol.*, 2: 137-142, 1982.
- Chien, S.: Role of blood cells in microcirculatory regulation. *Microvasc. Res.*, 29: 129-151, 1985.
- Chien, S., Dormandy, J., Ernst, E., Matrai, A.: *Clinical Hemorheology*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 1987.
- Chiu, D., Kuypers, F., Lubin, B.: Lipid peroxidation in human red cells. *Semin. Hematol.*, 26: 257-276, 1989.
- Ciuffetti, G., Mercuri, M., Lombardini, R., Paltriccia, R., Luppattelli, G., Mannarino, E.: Pentoxiphyllin inhibits free radical generation in peripheral vascular disease. *Clin. Hemorheol.*, 11: 759, 1991.
- Cleaver, J. E., Morgan, W. F.: Poly(ADP-ribose)polymerase: a perplexing participant in cellular responses to DNA breakage. *Mutat. Res.*, 257(1): 1-18, 1991.
- Coleman, B. D., Markovitz, H., Noll, W.: *Viscometric Flow on Non-Newtonian Fluids*. Springer, Berlin, 1966.
- Cohen, G.: Enzymatic/nonenzymatic sources of oxyradicals and regulation of antioxidant defences. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 738: 8-14, 1994.
- Copeland, W. C., Cheng, M. S., Wang, T. S. F.: Human DNA polymerases alpha and beta are able to incorporate anti-HIV deoxynucleotides into DNA. *J.Biol.Chem.*, 267: 21459-21464, 1992.
- Copley, A. L., Seaman, G. V. F.: The meaning of the terms rheology, biorheology and hemorheology. *Clin. Hemorheol.*, 1: 117-119, 1981.

- Copley, A.L.: On erythrocyte aggregation and desaggregation. *Clin. Hemorheol.*, 7: 3-14, 1987.
- Corsini, A., Raiteri, M., Soma, M. R., Bemini, F., Fumagalli, R., Paoletti, R.: Pathogenesis of atherosclerosis and the role of 3-hydroxy-3-methylglutaryl- coenzyme-A reductase inhibitors. *Am. J. Cardiol.*, 76 (2): 21, 1995.
- Cowley, A. J., Skene, A. M.: Treatment of severe heart failure: quantity or quality of life? A trial of enoximone. *Enoximone Investigators. Br. Heart J.*, 72(3): 226-30, 1994.
- Crescentini, G., Stocchi, V.: Fast reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of nucleotides in red blood cells. *J. Chromatography*, 290: 393-399, 1984.
- Czopf, L., Toth, K., Habon, T., Endrei, D., Mozsik, Gy., Roth, E.: The effect of isosorbide-5-mononitrate on the production and metabolism of reactive oxygen species and rheological parameters in patients with ischemic heart disease. *Clin. Hemorheol.*, 15: 475, 1995.
- Dauber, I. M., Lesnfsky, E. J., Ashmore, R. C., Martel, D. M., Sheridan, F. M., Weil, J. V., Horowitz, L. D.: Coronary vascular injury due to ischaemia-reperfusion is reduced by Pentoxifyllin. *J. Pharm. and Exper. Ther.*, 260: 1250-1256, 1992.
- de la Asuncion, J. G., del Olmo, M. L., Sastre, J., Millan, A., Pellin, A., Pallardo, F. V., Vina, J.: AZT treatment induces molecular and ultrastructural oxidative damage to muscle mitochondria. Prevention by antioxidant vitamins. *J Clin. Invest.*, 102(1): 4-9, 1998.
- de Marco, T., Chatterjee, K.: Phosphodiesterase inhibitors in refractory heart failure: bridge to beta-blockade? *J. Am. Coll. Cardiol.*, 31(6):1341-1343, 1998.
- de Murcia, G., de Murcia, J. M.: Poly (ADP-ribose) polymerase: a molecular nick-sensor. *Trends Biochem. Sci.*, 19(4): 172-176, 1994.
- Dec, G. W., Fifer, M. A., Herrmann, H. C., Cocca-Spofford, D., Semigran, M. J.: Long-term outcome of enoximone therapy in patients with refractory heart failure. *Am. Heart J.*, 125(2): 423-429, 1993.

- Demaision, L., Sergiel, J. P., Moreau, D., Grynberg, A.: Influence of the phospholipid n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratio on the mitochondrial oxidative metabolism before and after myocardial ischemia. *Biochim. Biophys. Acta*, 21;1227(1-2): 53-59, 1994.
- de Murcia, J. M., Niedergang-C., Trucco, C., Ricoul, M., Dutrillaux, B., Mark, M., Oliver, F. J., Masson, M., Dierich, A., LeMeur, M., Walztinger, C., Chambon, P., de-Murcia, G.: Requirement of poly(ADP-ribose) polymerase in recovery from DNA damage in mice and in cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 94(14): 7303-7307, 1997.
- Devereux, R. B., Drayer, J. I. M., Chien, S., Pickering, T. G., Letcher, R. L., Deyoung, J. L., Sealey, J. E., Laragh, J. H.: Whole blood viscosity as a determinant of cardiac hypertrophy in systemic hypertension. *Am. J. Cardiol.*, 54: 592-595, 1984.
- Dintenfass, L.: Blood rheology in pathogenesis of the coronary heart diseases. *Am. Heart J.*, 77: 139, 1969.
- Dintenfass, L.: Viscosity factors in hypertensive and cardiovascular diseases. *Cardiovasc. Med.*, 2: 337-353, 1977.
- Dormandy, J.: Medical and engineering problems of blood viscosity. *Biomed. Engin.*, 9: 284-289, 1974.
- Driessen, G. K., Fischer, T. M., Haest, C. W. M., Inhoffen, W., Schmid-Schönbein, H.: Flow behaviour of rigid blood cells in the microcirculation. *Int. J. Micr. Clin. Exp.*, 3: 197-210, 1984.
- Ehrly, A. M.: Drugs that alter blood viscosity – Their role in therapy. *Drugs*, 39: 155-159, 1990.
- Eliasson, M. J. L., Sampei, K., Mandir, A. S., Hum, P. D., Traystman, R. J., Bao, J., Pieper, A., Yhao-Qi Wang, Dawson, T. M., Snyder, S. H., Dawson, V. L.: Poly(ADP-ribose) polymerase gene disruption renders mice resistant to cerebral ischaemia. *Nature Med.*, 3: 1089-1095, 1994.
- Ernst, E., Matrai, A.: Increased mortality in hypertensives treated with diuretics - a hemorheological problem? *Clin. Hemorheol.*, 4: 589-590, 1984.

Ernst, E., Koenig, W., Matrai, A., Keil, U.: Plasma viscosity and hemoglobin in the presence of cardiovascular risk factors. *Clin. Hemorheol.*, 8: 507-515, 1988a.

Ernst, E., Matrai, A.: The effect of omega-3-fatty acids on blood rheology in hyperlipoproteinemias - a pilot study. *Med. Sci. Res.*, 16: 69-70, 1988b.

Ernst, E.: Effects of n-3 fatty acids on blood rheology. *J. Intern. Med.*, Suppl. 225(731): 129-32, 1989.

Ernst, E.: Plasma fibrinogen - an independent cardiovascular risk factor. *J. Int. Med.*, 227: 365-369, 1990.

Ernst, E., Resch, K.L., Schmidlechner, C. H., Paulsen, H. F., Saradeth, T.: N-3 fatty acids reduce blood viscosity in hyperlipoproteinemia: results of a double blind study. *Clin. Hemorheol.*, 11: 107-112, 1991.

Fahraeus, R., Lindquist, T.: The viscosity of blood in narrow capillary tubes. *Am. J. Physiol.*, 96: 562-568, 1931.

Farmer, J. A., Gotto, A. M.: Risk factors for coronary artery disease. *Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. Edited by Eugene Braunwald - 4th edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1992.

Fehér J., Vereckei A.: Szabadgyök-reakciók jelentősége az orvostudományban. *Medicina Könyvkiadó*, 1985.

Fenton, B. M., Carr, R. T., Cokelet, G. R.: Non-uniform red cell distribution in 20 to 100 mm bifurcations. *Microvasc. Res.*, 29: 103-126, 1985.

Feuerstein, G. Z., Ruffolo, R. R. Jr.: Carvedilol, a novel vasodilating beta-blocker with the potential for cardiovascular organ protection. *Eur. Heart J.*, 17: S24-29, 1996.

- Feuerstein, G. Z., Yue, T. L., Cheng H. Y., Ruffolo R. R. Jr.: Myocardial protection by the novel vasodilating beta-blocker, carvedilol: potential relevance of anti-oxidant activity. *J. Hypertens.*, 11(4): S41-48, 1993.
- Fleischhauer, F. J., Yan, W. D., Fischell, T. A.: Fish oil improves endothelium-dependent coronary vasodilation in heart transplant recipients. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 15;21(4): 982-9, 1993.
- Franceschini, G., Paoletti, R.: Pharmacological control of hypertriglyceridemia. *Cardiovasc Drugs Ther.*, 7(3): 297-302, 1993.
- Frojmovic, M.M., Milton, J.G.: Human platelet size, shape and related functions in health and disease. *Physiol. Rev.*, 62: 185-257, 1982.
- Fuchs, J. Weinberger I, Rotenberg Z, Erdberg A, Davidson E, Joshua H, Agmon J.: Plasma viscosity in ischemic heart disease. *Am. Heart J.*, 108: 435-439, 1984.
- Fulton, B., Wagstaff, A. J., Sorkin, E. M.: Doxazosin - An update of its clinical pharmacology and therapeutic applications in hypertension and benign prostatic hyperplasia. *Drugs*, 49: 295-320, 1995.
- Gaehgtens, P., Dührssen, C., Albrecht, K.H.: Motion, deformation and interaction of blood cells and plasma during flow through narrow capillary tubes. *Blood Cells*, 6: 799-812, 1980.
- Gaehgtens, P.: Pulsatile pressure and flow in the mesenteric vascular bed of the cat. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 316: 140-151, 1970.
- Gibson, R.S.: Comparative Analysis of the Diagnostic and Prognostic Value of Exercise ECG and Thallium-201 Scintigraphic Markers of Myocardial Ischemia in Asymptomatic and Symptomatic Patients. *Card. Clinics*, 7: 565, 1989.
- Gilbert, E. M., Hershberger, R. E., Wiechmann, R. J., Movsesian, M. A., Bristow, M. R.: Pharmacologic and hemodynamic effects of combined beta-agonist stimulation and phosphodiesterase inhibition in the failing human heart. *Chest*, 108(6): 1524-1532, 1995.

Goldsmith, H.L.: Red cell motions and wall interactions in tube flow. *Federation Proc.*, 30: 1578-1587, 1971.

Gotto, A. M. Jr., Grundy, S. M.: Lowering LDL cholesterol: questions from recent meta-analyses and subset analyses of clinical trial DataIssues from the Interdisciplinary. Council on Reducing the Risk for Coronary Heart Disease, ninth Council meeting. *Circulation*, 99(8): E1-7, 1999.

Grajek, S., Bagge, U., Andersson, O. K., Braide, M., Jasinski, K., Paradowski, S., Roberts, D.: Relationship between hemodynamic indices and rheological properties of blood in primary hypertension. *Clin. Hemorheol.*, 8: 113-127, 1988.

Grobecker, H.: Pharmacology and clinical pharmacology of organic nitrates. *Eur. J. Clin. Pharm.*, 38(Suppl. D): 3-7, 1990.

Habon, T., Toth, K., Keltai, M., Lengyel, M., Palik, I.: An Adult Case of Kawasaki Disease with Multiplex Coronary Aneurysms and Myocardial Infarction: The Role of Transoesophageal Echocardiography. *Clin. Cardiol.*, 21: 529-532, 1998.

Haglund, O., Wallin, R., Luostarinen, R., Saldeen, T.: Effects of a new fluid fish oil concentrate, ESKIMO-3, on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and blood pressure. *J. Int. Med.*, 227: 347-353, 1990.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. V.: Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymol.*, 186: 1-85, 1990.

Halliwell, B., Cross, C. E.: Reactive oxygen species, antioxidants, and acquired immunodeficiency syndrome. Sense or speculation? *Arch. Intern. Med.*, 151(1): 29-31, 1991.

Halliwell, B.: Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, 334: 721-724, 1994.

Halmosi R., Czopf L., Késmárky G., Habon T., Tóth K., Juricskay I., Róth E., Mózsik G.: Haemorheológiai paraméterek és szabadgyökös folyamatok változása ischaemiás szívbetegekben nitrát, illetve lovastatin kezelés során. *Card. Hung.*, 28: 53-60, 1999.

- Handelman, G. J., Han, D., Trischler, H., Packer, L.: Alpha-lipoic acid reduction by mammalian cells to the dithiol form, and release into the culture medium. *Biochem. Pharm.*, 47: 1725-1730, 1994.
- Harkness, J.: The viscosity of human blood plasma, its measurement in health and disease. *Biorheol.*, 3: 171-193, 1971.
- Hebbel, R. P., Leung, A., Mohandas, N. Oxidation-induced changes in microtheologic properties of the red blood cell membrane. *Blood*, 76: 1015-1020, 1990.
- Heinonen, O. P., Huhtunen, J. K., Mauninen, V., Manttari, M., Koskinen, P., Tenkanen, L., Frick, M. H.: The Helsinki Heart Study: coronary heart disease incidence during an extended follow-up. *J. Intern. Med.*, 235(1): 41-49, 1994.
- Heilmann, L., Miller, B.: Effects of beta-blocking agents on hemorheological properties. *Clin. Hemorheol.*, 8: 31-38, 1988.
- Heller, B., Wang, Z. Q., Wagner, E. F., Radons, J., Burkle, A., Fehsel, F., Burk-hart, V., Kolb, H.: Inactivation of the poly(ADP-ribose) polymerase gene affects oxygen radical and nitric oxide toxicity in islet cells. *J. Biol. Chem.*, 270: 11176-11180, 1995.
- Hobbs, G. A., Keilbaugh, S. A., Rief, P. M., Simpson, M. V.: Cellular targets of 3'-azido-3'-deoxythymidine: an early (non-delayed) effect on oxidative phosphorylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 194: 170-177, 1995.
- Horvath, I., Mezey, B., Juricskay, I., Simon, A., Javor, T.: Data for the clinical evaluation of impedance-cardiographic measurements. (Hungarian) *Card. Hung.*, 22: 29-32, 1993.
- Janero, D. R., Hreniuk, D., Sharif, H. M., Prout, K. C. Hydroperoxide-induced oxidative stress alters pyridine nucleotide metabolism in neonatal heart muscle cells. *Am.J.Physiol.* 264: C1401-10, 1993.
- Jánosi A.: A myocardium-íschémia kimutatása és klinikai jelentősége. *Cardiol. Hung.*, 19: 83-88, 1990.

- János A.: A terheléses EKG vizsgálat jelentősége. *Orv. Hetil.*, 133: 2957-2961, 1992a.
- János A., Kádár A., Froelicher V.: Az ST depressio és a különböző terheléses score értékek összehasonlító vizsgálata a koszorúér-szűkület felismerésében. *Orv. Hetil.*, 133: 523-527, 1992b.
- János, A.: Ischaemiás szivbetegségek. Klinikai kardiológia. Medintel Könyvkiadó, Budapest, 1995.
- Janssen, M., Koster, J. F., Bos, E., de-Jong, J. W.: Malondialdehyde and glutathione production in isolated perfused human and rat hearts. *Circ-Res.*, 73: 681-688, 1993.
- Jondeau, G., Dubourg, O., Delorme, G., Amal, J. F., Chikli, F., Kamoun, L., Dumas, C., Bourdarias, J. P.: Oral enoximone as a substitute for intravenous catecholamine support in end-stage congestive heart failure. *Eur. Heart J.*, 15(2): 242-246, 1994.
- Junker, R., Heinrich, J., Ulbrich, H., Schulte, H., Schönfeld, R., Köhler, E., Assmann, G.: Relationship between plasma viscosity and the severity of coronary heart disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 18: 870-875, 1998.
- Juricskay, I., Veress, G. E.: PRIMA: A new pattern recognition method. *Anal. Chim. Acta*, 171: 61, 1985.
- Kajstura, J., Cheng, W., Reiss, K., Clark, W. A., Sonenblick, E. H., Krajewski, S., Reed, J. C., Olivetti, G., Anversa, P.: Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats. *Lab. Invest.*, 74: 86-107, 1996.
- Kannel, W. B., D'Agostino, R. B., Belanger, A. J.: Fibrinogen, cigarette smoking, and risk of cardiovascular disease: Insights from the Framingham Study. *Am. Heart J.*, 113: 1006-1010, 1987.
- Késmárky G., Vajda G., Habon L., Czopf L., Endrei D., Róth E., Tóth K.: Szabadgyökös és haemorheológiai paraméterek alakulása coronaria angioplastica során. *Card. Hung., Suppl.* 1: 22, 1998a.

- Kesmarky, G., Toth, K., Habon, L., Vajda, G., Juricskay, I.: Hemorheological parameters in coronary artery disease. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 18: 245-251, 1998b.
- Kesmarky, G., Toth, A., Marton, Z., Czopf, L., Halmosi, R., Juricskay, I., Habon, T., Toth, K.: QRS score: a composite index of exercise-induced changes in the Q-, R- and S-waves during exercise stress testing in patients with ischemic heart disease. (abs.) *Eur. Heart J.*, 1999.
- Kiesewetter, H., Birk, A., Jung, F., Radke, H.: Effects of felodipine on the arterial blood pressure and fluidity of blood in patients with arterial hypertension WHO stage I. *Clin. Hemorheol.*, 14: 355-367, 1994.
- Koenig, W., Ernst, E., Matrai, A.: Blood Rheology Associated with Cardiovascular Risk Factors and Chronic Cardiovascular Diseases: Results of an Epidemiologic Cross-sectional Study. *Angiology*, 39: 986-995, 1988.
- Koenig, W., Sund, M., Ernst, E., Matrai, A., Keil, U., Rosenthal, J.: Is increased plasma viscosity a risk factor for high blood pressure? *Angiology*, 40: 153-163, 1989.
- Koenig, W., Sund, M., Ernst, E., Keil, U., Rosenthal, J., Hombach, V.: Association between plasma viscosity and blood pressure. Results from the MONICA-project Augsburg. *Am. J. Hypertens.*, 4: 529-536, 1991a.
- Koenig, W., Sund, M., Ernst, E., Hehr, R., Binner, L., Rosenthal, J., Hombach, V.: Effects of felodipine ER and hydrochlorothiazide on blood rheology in essential hypertension - A randomized, double-blind, crossover study. *J. Intern. Med.*, 229: 533-538, 1991b.
- Koenig, W.: Recent progress in the clinical aspects of fibrinogen. *Eur. Heart J.*, 16(Suppl. A): 54-59, 1995.
- Kojda, G., Kottenberg, K., Noack, E.: Inhibition of nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase induces cardiodepressive effects in normal rat hearts. *Eur. J. Pharmacol.*, 334: 181-190, 1997.

- Kotler, T. S., Diamond, G. A.: Exercise Thallium-201 Scintigraphy in the Diagnosis and Prognosis of Coronary Artery Disease. *Ann. Intern. Med.*, 113: 684, 1990.
- Krobot, K.: Title Determinants of Plasma Fibrinogen - Relation to Body Weight, Waist-to-Hip Ratio, Smoking, Alcohol, Age, and Sex - Results from the 2nd MONICA Augsburg Survey, 1989-1990. *Arterioscler. and Thromb.*, 12: 780, 1992.
- Kromhout, D., Bosschieter, E. B., Coulander, C. L.: The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.*, 312: 1205-1216, 1985.
- Kubicek, W. G., Kargenis, J. M., Patterson, R. P., Witsoe, D. A., Mattson, R. H.: Development and evaluation of an impedance cardiac output system. *Aerospace Med.*, 37: 1208-1212, 1966.
- Kulka, P. J., Tryba, M.: Inotropic support of the critically ill patient. A review of the agents. *Drugs*, 45(5):654-667, 1993.
- Latocha, G., Bernauer, W.: Effect of antiarrhythmic drugs on the postschaemic metabolic recovery of isolated rat hearts. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 312: 39-54, 1991.
- Lazzarino, G., Di Pierro, D., Tavazzi, B., Cerroni, L., Giardina, B.: Simultaneous separation of malondialdehyde, ascorbic acid, and adenine nucleotide derivatives from biological samples by ion-pairing high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, 197: 191-196, 1991.
- Lazzarino, G., Tavazzi, B., Di Pierro, D., Vagnozzi, M. P., Penco, M., Giardina, B.: The relevance of malondialdehyde as a biochemical index of lipid peroxidation of postschemic tissues in the rat and human beings. *Biol. Trace Elem. Res.*, 47: 165-170, 1995.
- Leno, G. H., Ledford, B. E.: Reversible ADP-ribosylation of the 78 kDa glucose-regulated protein. *FEBS-Lett.*, 276: 29-33, 1990.
- Lerner, D. J., Kannel, W. B.: Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in sexes: A 26-year follow-up of the Framingham population. *Am. Heart J.*, 111: 383-389, 1986.

- Leschke, M., Vogt, M., Motz, W., Strauer, B. E.: Blood rheology as a contributing factor in reduced coronary reserve in systemic hypertension. *Am. J. Cardiol.*, 65: 56G-59G, 1990.
- Lindahl, T., Satoh, M. S., Poirier, G. G., Klungland, A.: Post-translational modification of poly(ADP-ribose) polymerase induced by DNA strand breaks. *Trends Biochem. Sci.*, 20: 405-441, 1995.
- Lingard, P. S.: Blood rheology and oxygen supply to tissue. *Clin. Hemorheol.*, 2: 13-19, 1982.
- Lipowsky, H.H., Kovalcheck, S., Zweifach, B.W.: The distribution of blood rheological parameters in the microvasculature of cat mesentery. *Circ. Res.*, 43: 738-749 (1978).
- Lipowsky, H. H., Rofe, S., Tannenbaum, L., Firrell, J. C., Usami, S., Chien, S.: Microvessel hematocrit distributions at bifurcations. *Microvasc. Res.*, 21: 249-250, 1981.
- Lowe, G. D. O.: Evaluation of rheological therapy by orally administered drugs. *Clin. Hemorheol.*: 4: 159-175, 1984.
- Lowe, G. D. O., Smith, W. C. S., Tunstall-Pedoe, H. D., Crombie, I. K., Lennie, S. E., Anderson, J., Barbenel, J. C.: Cardiovascular risk and haemorheology -Results from the Scottish Heart Health Study and the MONICA Project, Glasgow. *Clin. Hemorheol.*, 8: 517-524, 1988.
- MAAS Investigators: Effect of simvastatin on coronary atheroma: the Multicenter Antiatheroma Study (MAAS). *Lancet*, 344: 633, 1994.
- MacFarlane, P. W., Lawrie, T. D. V.: *Comprehensive electrocardiology*. Pergamon Press., 1989.
- Machiedo, G. W., Powell, R. J., Rush, B. F., Swislocki, N. I., Dikdan, G.: The incidence of decreased red blood deformability in sepsis and the association with oxygen free radical damage and multiple-system organ failure. *Arch. Surg.*, 124: 1386-1389, 1989.
- Mannering, D., Cripps, T., Leech, G., Mehta, N., Valantine, H., Gilmour, S., Bennett, E. D.: The dobutamine stress test as an alternative to exercise testing after acute myocardial infarction. *Br. Heart J.*, 59: 521-526, 1988.

- Maridonneau, I., Braquet, P., Garaz, R. P.: Na⁺ and K⁺ transport damage induced by oxygen free radicals in human red cell membranes. *J. Biol. Chem.*, 258: 3107-3113, 1983.
- Mátrai Á., Fendler K., Lissák K.: Sorozatmérésre alkalmas kapilláris viszkoziméter. *Kísérl. Orvostud.*, 29: 200-211, 1977.
- Mátrai Á., Bogár L., Fendler K.: A hematokrit és a fibrinogénszint szerepe a vér rheológiai tulajdonságainak meghatározásában. *Kísérl. Orvostud.*, 31: 204-212, 1979.
- Matrai, A., Whittington, R. B., Ernst, E.: A simple method of estimating whole blood viscosity at standardized hematocrit. *Clin. Hemorheol.*, 7: 261-265, 1987.
- Meade, T. W., North, W. R. S., Chakrabarti, R., Stirling, Y., Haines, A. P., Thompson, S. G., Mrozovic, M.: Haemostatic function and cardiovascular death: early result of a prospective study. *Lancet*, 1(8177): 1050-1054, 1980.
- Meade, T. W., Mellows, S., Brozovic, M., Miller, G. J., Chakrabarti, R. R., North, W. R., Haines, A. P., Stirling, Y., Imeson, J. D., Thompson, S. G.: Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet*, 2(8506): 533-537, 1986.
- Meiselman, H. J.: Rheology of shape-transformed human red cells. *Biorheol.*, 15: 225-237, 1978.
- Merrill, E. W.: Rheology of blood. *Physiol. Revs.*, 49: 863-888, 1969.
- Mezey B., Juricskay I., Tóth K., Simor T., Jávör T.: Friss miokardiális infarktusos betegek többlépcsős prognosztizálása PRIMA módszerrel. *Orv. Hetil.*, 131: 683-689, 1990.
- Mikita, J., Mátrai, Á., Bogár L.: A keringési rendszer és alkotó részei működésének elemzése haemorheológiai szempontok alapján. *Orv. Hetilap*, 130: 2187-2194, 1989.
- Miles, A. M., Bohlt, D. S., Glassbrenner, P. H., Hansert, B., Winks, D. A., Grisham, M. B.: Modulation of superoxide-dependent oxidation and hydroxylation reactions by nitric oxide. *J. Biol. Chem.*, 271: 40-47, 1996.

- Mizumoto, K., Glascott, P. A. Jr., Farber, J. L.: Roles of oxidative stress and poly(ADP-ribose)ation in the killing of cultured hepatocytes by methyl methanesulfonate. *Biochem. Pharmacol.*, 46: 1811-1818, 1993.
- Moller, L., Kristensen, T. S.: Plasma fibrinogen and ischemic heart disease risk factors. *Arterioscler.-Thromb.*, 11: 344-350, 1991.
- Montalescot, G., Ancri, A., Vicaud, E., Drobinski, G., Grosogeat, Y., Thomas, D.: Fibrinogen after coronary angioplasty as a risk factor for restenosis. *Circulation*, 92: 31-38, 1995.
- Morita, S., Sawai, Y., Heeg, J. F., Koike, Y.: Pharmacokinetics of enoximone after various intravenous administrations to healthy volunteers. *J. Pharm. Sci.*, 84(2): 152-157, 1995.
- Morris, C. K., Ueshima, K., Kawaguchi, T., Hideg, A., Froelicher, V. F.: The prognostic value of exercise capacity: A review of the literature. *Am. Heart J.*, 122: 1423-1431, 1991.
- Mozsik, G., Fiegler, M., Juricskay, I., Mezey, B., Toth, K.: Oxygen free radicals, lipid metabolism, and whole blood and plasma viscosity in the prevention and treatment of human cardiovascular diseases. *Bibl. Nutr. Diet.*, 49: 111-124, 1992.
- Muller-Hocker, J., Seibel, P., Schneiderbanger, K., Zietz, C., Obermaier-Kusser, B., Gerbitz, K. D., Kadenbach, B.: In situ hybridization of mitochondrial DNA in the heart of a patient with Kearns-Sayre syndrome and dilatative cardiomyopathy. *Hum. Patol.*, 23: 1431-1437, 1992.
- Nagakawa, Y., Akedo, Y., Kaku, S., Orimo, H.: Effects of carvedilol on common carotid arterial flow, peripheral hemodynamics, and hemorheologic variables in hypertension. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 38(2): S115-119, 1990.
- Nagy, L., Tarjan, J., Samoczi, M., Kovacs, I., Takacs, J.: Effect of benazepril on endothelial function in previously untreated hypertensive patients. *Am. J. Ther.*, 5(4): 233-236, 1998.
- Nasa, Y., Hayashi, M., Sasaki, H., Hayashi, J., Takeo, S.: Long-term supplementation with eicosapentaenoic acid salvages cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation-induced injury in rats fed with fish-oil-deprived diet. *Jpn. J. Pharmacol.*, 77(2): 137-146, 1998.

- Natsume, T., Tsuchiya, M., Sakaguchi, A., Nakayama, R., Ikeda, M.: The role of blood viscosity in hypertension. *Clin. Hemorheol.*, 2: 109-115, 1982.
- Neumann, F. J., Katus, H. A., Hoberg, E., Roebruck, P., Braun, M., Haupt, H. M., Tillmanns, H., Kübler, W.: Increased plasma viscosity and erythrocyte aggregation: indicators of an unfavourable clinical outcome in patients with unstable angina pectoris. *Br. Heart J.*, 66: 425-430, 1991.
- Nordoy, A., Bonaa, K. H., Nilsen, H., Berge, R. K., Hansen, J.B, Ingebretsen, O. C.: Effects of Simvastatin and omega-3 fatty acids on plasma lipoproteins and lipid peroxidation in patients with combined hyperlipidaemia. *J. Intern. Med.*, 243(2): 163-170, 1998.
- Novak, Z., Pataki, L., Matakovics, B., Varga, S. I.: Effect of free oxygen radicals and lipid peroxidation on deformability of erythrocytes. (abs.) *Biorheol.*, 26: 575, 1989.
- Novak, Z., Varga, S. I., Matakovics, B.: Oxidative stress and red blood cell deformability. (abs.) *Biorheol.*, 32: 161, 1995.
- O'Connell, J. B., Gilbert, E. M., Renlund, D. G., Bristow, M. R.: Enoximone as a bridge to heart transplantation: the Utah experience. *J. Heart Lung Transplant.*, 10(3): 477-481, 1991.
- Ohara, Y., Peterson, T. E., Sayegh, H. S., Subramanian, R. R., Wilcox, J. N., Harrison, D. G.: Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation.*, 92 (4): 898-903 1995.
- Ohtsuki, T., Matsumoto, M., Suzuki, K., Taniguchi, N., Kamada, T.: Mitochondrial lipid peroxidation and superoxide dismutase in rat hypertensive target organs. *Am. J. Physiol.*, 268: H1418-1421, 1995.
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moernan, E. J., Goldstein, S., Stadtman, E. R.: Age-related changes in oxidized proteins. *J. Biol. Chem.*, 262: 5488-5491, 1987.
- Otto, C., Ritter, M. M., Soennichsen, A. C., Schwandt, P., Richter, W. O.: Effects of n-3 fatty acids and fenofibrate on lipid and hemorheological parameters in familial dysbetalipoproteinemia and familial hypertriglyceridemia. *Metabolism*, 45(10): 1305-1311, 1996.

- Packer, L., Valenza, M., Serbinova, E., Starke-Reed, P., Frost, K., Kagan, V.: Free radical scavenging is involved in the protective effect of L-propionyl-carnitine against ischemia-reperfusion injury of heart. *Arch.Biochem.Biophys.*, 288: 533-537, 1991.
- Packer, M.: Effect of phosphodiesterase inhibitors on survival of patients with chronic congestive heart failure. *Am. J. Cardiol.*, 3;63(2): 41A-45A, 1989.
- Packer, M., Carver, J. R., Rodeheffer, R. J., Ivanhoe, R. J., DiBianco, R., Zeldis, S. M., Hendrix, G. H., Bommer, W. J., Elkayam, U., Kukin, M. L.: Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group. *N. Engl. J. Med.*, 21;325(21): 1468-1475, 1991.
- Packer, M., Bristow, M. R., Cohn, J. N.: The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N. Engl. J. Med.*, 334: 1349-1355, 1996.
- Palmer, A. A., Jedrzejczyk, H. J.: The influence of rouleaux on resistance to flow through capillary channels of various shear rates. *Biorheol.*, 12: 265-270, 1975.
- Palva, T. K., Palva, E. T.: Rapid isolation of animal mitochondrial DNA by alkaline extraction. *FEBS. Lett.*, 192: 267-270, 1985
- Pan, N., Hori, H.: The interaction of acteoside with mitochondrial lipid peroxidation as an ischemia/reperfusion injury model. *Adv.Exp.Med.Biol.*, 361: 319-325, 1994.
- Past T., Wittmann I., Belágyi J., Jávör T.: Effect of ionic milieu to the free radicals generated by phenazine methosulphate. *Acta Phys. Hung.*, 73: 347-349, 1989.
- Powell, R. J., Machiedo, G. W., Rush, B. F., Dikdan, G.: The effect of alfa-tocopherol on red blood cell deformability and survival of sepsis. *Curr. Surg.*, 46: 381-383, 1989.
- Pries, A. R., Albrecht, K. H., Gaehdgens, P.: Model studies on phase separation at a capillary orifice. *Biorheol.*, 18: 355-367, 1981.

- Quemada, D.: Viscometric quantification of erythrocyte aggregation. *Clin. Hemorheol.*, 9: 781-790, 1989.
- Radons, J., Heller, B., Burkle, A., Hartmann, B., Rodriguez, M. L., Kroncke, K. D., Burkart, V., Kolb, H.: Nitric oxide toxicity in islet cells involves poly(ADP-ribose) polymerase activation and concomitant NAD⁺ depletion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 199: 1270-1277, 1994.
- Rainer, C., Kawanishi, D. T., Chandraratna, P. A. N., Bauersachs, R. M., Reid, C. L., Rahimtoola, S. H., Meiselman, H. J.: Changes in blood rheology in patients with stable angina pectoris as a result of coronary artery disease. *Circulation*, 76: 15-20, 1987.
- Rankin, P. W., Jacobson, E. L., Benjamin, R. C., Moss, J., Jacobson, M. K.: Quantitative studies of inhibitors of ADP-ribosylation in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.*, 264: 4312-4317, 1989.
- Reardon, J. E.: Human immunodeficiency virus reverse transcriptase: steady-state and pre-steady-state kinetics of nucleotide incorporation. *Biochemistry*, 31: 4473-4479, 1992.
- Remme, W. J.: Inodilator therapy for heart failure. Early, late, or not at all? *Circulation*, 87(5 Suppl): IV97-107, 1993.
- Riaz, K., Forker, A. D.: Digoxin use in congestive heart failure. Current status. *Drugs*, 55(6): 747-758, 1998.
- Robert, L. T., Anne, P. A.: Reactive oxygen injury to cultured pulmonary artery endothelial cells: mediation by poly (ADP-ribose) polymerase activation causing NAD depletion and altered energy balance. *Arch. Biochem. Biophys.*, 286: 353-363, 1991.
- Rosenson, R. S., Hafner, J. M.: Rheological changes in hypertensive patients treated with ramipril. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 17: 41-46, 1997.
- Royall, J. A., Ischiropoulos, H.: Evaluation of 2',7'-dichlorofluorescein and dihydrothodamine 123 as fluorescent probes for intracellular H₂O₂ in cultured endothelial cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, 302: 348-355, 1993

Róth, E., Török, B., Pollák, Z., Temes, G., Morvay, G.: Myocardial protection by antioxidant during permanent and temporary coronary occlusion in dogs. *Basic Res. Cardiol.*, 82;Suppl 2: 335-345, 1987.

Ruffolo, R. R. Jr., Feuerstein, G. Z.: Pharmacology of carvedilol: rationale for use in hypertension, coronary artery disease, and congestive heart failure. *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 11: S247-256, 1997.

Ruuge, E. K., Ledenev, A. N., Lakomkin, V. L., Konstantinov, A. A., Ksenzenko, M. Y.: Free radical metabolites in myocardium during ischemia and reperfusion. *Am. J. Physiol.*, 261: 81-86, 1991.

Sacks, F. M., Stone, P. H., Gibson, C. M., Silverman, D. I., Rosner, B., Pasternak, R. C.: Controlled trial of fish oil for regression of human coronary atherosclerosis. HARP Research Group. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 25(7): 1492-1498, 1995.

Said, S. I., Berisha, H. I., Pakbaz, H.: Excitotoxicity in the lung: N-Methyl-D-aspartate-induced, nitric oxide-dependent, pulmonary edema is attenuated vasoactive intestinal peptide and by inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 4688-4692, 1996.

Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T.: *Molecular cloning- A laboratory manual*. Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Chapter 9, 1989

Saradeth, T., Seidl, S., Resch, K. L., Schneidl, M., Ernst, E.: Viscometric method for measuring fibrinogen - analysis of recent data. *Clin. Hemorheol.*, 13: 371-374, 1993.

Saynor, R., Gillott, T.: Changes in blood lipids and fibrinogen with a note on safety in a long term study on the effects of n-3 fatty acids in subjects receiving fish oil supplements and followed for seven years. *Lipids*, 27(7): 533-538, 1992.

Scandinavian Simvastatin Survival Group: Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*, 344: 1383, 1994.

- Schjott, J., Brurok, H., Jynge, P., Bjerve, K. S.: Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid diet supplement on tolerance to the cardiotoxicity of epirubicin and to ischaemia reperfusion in the isolated rat heart. *Pharmacol. Toxicol.*, 79(2): 65-72, 1996.
- Schmid-Schönbein, H., Wells, R., Goldstone, I.: Influence of deformability of human red cells upon blood viscosity. *Circ. Res.*, 25: 131-143, 1969.
- Schmid-Schönbein, G. W., Zweifach, B. W.: RBC velocity profiles in arterioles and venules of the rabbit omentum. *Microvasc. Res.*, 10: 153-164, 1975.
- Schmid-Schönbein, G. W., Usami, S., Skalak, R., Chien, S.: The interaction of leukocytes and erythrocytes in capillary and postcapillary vessels. *Microvasc. Res.*, 19: 45-70, 1980.
- Schmid-Schönbein, G. W., Sung, K. L. P., Tözere, H., Skalak, R., Chien, S.: Passive mechanical properties of human leukocytes. *Biophys. J.*, 36: 243-256, 1981.
- Schmid-Schönbein, H.: Fluid dynamics and hemorheology in vivo: The interactions of hemodynamic parameters and hemorheological properties in determining the flow behavior of blood in microvascular networks. In: Kowe, G. D. O., ed. *Clinical blood rheology*. Florida: CRC Press, Inc., 129-219, 1988.
- Seidler, N. W., Jona, I., Vegh, M., Martonosi, A.: Cyclopiazonic acid is a specific inhibitor of the Ca²⁺-ATPase of sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, 264: 17816-17823, 1989.
- Shah, G. M., Poirier, D., Duchaine, C., Brochu, G., Desnoyers, S., Lagueux, J., Verreault, A., Hoflack, J. C., Kirkland, J. B., Poirier, G. G.: Methods for biochemical study of poly(ADP-ribose) metabolism in vitro and in vivo. *Anal. Biochem.*, 227: 1-13, 1995.
- Shakar, S. F., Abraham, W.T., Gilbert, E. M., Robertson, A. D., Lowes, B. D., Zisman, L. S., Ferguson, D. A., Bristow, M. R.: Combined oral positive inotropic and beta-blocker therapy for treatment of refractory class IV heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 31(6): 1336-1340, 1998.

- Shepherd, J., Cobbe, S. M., Ford, I., Isles, C. G., Lorimer, A. R., Macfarlane, P. W., McKillop, J. H., Packard, C. J., for the West of Scotland Coronary Prevention Study Group: Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolaemia. *N. Engl. J. Med.*, 333: 1301-1307, 1995.
- Simbulan Rosenthal, C. M., Rosenthal, D. S., Ding, R., Jackman, J., Smulson, M. E.: Depletion of nuclear poly(ADP-ribose) polymerase by antisense RNA expression: influence on genomic stability, chromatin organization, DNA repair, and DNA replication. *Prog. Nucleic. Acid. Res. Mol. Biol.*, 55: 135-156, 1996.
- Simpson, M. V., Chin, C. D., Keilbaugh, S. A., Lin, T., Rusoff, W. H.: Studies on the inhibition of mitochondrial DNA replication by 3'-azido-3'-deoxythymidine and other dideoxynucleoside analogs which inhibit HIV-1 replication. *Biochem. Pharmacol.*, 38: 1033-1036, 1989.
- Simpson, P. J., Lucchesi, B. R.: Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury. *J. Lab. Clin. Med.*, 110: 13-30, 1987.
- Slater, T. F.: Free radicals as reactive intermediates in tissue injury. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 136: 575-589, 1981.
- Smith, N. A., Kates, R. E., Lebsack, C., Ruder, M. A., Mead, R. H., Bekele, T., Okerholm, R. A., Rubin, G. M., Winkle, R. A.: Clinical pharmacology of intravenous enoximone: pharmacodynamics and pharmacokinetics in patients with heart failure. *Am. Heart J.*, 122(3 Pt 1): 755-763, 1991.
- Snyder, L. M., Fortier, N. L., Trainor, J., Jacobs, J., Leb, L., Lubin, B., Chiu, D., Shohet, S., Mohandas, N.: Effect of hydrogen peroxide exposure on normal human erythrocyte deformability, morphology, surface characteristics, and spectrin-hemoglobin cross-linking. *J. Clin. Invest.*, 76(5): 1971-1977, 1985.
- Sorlie, P. D., Garcia-Palmieri, M. R., Costas, R., Havlik, R. J.: Hematacrit and risk of coronary heart disease. The Puerto Rico Heart Health Program. *Am. Heart J.*, 101: 456-467, 1981.

Stoltz, J. F.: Cardiovascular diseases, risk factors and hemorheological parameters. *Clin. Hemorheol.*, 3: 257-267, 1981.

Strauer, B. E., Bohme, H., Samtleben, W., Volger, E.: Clinical approach to disturbances in microcirculation of the heart. *Clin. Hemorheol.*, 4: 45-66, 1984.

Sumegi, B., Srere, A.: Complex I binds several mitochondrial NAD-coupled dehydrogenases. *J. Biol. Chem.*, 259: 15040-15045, 1984.

Sumegi, B., Melegh, B., Adamovich, K., Trombitas, K.: Cytochrome oxidase deficiency affecting the structure of the myofiber and the shape of cristal membrane. *Clin. Chim. Acta.*, 192: 9-18, 1990.

Sunegi, B., Porpacz, Z., Alkonyi, I.: Kinetic Advantage of the Interaction Between the Fatty Acid β -Oxidation Enzymes and the Complexes of Respiratory Chain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1081: 121-128, 1991.

Suomalainen, A., Paetau, A., Leinonen, H., Majander, A., Peltonen, L., Somer, H.: Inherited idiopathic dilated cardiomyopathy with multiple deletions of mitochondrial DNA. *Lancet*, 340: 1319-1320, 1992.

Supari, F., Ungerer, T., Harrison, D. G., Williams, J. K.: Fish oil treatment decreases superoxide anions in the myocardium and coronary arteries of atherosclerotic monkeys. *Circulation*, 15:91(4): 1123-1128, 1995.

Sweetnam, P. M., Thomas, H. F., Yamell, J. W. G., Beswick, A. D., Baker, A., Elwood, P. C.: Fibrinogen, viscosity and the 10-year incidence of ischemic heart disease: The Caerphilly and Speedwell Studies. *Eur. Heart J.*, 17: 1814-1820, 1996.

Szabados, E., Fischer, M. G., Toth, K., Csete, B., Nemeti, B., Trombitas, K., Habon, T., Endrtei, D., Sumegi, B.: Role of reactive oxygen species and poly-ADP-ribose polymerase in the development of AZT-induced cardiomyopathy in rat. *Free Radic. Biol. Med.*, 26: 309-317, 1999.

- Szabo, C., Zingarelli, B., O'Connor, M., Salzman, A. L.: DNA strand breakage, activation of poly (ADP-ribose) synthetase, and cellular energy depletion are involved in the cytotoxicity of macrophages and smooth muscle cells exposed to peroxynitrite. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93: 1753-1758, 1996.
- Takeda, N., Ota, Y., Tanaka, Y., Shikata, C., Hayashi, Y., Nemoto, S., Tanamura, A., Iwai, T., Nakamura, I.: Myocardial adaptive changes and damage in ischemic heart disease. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 793: 282-288, 1996.
- Tarjan, J., Nagy, L., Liziczai, I., Junger, E.: Arrhythmic effects of intermittent dobutamine therapy in chronic heart disease failure. *Am. J. Ther.* 5(6): 405-411, 1998.
- The CONSENSUS Trial Study Group.: Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure: results of the COoperative North Scandinavian Enalapril SURvival Study (CONSENSUS). *N. Engl. J. Med.*, 316: 1429-1435, 1987.
- The Xamoterol in Severe Heart Failure Study Group.: Xamoterol in severe heart failure. *Lancet*, 336: 1-6, 1990.
- The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet*, 353(9146): 9-13, 1999.
- Thiemermann, C., Bowes, J., Myint, F. P., Vane, J. R.: Inhibition of the activity of poly(ADP ribose) synthetase reduces ischemia-reperfusion injury in the heart and skeletal muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 94: 679-683, 1997.
- Tóth K., Bogár L., Tekeres M.: Clopamid akut és krónikus haemorheológiai hatásának vizsgálata ischaemiás szívbetegségben. *Orv. Hetil.*, 128: 2523-2527, 1987.
- Tóth K., Mezey B., Juricskay I., Bogár L., Jávorski T.: Haemorheológiai paraméterek lehetséges szerepe a cardiológiai differenciál diagnosztikában - különös tekintettel az ischaemiás szívbetegségre és a myocarditisre. *Magyar Belorv. Arch.*, 42: 125, 1989.

Toth, K., Wittmann, I., Past, T., Javor, T., Juricskay, I.: Increase of red blood cell suspension viscosity caused by free radical generator (PMS). *Biorheology*, 26: 643, 1989.

Tóth K., Bogár L., Simor T., Juricskay I., Jávör T.: Haemorheológiai paraméterek alakulása a myocardialis infarctus hospitális szakában. *Orv. Hetil.*, 131: 15-19, 1990a.

Tóth K., Mezey B., Juricskay I., Simor T., Jávör T.: Haemorheológiai paraméterek alakulása a myocardialis infarctust követő fél évben. *Orv. Hetil.*, 131: 727-730, 1990b.

Tóth K., Ernst E., Mezey B., Habon T., Juricskay I., Jávör T.: Omega-3-zsírsvak haemorheológiai hatásai ischaemiás szívbetegségben és hyperlipidaemiában. *Magyar Belorv. Arch.*, 43: 333-337, 1990c.

Toth, K., Ernst, E., Mezey, B., Juricskay, I., Javor, T. Haemorheological effects of omega-3-fatty acids in patients with ischemic heart disease and hyperlipoproteinemia. *Rev. Port. Hemorheol.*, 4: 101-107, 1990d.

Tóth K.: Haemorheológiai vizsgálatok a cardiológiai gyakorlatban. Kandidátusi értekezés, 1990e.

Toth, K., Mezey, B., Juricskay, I., Javor, T. Pattern recognition in evaluation of haemorheological and haemodynamical measurements in the cardiological diagnostics. *Acta Med. Hung.*, 47: 31-42, 1990f.

Toth, K., Habon, T., Horvath, I., Mezey, B., Juricskay, I., Mozsik, G.: Hemorheological and hemodynamical parameters in patients with ischemic heart disease at rest and at peak exercise. *Clin. Hemorheol.*, 14: 329-338, 1994.

Toth, K., Ernst, E., Habon, T., Horvath, I., Juricskay, I., Mozsik, G.: Hemorheological and hemodynamical effects of fish oil (Ameu) in patients with ischemic heart disease and hyperlipoproteinemia. *Clin. Hemorheol.* 15: 867-875, 1995.

Tsinamidvrishvili, B., Beritashvili, N., Mchedlishvili, G.: Further insight into blood rheological disturbances in essential hypertension. *Clin. Hemorheol.*, 15: 697-705, 1994.

- Tzeng, W. F., Lee, J. L., Chiou, T. J.: The role of lipid peroxidation in menadione-mediated toxicity in cardiomyocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 27: 1999-2008, 1995.
- Ungemach, F. R.: Pathobiochemical mechanisms of hepatocellular damage following lipid peroxidation. *Chem. Phys. Lipids*, 45(2-4): 171-205, 1987.
- Uretsky, B. F., Jessup, M., Konstam, M.: Multicenter trial of oral enoximone in patients with moderate to moderately severe congestive heart failure: lack of benefit compared to placebo. *Circulation*, 82: 774-780, 1990.
- Vekasi, J., Toth, K., Juricskay, I., Kovacs B.: The role of hemorheological factors in hypertensive retinopathy. *Clin. Hemorheol.*, 16: 187-192, 1996.
- Vernon, M. W., Heel, R. C., Brogden, R. N.: Enoximone. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential. *Drugs*, 42(6): 997-1017, 1991.
- Volger, E.: Rheological aspects of coronary artery and small blood vessel diseases (Syndrome X). *Clin. Hemorheol.*, 4: 209, 1984.
- Waagstein, F., Bristow, M. R., Swedberg, K.: Beneficial effect of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet*, 342: 1441-1446, 1993.
- Walawender, W. P., Chen, T. Y., Cala, D. F.: An approximate Casson fluid model for tube flow of blood. *Biorheol.*, 12: 111-119, 1975.
- Waller, D. G.: Whole blood viscosity following cardioselective beta-adrenoceptor blockade in hypertension. *Clin. Hemorheol.*, 2: 243-247, 1982.
- Wang, Z. Q., Auer, B., Singl, L., Berghammer, H., Haidacher, D., Schweiger, M.: Mice lacking ADPRT and poly-ADP-ribosylation develop normally but are susceptible to skin disease. *Genes. Dev.*, 9(5): 509-520, 1995.

- Wasil, M., Halliwell, B., Hutchison, D. C., Baum, H.: The antioxidant action of human extracellular fluids. Effect of human serum and its protein components on the inactivation of alpha 1-antitrypsinase by hypochlorous acid and by hydrogen peroxide. *Biochem. J.*, 243(1): 219-223, 1987.
- Whittington, R. B., Harkness, J.: Whole blood viscosity, as determined by plasma viscosity, haematocrit and shear. *Biorheol.*, 19: 175-184, 1982.
- Whittington, R. B., Matrai, A., Nicol, C. G.: Characteristic parameters derived from whole-blood viscometry: their potential utility in the diagnosis and therapy. *Clin. Hemorheol.*, 4: 285-293, 1984.
- Wiedeman, M. P.: Dimensions of blood vessels from distributing artery to collecting vein. *Circ. Res.*, 12: 375-381, 1963.
- Wilhelmsen, L., Svardsudd, K., Korsan-Bengtson, K., Larsson, B., Welin, L., Tibblin, G.: Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, 311: 501-505, 1984.
- Wittmann, I., Past, T., Tapsonyi, Zs., Horváth, T., Jávör T.: In vitro method for measurement of free radical effect of PMS (phenasine methosulphate) on red blood cell membrane. *Acta Phys. Hung.*, 73.: 341-345, 1989.
- Yarnell, J. W., Baker, I. A., Sweetnam, P. M., Bainton, D., O'Brien, J. R., Whitehead, P. J., Elwood, P. C.: Fibrinogen, viscosity, and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease. The Caerphilly and Speedwell collaborative heart disease studies. *Circulation.*, 83: 836-844, 1991.
- Yetiv, J. Z.: Clinical applications of fish oils. *JAMA*, 260: 665-670, 1988.
- Yuan, Y. V., Kitts, D. D., Godin, D. V.: Variations in dietary fat and cholesterol intakes modify antioxidant status of SHR and WKY rats. *J. Nutr.*, 128(10): 1620-1630, 1998.

Yue, T. L., McKenna, P. J., Gu, J. L., Cheng, H. Y., Ruffolo, R. R. Jr., Feuerstein, G. Z.: Carvedilol, a new vasodilating beta adrenoceptor blocker antihypertensive drug, protects endothelial cells from damage initiated by xanthine-xanthine oxidase and neutrophils. *Cardiovasc. Res.*, 28(3): 400-406, 1994a.

Yue, T. L., Lysko, P. G., Barone, F. C., Gu, J. L., Ruffolo, R. R., Feuerstein, G. Z.: Carvedilol, a new antihypertensive drug with unique antioxidant activity: potential role in cerebroprotection. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 738: 230-242, 1994b.

Yue, T. L., Ma, X. L., Wang, X., Romanic, A. M., Liu, G. L., Louden, C., Gu, J. L., Kumar, S., Poste, G., Ruffolo, R. R. Jr Feuerstein, G. Z.: Possible involvement of stress-activated protein kinase signaling pathway and Fas receptor expression in prevention of ischaemia/reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis by carvedilol. *Circ. Res.*, 82(2): 166-174, 1998.

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék ezúton köszönetet mondani mindenkinek, aki munkámat közvetve vagy közvetetten segítette.

Munkahelyi vezetőim közül köszönetet mondok dr. Jávor Tibor egyetemi tanárnak, aki a klinikai munka és szemlélet megismerését tette lehetővé és dr. Mózsik Gyula egyetemi tanárnak, aki mindvégig támogatott tudományos és klinikai munkám során.

Hálával tartozom dr. Nagy Lajos egyetemi tanárnak, aki a tudományos munka, a belgyógyászat szeretetét tanította egyetemi éveim alatt, valamint dr. Mezey Béla főorvosnak, korábbi közvetlen munkahelyi főnökömnek, akitől a kardiológia alapjait tanultam.

Külön köszönetet szeretnék mondani témavezetőmnek, dr. Tóth Kálmán egyetemi docensnek és dr. Juricskay István egyetemi docensnek, akik munkámat mindvégig követték, segítették és aktívan támogatták, egyben barátságukkal is megtiszteltek.

Kiemelkedő támogatást kaptam a POTE Biokémiai Intézetétől, elsősorban dr. Sümegei Balázs egyetemi tanártól, és dr. Szabados Eszter Ph.D. hallgatótól, jelenleg klinikánk orvosától, akik nélkül a dolgozat jelentős részét képező alapkutatások nem készülhettek volna el.

Sok tudományos segítséget kaptam dr. Róth Erzsébet és dr. Hideg Kálmán egyetemi tanároktól.

Köszönöm az I. sz. Belgyógyászati Klinika minden dolgozójának a baráti légkört és segítséget, külön név szerint említve dr. Czopf Lászlót, dr. Késmárky Gábort, dr. Keller Juditot, dr. Endrei Dórát, dr. Halmosi Róbertet és Pavlikné Rigler Klárát.

A dolgozat nem születhetett volna meg, ha nem éreztem volna családom, elsősorban feleségem maximális támogatását.