

**Ph.D. értekezés tézisei**

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

**Írta: Dr. Habon Tamás**

**Témavezető: Dr. Tóth Kálmán**

**Pécs**

**1999**

## I. BEVEZETÉS

A gazdaságilag fejlett országokban 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 vannak. Az 1980-as évek végén az Egyesült Államokban a halálozás közel felét (45.3%-át) a kardiovaszkuláris betegségek okozták. 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. Érdekes kérdés, hogy a fejlett országokban észlelhető halálozás csökkenés mely tényezők változásának következménye. A megelőzés mellett a koronária örök 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 szempontjából a koronáriák szklerózisa, thrombotikus folyamatok, fokozott spazmuskészség emelhető ki, de ismertek egyéb ritkább tényezők is (pl. X szindróma, arteritis, Kawasaki betegség). 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/Becker 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. 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 halálózása 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 még jelenleg is korlátozottak, szívelégtelenség esetén az oki terápia az esetek jelentős részében nem megoldható, így általánosságban elmondható, hogy a betegek jelentős többségét gyógyszeres kombinációkkal kell kezelnünk.

#### A szabadgyökök jelentősége

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

Az oxidoredukciós folyamatok, valamint azok rendellenességei ma ismereteink szerint központi szerepet játszanak az érclmeszesedés kialakulásában, a szívizom-infarktus és az agyi vaszkuláris betegségek többségének létrejöttében. Ezek a folyamatok a szívét ellátó koszorúér rendszer falát alkotó endothel- és simaizomsejtek, valamint a velük szoros működési kapcsolatban lévő vörsejtek (makrofágok, fehérvérsejtek, trombociták, vörösvérsejtek) belsejében és felszínén mennek végbe. A rossz vérellátású szívizomzat sejteiben kóros oxidoredukciós folyamatok zajlanak, melyek során károsodik normális anyagszerjük, fehérjék és lipid összetevőik lényegesen változnak. Hasonló kóros változások a véráramlás helyreállása után a reperfüzió során is létrejönnek. Az alap kórállapot mellett maga a kezelés (gyógyszeres/nem gyógyszeres) is megnövelheti a reaktív oxigén intermedierek (ROI) mennyiségét a szövetekben, ezáltal lipid peroxidációt, protein oxidációt és DNS károsodást okozva. A DNS törésekor aktiválódik a poli-ADP-ribóz

polimeráz (PARP). Ezen enzim fontos szerepet játszik a NAD<sup>+</sup> katabolizmusban és a ROI indukálta sejthalálban.

Az oxigén szabad gyökök és reaktív oxigén intermedierek folyamatosan termelődnek az élő szervezetben, ahol az aerob anyagcsere melléktermékeként az oxigén részleges redukciója során jönnek létre. Különleges jelentőségüket kémiai reakcióképességük adja, mellyel non-enzimatikus 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 ágens céltartan károsítja (monocita - makrofág rendszer és a neutrofil granulociták által közvetített immunitás)

Mivel az élő szervezetekben fiziológiás körülmények között is igen sok szabadgyök keletkezik, a gyökmechanizmusok felett szigorú kontrollnak kell léteznie. A membránokat szerkezetük egyes jellegzetes tulajdonságai részlegesen védelmezik. 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. 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 védnek. Az antioxidánsok a LPO különböző fázisaiban hathatnak: az iniciáció gátlásával, hidroperoxidok keletkezésének gátlásával, hidroperoxidok elbontásával, fémkelátor 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 enzimjei (epoxid-hidroláz, citokrom P<sub>450</sub>) 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 enzimek. Az extracelluláris tér védelmét többek között a cöruoplazmin, transzferrin, bilirubin, glukóz, plazmafahérjék (SH- csoport), hűgysav illetve a C- és E-vitamin adja.

### A hemoreológiai tényezők szerepe

Jól ismert tény, hogy a kardiológiai betegségek egy részében a hemoreológiai paraméterek romlanak. Hosszú ideig vitatott volt, hogy ezen faktorok elsődleges (makerek) avagy csak másodlagos (markerek) szerepet játszanak ezen betegségek kifejlődésében. Az utóbbi húsz évben számos tanulmányt végeztek, amelyek igazolták a hemoreológiai tényezők patofiziológiai szerepét a kardiovaszkuláris kórképekben („Puerto Rico Study”, „Northwick Park Study”, „Caerphilly/Speedwell Study”, „MONICA Project”).

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. 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 szemponjából a hematokritnak döntő szerepe van, a hematokrit szint csökkentése (vérlebcsoptás), majd pótlása plazma illetve plazma pótszerekkel (hemodilúció) a teljes vér viszkozitás csökkenéséhez vezet. A hipervolémias és izovolémias hemodilúció mellett ismert a vazodilatáció indukálta hemodilúció fogalma is. Ez utóbbi mechanizmus szerint csökkentik a vér viszkozitását az értágítók, mint pl. a nitrátok és az alfa-blokkolók. A plazma viszkozitás egyik fő tényezőjének számító fibrinogén szint csökkentése során (streptokináz, urokináz, vipera toxin, plazmaferezis) csökken a plazma viszkozitás, a vvt aggregáció, és ennek következtében a teljes vér viszkozitás is. További lehetőség a vvt deformabilitás növelése (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. A hemoreológiai

tényezőknek fontos szerepük van az emelkedett perifériás rezisztencia fenntartásában, különösen a mikrocirkuláció területén, és a koronária keringés szempontjából is jelentős tényezők lehetnek. A kardiológiai betegek esetén a hiperviszkozitás kezelésének (hemodilúció, plazmaferezis, gyógyszerek) hatása kevésbé alátámasztott mint perifériás vagy cerebrovaszkuláris betegségek esetén. Korábbi vizsgálatok a diuretikumok negatív hemoreológiai hatásairól számoltak be. 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.

## II. CÉLKITŰZÉSEK

Célkitűzéseim az alábbiakban foglalhatók össze:

- Olyan állatkísérletes kardiomiopátia modell kidolgozása, melyen különböző toxikus hatások illetve azok kivédésének lehetőségeit tanulmányozhatjuk.

- Annak megállapítása, hogy az AZT kezelés mellékhatásaiban milyen szerepe van a szabadgyökös reakcióknak, a PARP aktivációnak, és hogy az AZT kezelés milyen változásokat okoz az állatok EKG regisztrátumain.

- Patkányszív Langendorff perfúziója során carvedilol kezeléssel miként védhető ki az iszkémia/reperfúzió okozta oxidatív károsodás és a PARP aktiválódás.

- In vitro reológiai modellben annak igazolása, hogy a PMS által okozott oxidatív vvt membrán károsodás és a következményes reológiai változások csökkenthetők különböző antioxidáns hatású vegyületekkel.

- Nem-invazív módszerekkel kimutatni, hogy refrakter szívelgtelenségben szenvedő betegeken, a rövid ideig adott intravénás pozitív inotrop illetve vazodilatátor hatással bíró foszfodiészteráz-III gátló kezelés kedvező hemodinamikai hatásokkal jár.

- A hemoreológiai faktorok jelentős keringéspatológiai szerepét figyelembe véve, humán vizsgálatokkal igazolni, hogy különböző betegcsoportok kezelése során a gyógyszerek elsődleges hatásaiakon túl, a reológiai és a metabolikus paramétereket is megváltoztatják.

- Annak kimutatása, hogy a kardiológiai betegségekben észlelhető hemoreológiai változások korrelálnak a betegség súlyosságával, valamint az, hogy sokváltozós statisztikai módszerrel a fenti paraméterek változásainak differenciál diagnosztikus jelentősége is van iszkémiás szívbetegség esetén.

### III. ANYAGOK, BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

#### Állatkísérletes vizsgálatok

Növekedésben lévő, 80-100 grammos hím 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.

A Langendorff perfúzió során kifejlett, 300-350 grammos hím Wistar patkányok szívét használtuk. Kontroll állatnak hasonló korú és súlyú patkányokat vizsgáltunk. Az állatokat intraperitoneálisan adott ketamminal (200 mg/kg i.p.) altattuk és hasonló módon bejuttattuk Na-heparinnal (100 IU i.p.) antikoaguláltuk. A szívet kiperaráltuk, majd Langendorff módszere szerint 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 CaCl<sub>2</sub>, 1,2 mM MgSO<sub>4</sub>, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>, 11 mM glukóz és 0,6 mM oktánsav). A kezelt csoport esetén az oldat carvedilol koncentrációja 1 mmol/l volt. A perfúziós rendszert üveg oxigenátoron keresztül 95%-os O<sub>2</sub>, 5%-os CO<sub>2</sub> gázzal áramoltattuk át, a pH-t 7,40-re állítottuk be.

A 15 perces stabilizációs periódust követően a szívet 15 illetve 30 percen keresztül normoxiás körülmények között perfundáltuk, vagy az aorta átáramlás lezárásával 1 órá

globális iszkémiát követően 15 illetve 30 perces reperfüziót alkalmaztunk. Az iszkémiás periódus során a szívet 37 °C-os perfúziós pufferbe merítettük. A fenti folyamatot követően a szívet perfundált, életképes szívet "freeze clamp" módszerrel fagyasztottuk.

#### Elektrokardiogram

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

#### Elektronmikroszkópia

Szívizom darabokat 3% glutáraldehidet tartalmazó 0,1 mól/l, pH 7,0 MOPS pufferbe fixáltuk egy órán keresztül 4°C-on. A fixált szöveteket mostuk, majd 40 mM cacodylate (0,1 M, pH 7,4 foszfát pufferben 4°C-on egy órán át inkubáltuk, majd követően a mintákat etanol gradiensben dehidráltuk. A mintákat araldit rezinnel infiltáltuk, 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.

#### Szubsztrát meghatározás

A szívet „freeze-clamped” fagyasztást követően folyékony nitrogénbe helyeztük. Az ATP, ADP, AMP, kreatin foszfát, kreatin koncentrációk meghatározása HPLC-vel történő 4% perklorosavas extrakciót és KOH-al történt neutralizációt követően. A szabványosított koncentráció kiszámítása azzal a feltételezéssel történt, hogy a citoszólban lévő kreatin kináz ekvilibrumban van és az ekvilibrum konstansa pH 7,4-en 166. A kreatin koncentráció meghatározása a szívizom neutralizált perklorosavas extraktumából metanol dehidrogenáz reakcióval.

### *ROI és peroxinitrit meghatározás*

50 mg szívizmot homogenizáltunk 4°C-on 3 ml 150 mM KCl-ot, 20 mM Triszt, 0.5 mM EDTA-t, 1 mM MgCl<sub>2</sub>-ot, 5 mM glükózt és 0.5 mM oktánsavat tartalmazó pufferben, pH 7.4. A homogenizátumhoz 5 µM dihidrorodamin123-t (DHR) vagy diklorodihydrofluorescein diacetátot (H<sub>2</sub>DCFDA) adtunk és 37°C-on 30 percig inkubáltuk. A reakciót 0.1 M HCl-t tartalmazó 3 ml 70 % jéghideg etanollal állítottuk le. A precipitált proteinek centrifugálással távolítottuk el 3000g-n 15 percig. A szupernatánt NaHCO<sub>3</sub>-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 fluorescein tartalmat határoztuk meg. Langendorff perfúzió során 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 reperfüziót megelőzően adtuk a perfuzátumhoz a DHR-t. A perfúzió végén szíveket "freeze clamp" módszerrel fagyasztottuk. A rhodamine123 kimutatásához, 90 mg szívizmot homogenizáltunk.

### *A fehérje peroxidáció kimutatása*

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

### *"Single -strand" DNS törés kimutatása*

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

### *Lipid peroxidáció detektálása*

A lipid peroxidáció mértékét a tiobarbitursav reaktív anyagok (TBRS) képződésével

ítéltük meg Tzeng és mtsai által leírt módszer módosításával. 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.

### *ADP-ribosiláció 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-ribosilált proteinek anti-ADP-ribóz monoklonális antitesttel és anti-egér IgG peroxidáz komplex-el detektáltuk, majd ECL-el (enhanced chemiluminescencia) vizualizáltuk.

### *Southern blot analízis*

A mtDNS-t normál patkány májból preparáltuk. Radioaktívan jelölt (<sup>32</sup>P) DNS próbát az így preparált mtDNS-ből „random primer” módszerrel készítettünk. Totál DNS-t kontroll és AZT kezelt patkányok szívéből izoláltunk, melyet Sst I-vel emésztettünk, amely linearizálta a mtDNS-t, majd 1.5% agaróz gélen megfuttattuk, nylon membránra (Hybond-N, Amersham) transzferáltuk. Prehibridizáció és hibridizáció <sup>32</sup>P-el jelölt mtDNS-el (Hybond-N) történt. A mtDNS-t - 24-36 órán keresztül, -70°C-on - autoradiográfiával vizualizáltuk.

### *In vitro PARP gátlás izolált enzimen*

A poli-ADP-ribóz polimerázt patkánymájából izoláltuk Shah korábban leírt módszere szerint. A PARP aktivitást 130 µl, 100 mM Trisz-HCl puffert, pH 8.0, 10 mM MgCl<sub>2</sub>-t, 10% glicerolt, 1.5 mM DTT-t, 100 mM [<sup>3</sup>H]-t, NAD<sup>+</sup>-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 fehérjéhez kötött radioaktivitást Beckman szcintilláció számolóval határoztuk meg.

#### *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 (glutámát oxaloacetát transzamináz EC 2.6.1.1) meghatározásával mértük normoxia és iszkémia/reperfúzió során.

#### *Statisztikai értékelés*

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

#### **In-vitro reológiai vizsgálatok**

##### *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.

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<sup>+</sup> és K<sup>+</sup> szintek

meghatározására. Az inkubációs periódus végén a mintákat centrifugáltuk, a vvt-eket 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. 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.

#### **Klinikai vizsgálatok**

##### *Hemoreológiai vizsgálat*

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. A fibrinogénszintet nephelometriás módszerrel határoztuk meg. A mérések szobahőmérsékleten (22 °C), a vérvételtől számítva 3 órán belül történtek.

##### *Ergometria*

Az anamnézist illetve a fizikális vizsgálatot követően nyugalmi 12 elvezetési EKG-t készítettünk, majd Bruce protokoll szerint többlépcsős, maximális, tünethatárolt

ergometriás stressz tesztet végeztünk. Vizsgálatainkat Marquette Case 15 járószalagos rendszeren végeztük, melynek során becsültük a relatív aerob kapacitás (RAC%) értéket, elmeztük a terheléses vérnyomás és frekvencia választ, az ST szakasz változását az esetlegesen észlelhető ritmuszavarokat.

#### Impedancia kardiográfia

A méréseket IKG - ICG M401 ASK készülékkel végeztük. Mértük a verővolumen, percvolumen, percvolumen index, a szisztémás vaszkuláris rezisztencia (SVR), a szisztolés, a diasztolés vérnyomás, artériás középnyomás, szívfrekvencia változását.

#### Enoximon vizsgálata

Vizsgálatunk során intravénás enoximon (Perfan, Marrion Merrel Dow) hatását vizsgáltuk a hemodinamikai paraméterek változására dilatatív kardiomiopátiás betegekben.

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 üregméretek, a szisztolés (frakcionális roströvidülés -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 verővolumen (SV), percvolumen (CO), percvolumen index (CI) voltak. A betegeket impedancia- kardiográfias vizsgálattal (IKG - ICG M401 ASK) az első 60 perc során folyamatosan monitoroztuk. Infúziós pumpával 1 mg/tskg enoximon-t adtunk intravénásan 30 perc alatt, s az EKG-t folyamatosan monitoroztuk. Ismételt

echokardiográfias vizsgálatot végeztünk 60 perc múlva, majd 24 óra múlva RCG, echokardiográfia illetve IKG vizsgálat történt.

#### Nitrát vizsgálata

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 támadáspontú gyógyszert, 10 beteg kapott nitrátot (Nitromint R, Sustac), 6 kalcium-csatorna blokkolót (Corinfar, Baypress), 3 beteg béta-blokkolót (Betoloc, Tenormin) és 6 beteg ACE-gátlót (Tensioamin, Renitec, Lotensin). Azoknál a betegeknél, akik nitrátot kaptak, 48 órás átmeneti, hosszabb hatású nitráttól mentes periódust követően lecsereztük 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, tünelhatárolt ergometriás vizsgálatot végeztünk folyamatos impedancia-kardiográfias monitorozás mellett.

#### Alfa-receptor blokkoló vizsgálata

Tanulmányunkban doxazosin (Cardura, Pfizer) hemoreológiai és hemodinamikai hatásait vizsgáltuk 20 esszenciális hipertóniás betegen (átlagéletkor: 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 (percvolumen és percvolumen index, szisztémás vaszkuláris rezisztencia) paraméterek és plazma lipidszintek változását vizsgáltuk. A méréseket a kezelés kezdete előtt, 1 majd 12 hetes kezelést követően végeztük.

#### Omega-3-zsír sav vizsgálata

Első tanulmányunk során 20 ISZB-s hiperlipidémiás beteget (átlagéletkor: 53±11 év) kezeltünk 2 hónapon keresztül napi 3x2 kapszula Aneu 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 paramétereiket, majd ergometriás vizsgálatot végeztünk.

Második tanulmányunk során hasonló betegcsoportot vizsgáltunk (10 beteg, átlagéletkor: 50±9 év), de az Aneu R-t nagyobb dózisban (nap 5 gramm) alkalmaztuk. Az ergometriás vizsgálatot impedancia-kardiográfiás monitorozással kötöttük egybe, egyébiránt a vizsgálati protokoll a korábbiakkal egyező volt.

#### Lovastatin vizsgálata

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 lipidprofilot.

#### Iszkémiás szívbetegek vizsgálata

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

Az anamnézist illetve a fizikális vizsgálatot követően nyugalmi 12 elvezetéses EKG-t készítettünk, majd Bruce protokoll szerint többlépcsős, maximális, tűnethatárolt ergometriás stressz tesztet végeztünk.

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

#### Dobutamin terheléssel végzett Tl-201 miokardium perfúziós szcintigráfia

Az ergometriát követő 2 héten belül 12 órája antianginás gyógyszert ill. 48 órája  $\beta$ -blokkolót nem szedő betegeken iv. Dobutrex (dobutamin) terheléssel egybekötött

Thallium-201 miokardium perfúziós szcintigráfiát végeztünk. 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 fiziológiás NaCl-al beöblítve. A detektálást három projekcióból, anterior, 40 LAO, 70 LAO, 300.000 impulzus előválasztással MB 9100-es (Ganma) 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.

#### Echokardiográfia

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

#### Statisztikai értékelés

Az eredményeket középérték, SD valamint Student féle "t" próbával értékeltük.

A betegeknél különböző diagnosztikus kategóriákba történő besorolására sokváltozós statisztikai módszert (PRIMA: Pattern Recognition by Independent Multicategory Analysis) alkalmaztunk.

## **IV. EREDMÉNYEK**

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  $\text{NAD}^+$ -ot használ szubsztrátként a poli-ADP-ribóz képződéshez. Kísérleti körülményeink között az AZT kezelés hatására erősen csökkent  $\text{NAD}^+$ -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 deplációján 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  $\text{NAD}^+$  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 kezelés csökkentette, melynek háttérében az alacsonyabb ROI szint és ennek megfelelően a single-strand DNS törések kivédése állhatott. Az alacsonyabb ROI szint magyarázhatja a posztisztkémiás sejtkárosodás csökkenését. Kísérleti körülményeink között a carvedilol kezelés jelentősen csökkentette a lipidperoxidációt, ezáltal a malondialdehid termelést is. Iszkémia/reperfüzió membránkárosodáshoz vezetett, jelentősen növelte a citoplazmatikus enzim-felszabadulást,

melyet a carvedilol részlegesen kivédett.

A protektív hatások háttérében a ROI szint csökkenése mellett csökkent ADP-riboziláció állhat, mely a carvedilol direkt és indirekt hatása is lehet. Poli-ADP-ribóz polimeráz 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 lehetőségeit.

Megállapítottuk, hogy pentoxiphyllin illetve carvedilol részlegesen képes kivédeni a PMS (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) hemodinamikai hatásait vizsgáltuk 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 háttérében 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 vényomás 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-zsír-sav 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 terápia során a szérum összkoleszterin, az LDL-koleszterin, triglicerid illetve a teljes vér viszkozitás szignifikáns csökkenését észleltük, alacsony sebességgradiensű viszkozimetria során. A fenti reológiai változások háttérben 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.

## A TÉMÁBAN MEGJELENT 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 University Press, in press, 1999.

### Közlemények:

1./ Tóth K., Ernst E., Mezey B., Habon T., Juricskay I., Jávör T.: Omega-3-zsír-savak 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 szívbetegségben. 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 (Amcu) 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.*, 52: 73-80, 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. *Clin. Cardiol.*, under publication.

10./ Habon T., Szabados E., Késmárky G., Halmosi R., Past T., Tóth K., Sümegi B.: Carvedilol antioxidans 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., Mózsik, G.: The hemorheologic and hemodynamic effects of Olicard Retard (isosorbide-5-mononitrate) in patients with ischemic heart disease. *Clin. Hemorheol.*, 15: 474, 1995.

10./ Sümegi 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., Sümegi, B., Tóth, K., Németi, B., Trombitás, K., Endrei, D.: Zidovudine induced cardiomyopathy in rat. First International Symposium on Myocardial Cytoprotection, Pécs, 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, Pécs, 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., Sümegi 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.: Haemorheologiai 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 haemorheologiai jelentősége koszorúérbetegségben. Magyar Kardiológusok Társasága 1999. évi Tudományos Kongresszusa, Balatonfüred. Card. Hung., Suppl. 99/2: 66, 1999.

19./ Szabados E., Literáti Nagy P., Sümegi 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., Sümegi B., Mózsik G.: Carvedilol celluláris és rheologiai 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., Jávör 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., Jávör 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., Jávör T.: Haemorheológiai faktorok kóros 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. 3<sup>rd</sup> 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. 3<sup>rd</sup> 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., Késmárky 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./ Késmárky G., Tóth K., Halmosi R., Habon T., Vajda G., Habon L.: Coronaria intervenciók 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. 2<sup>nd</sup> International Symposium on Myocardial Cytoprotection, 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. 2<sup>nd</sup> 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. 2<sup>nd</sup> 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. 2<sup>nd</sup> International Symposium on Myocardial Cytoprotection, Pecs, Hungary. Abstract book: 12, 1998.