

**PhD értekezés**

**Az endothel funkció vizsgálata  
áramlásfüggő dilatáció felhasználásával**

**Írta: Dr. NAGY LAJOS**

**Programvezető: Dr. TÓTH KÁLMÁN**

**Szombathely - Pécs**

**1999**

## Tartalom

	Oldalszám
1. Kutatási téma, célok	3
2. Bevezetés	5
3. Normális endothel funkció	7
4. Az endothel funkciót befolyásoló kórállapotok	24
5. Endothel funkció javításának terápiás lehetőségei:	30
6. Endothel funkció vizsgálati módszerei	35
7. Saját vizsgálatok	39
7.1. Az ÁFD vizsgálattal kapcsolatos módszertani vizsgálatok	41
7.2. Egészséges populáció ÁFD vizsgálata	53
7.3. Esszenciális, korábban kezeletlen hypertoniás betegek endothel funkciója	55
7.4. Oxidatív stressz és endothel funkció	60
7.4.1. DOX kezelésben részesülő hematológiai betegek ÁFD vizsgálata	64
7.5. Endothel diszfunkció gyógyszeres terápiája	75
7.5.1. Benazepril kezelés hatása az ÁFD-ra	75
7.5.2. AT <sub>1</sub> blokkolók hatása az ÁFD-ra	81
7.5.3. Ca <sup>++</sup> antagonisták hatása az endothel funkcióra	84
7.5.3.1. Verapamil hatása az ÁFD-ra esszenciális hypertoniás betegeknél	85
7.5.3.2. Amlodipin hatásának vizsgálata az ÁFD-ra	88
7.5.3.3. Lacidipin hatása az ÁFD-ra	91
8. Összefoglalás:	94
Köszönetnyilvánítás	96
Irodalom	97

## 1. Kutatási téma, célok

Az ischaemiás szivombetegség napjainkban is vezető halálok. A betegséggel kapcsolatos diagnosztikus és terápiás lehetőségek a kórfolyamat előrehaladott stádiumára irányulnak, mikor már jelentős coronaria szűkület áll fent. Az utóbbi évek kutatásai tették egyértelművé, hogy az endothenel diszfunkció a betegség korai stádiuma. Így elméletileg az endothenel diszfunkció diagnosztizálásával a betegséget egy korai, még visszafordítható szakban megállíthatjuk. Az endothenel diszfunkció gyógyítása hipotetikusan megelőzi az atheroszlerózis kialakulását. Mindez persze még bizonyításra vár, de az kétségtelen, hogy a vaszkuláris endothenel az érdeklődés középpontjába került. Ismereteink napról napra bővülnek. Jelen dolgozatomban a vaszkuláris endothenellel kapcsolatos legfontosabb ismeretek összefoglalása után saját vizsgálatainkat ismertetem, amikben igyekeztem olyan kérdéseket megválaszolni, melyekre vonatkozóan nincs irodalmi adat, illetve ahol az irodalmi adatok ellentmondásosak.

Munkacsoportunk hazánkban először kezdte el vizsgálni az endothenel funkciót a klinikumban. Az endothenel funkció megítélésre elsősorban egy nem invazív vizsgálati módszert, az artéria brachialis áramlásfüggő dilatációjának (ÁFD) módszerét használtuk. Az elmúlt hat évben elvégzett vizsgálatok alapján a módszerrel kapcsolatban sok tapasztalatot gyűjtöttünk. Saját vizsgálataim ismertetését ezekkel a módszertani észrevételekkel kezdem. A POTE I. Belklinika Kardiológiai Osztályával közösen elvégzett vér viszkozitással kapcsolatos vizsgálatoknak módszertani és klinikai jelentősége egyaránt van.

Egészséges kontroll csoport mellett különböző kórállapotokban vizsgáltam az endothenelium funkcióját. Kiemelten tanulmányoztam a magas vérnyomást és az oxidatív stresszt jelentő doxorubicin kezelés endothenel funkcióra kifejtett hatását. Az endothenel funkcióval kapcsolatos

szabad gyök mechanizmusokat a POTE Kísérletes Sebészeti Intézetével közösen végzett vizsgálataink során tanulmányoztuk.

Dolgozatom záró részében az endothel funkció terápiais javításának gyógyszeres lehetőségeivel kapcsolatos vizsgálataimat ismertetem.

## 2. Bevezetés

A coronaria sclerosisban szenvedő betegek terápiája hagyományosan a már kialakult szűkület kezelésére irányult, és ez a helyzet napjainkban is. Az elmúlt évtizedben kaptak egyre nagyobb jelentőséget az érfalban lejátszódó dinamikus folyamatok kimutatására irányuló törekvések, különös tekintettel az endothel szerepére. 1980-ban Furchgott és Zawadzky kimutatta, hogy az egészséges endothelből acetilkolin (Ach) hatására vazodilatátor anyag szabadul fel, melyet EDRF-nek (endothel derived relaxing factor) neveztek el [67]. Hamarosan kiderült, hogy ezen anyag a nitrogén oxid (NO), vagy annak származéka. [146]. A NO nem csak vazodilatátor, mely ellensúlyozza az érfalban érvényesülő vazokonstriktor hatásokat, hanem gátolja a thrombocita aggregációt, gátolja a fehérvérsejtek és az endothel interakcióját, a simaizomsajt proliferációt és migrációt [9]. Számos tanulmány igazolta, hogy arteriosclerosisban illetve coronaria sclerosisban szenvedő betegekben a sclerotikus erek vazoreaktivitás zavara áll fenn. Amíg az atherosclerosis általában középkorú embereknél vezet klinikai tünetekhez, addig annak morfológiai jelei már akár 20 éves kor alatt is kimutathatók [190]. Napjainkban már nyilvánvaló, hogy a kóros endothel funkcionak kulcsszerepe van az atherosclerosis kezdeti szakaszában. Az endothel funkció károsodása megelőzi a morfológiai elváltozásokat [15]. A NO védő hatásának csökkenése mellett az endothel diszfunkció egy sor olyan eltéréshez vezethet, melyek elősegíthetik az atherosclerosis kialakulását és progresszióját:

- egyéb vazodilatátor anyagok (endothel derived hyperpolarising factor EDHF, prostacyclin) elválasztásának csökkenése;
- vazokonstriktor anyagok (szabadgyökök, thromboxan, endothelin) fokozott elválasztása;
- felszíni adhéziós molekulák (selectin, VCAM, ICAM) fokozott expressziója melyek a leukociták adhézióját és endothelen keresztüli migrációját eredményezik;

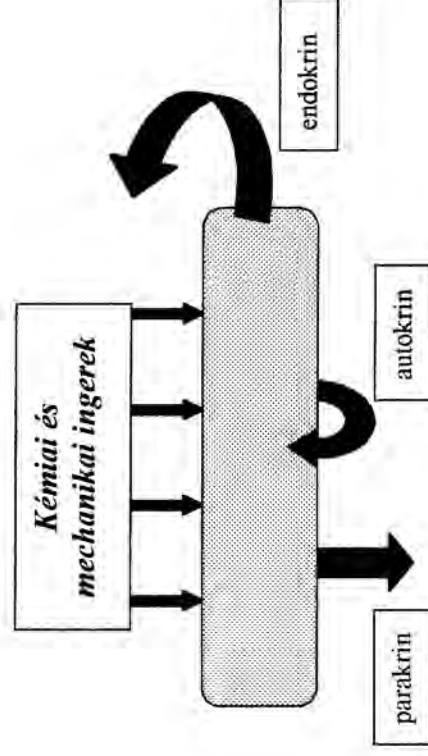
- simaizom növekedési faktorok termelése, melyek a simaizomsejtek proliferációjához és migrációjához vezetnek;
  - kedvezőtlen haemostaseológiai és hemorheológiai változások, úgymint a thrombocita aggregáció fokozódás, a thrombogenesis fokozódása (thrombomodulin elválasztás csökkenése), a fibrinolízis károsodása (PA csökkenés, PAI-1 emelkedés) [15].
- Feltételezhető, hogy a kóros endothel funkció helyreállítása megelőzheti a kardiovaszkuláris betegségek klinikai progresszióját. Jelenleg az életmódbeli változtatások, mint a dohányzás elhagyása, fizikai tréning, a statinokkal elért kifejezett koleszterin csökkenés, az angiotenzin konvertáz enzim gátlók (ACEI) adása bizonyítottan előnyös. Emellett számos terápiás próbálkozás van, mint például a oestrogen pótlás postmenopausalis nőknél, az L- arginin, a  $Ca^{++}$  antagonisták, az antioxidánsok. Ezek kedvező hatását többen tapasztalták, de megfigyeléseik további megerősítésre várnak. Az endothelben és az érfal subendothelialis rétegeiben (simaizomsejtek, fibociták, leukociták) képződött anyagok kapcsolatba lépnek egymással. Mindezek alapján a klinikai kutatás során az endothel funkcióját nehéz, illetve többnyire lehetetlen, az érfal többi elemének funkciójától elválasztani. Így talán pontosabb, ha az endothel funkció helyett vaszkuláris funkcióról beszélünk. A dolgozatban következetesen az endothel funkciót illetve diszfunkciót használom, de kérem az olvasót, hogy a fenti megjegyzést ilyenkor mindig vegye figyelembe.

### 3. Normális endothel funkció

A vaszkuláris endothelről egészen a közelmúltig azt hittük, hogy egy passzív diffúziós barrier képez a vér és a szövetek között. Mára egyértelmű, hogy a vaszkuláris endotheliumnak központi szerepe van a keringési homeosztázis szabályozásában.

A vaszkuláris endothelium összességében a szervezet legnagyobb endokrin, parakrin szerve. A mintegy egytrillió endothel sejt össz tömege kb. 1,8 kg, össz felszíne 6 teniszpályának megfelelő.

Stratégiai elhelyezkedésének megfelelően az endothelium van leginkább kitéve a keringés mechanikai és hormonális ingereinek. A vaszkuláris endothelium, mint egy endokrin, parakrin és autokrin szerv, az öt ért ingerek hatására biológiailag aktív anyagok, elválasztásával válaszol (1. ábra).



1. ábra: Az endothel ért ingerekre adott válaszok

Az endothel által kifejtett hatások természetük alapján négy fő csoportra oszthatók:

- 1./ Értónus szabályozása
- 2./ Gyulladásos folyamatok szabályozása
- 3./ Haemostasis szabályozása
- 4./ Trofikus folyamatok szabályozása.

Ezekre jellemző, hogy az endothel által elválasztott anyagok normális endothel funkció esetén egy egyensúlyi állapotot eredményeznek, mely egyensúlyi állapot kóros endothel funkció esetén kibillen, és ha ez tartósan fennáll, akkor az ér falban beinduló láncreakció eredményeként kóros funkcionális, majd morfológiai eltérés jelentkezik.



### 3.1. Az értónus szabályozása

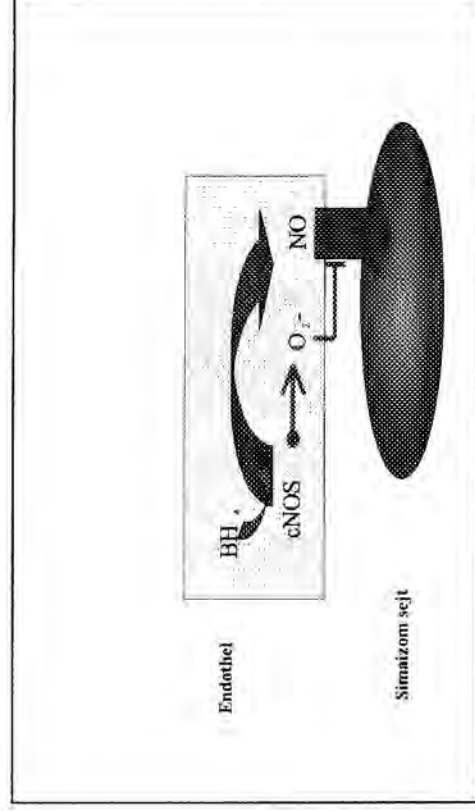
Az endothel egyik fő funkciója az értónus autoregulációs szabályozása vazokonstriktor és vazodilatátor anyagok elválasztásával, melyek az érfali simaizomzatra fejtik ki hatásukat. Furchgott és Zavadzsky is az értónus változását vizsgálta, mikor felfedezte, hogy az endothel ebben aktív szerepet játszik. Kimutatták, hogy intakt endothel kell ahhoz, hogy az ér acetilkolin hatására vazodilatációval válaszoljon [67]. Azóta rengeteg ismeret halmozódott fel, melyet röviden összefoglalok.

#### 3.1.1. Vazodilatátorok

##### 3.1.1.1. Nitrogén oxid (NO)

Az endothel által termelt vazodilatátorok közül a NO-nak döntő jelentősége van. A NO szabad gyök, ami nagyon rövid idő (néhány másodperc) alatt lebomlik. Hatását vagy önállóan, vagy nitrozilálódva fejt ki a simaizomsejtre, ahol stimulálja a solubilis guanilat cyclase enzimet, melynek eredménye a ciklikus guanil monofoszfát (cGMP) szint emelkedése és a következményes simaizomsejt relaxáció. Az endothel sejt a NO-t L-argininből szintetizálja NO-szintáz (NOS) segítségével. A NOS-nak két fő izoformja ismert: az úgynevezett constitutive forma (cNOS) és az úgynevezett indukálható forma (iNOS). Az előbbi  $Ca^{++}$  dependens és az endothelen kívül más szövetekben is megtalálható. Az iNOS a makrofágokban és a neutrofil granulocitákban és a simaizom sejtekben található és  $Ca^{++}$  independens. Ez az enzim a bacterialis endotoxinok vagy cytokinek hatására aktiválódik mikor is nagy mennyiségű NO-t termel és ez által endotoxin shockhoz vezethet. A cNOS a normál endothelben folyamatosan termel NO-t, ezáltal hozzájárul a bazális értónus szabályozásához. [18,207]. A cNOS bizonyos körülmények között az NO termelés mellett szuperoxid aniont is termel. Így például tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) hiányában a cNOS szuperoxid anion termelése fokozódik.

Hyperlipidaemiában alacsony a BH<sub>4</sub> szint, ezért a cNOS maga is hozzájárul a fokozott oxidatív stresszhez. [180,208] (2. ábra). Normál endothel funkció esetén humorális és mechanikai ingerek hatására fokozódik a NO termelés. Ilyen ingerek az acetilkolin, ADP, bradykinin, histamin, thrombin, substance P és a fokozott áramlás miatt keletkező nyírófeszültség. A nyírófeszültség változása úgy tűnik az NO szintézis fő fiziológiai ingere. Az NO a nagy (conduit) artériák, a rezisztencia erek, a kapillárisok és a vénák területén is döntő szerepet játszik az autoregulációban. A NO az értónus közvetlen szabályozása mellett szabályozza a különböző vazokonstriktor faktorok, növekedési faktorok, adhéziós faktorok elválasztását, a trombocita adhéziót és aggregációt, a haemostasist. Az érfalra egyébként jellemző, hogy minden mindennel összefügg, nagyon bonyolult rendszer szerint, melynek eredménye a dinamikus változó aktuális állapot.



2. ábra: Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) a cNOS cofaktora. BH<sub>4</sub> hiányban a NOS által termelt szuperoxid anion mennyisége fokozódik.

### 3.1.1.2. Prostacyclin

Az arachidonsav anyagcsere során az endothelben termelődő anyagok közül a prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) vazodilatátor hatású. Az arachidonsav anyagcsere bonyolult szabályzó mechanizmus

eredménye [198]. A thrombociták és az endothel között az egyes termékek anyagcsereje folyamatos.

### 3.1.1.3. Endothel derived hiperpolarizációs faktor (EDHF)

Az EDHF hatását a simaizomsejtek hiperpolarizációja révén fejtí ki a  $K^+$  csatornák nyitása révén, ami  $K^+$  kiáramlást eredményez. [171].

### 3.1.1.4. Bradykinin

A bradykinin részben direkt, részben endothelfüggő hatásos vazodilatátor. [135,209]. Az endothel is termel bradykinint, ami a  $B_2$  receptorokon keresztül aktiválja a cNOS-t és fokozza a NO szintézist. A vazotónus szabályozása mellett a bradykinin gátolja a thrombocita adhéziót és aggregációt, fokozza a tPA szintézist, gátolja az adhéziós és növekedési faktorok szintézisét.

### 3.1.2. Vazokonstriktorok:

#### 3.1.2.1. Endothelin

Az endothelin (ET), egy 21 aminosavat tartalmazó polypeptid, a jelenleg ismert leghatásosabb vazokonstriktor, az endothel sejtek különböző ingerek hatására termelik. [171]. Ilyenek például a thrombin, interleukin-1, adrenalin, angiotenzin II, arginin, vasopressin. Ezen stimulátor hatások mellett több gátló mechanizmus is ismert. A cGMP dependens gátlást fokozza az NO, és így csökkenti az ET szintézisét. Az endothelből felszabaduló endothelin-1 (ET-1) a simaizomsejteken lévő ET-A és bizonyos mértékig az ET-B receptorok stimulálása révén vazokonstriktót és sejtproliferációt eredményez. Az ET-1 az endothel sejteken lévő ET-B receptorok stimulálásával viszont NO és prostacyclin felszabadulást eredményez és negatív feedback mechanizmussal csökkenti az endothel sejtek ET-1 termelését. [118].

### 3.1.2.2. Angiotenzin II

Az angiotenzin II egy hatásos vazokonstriktor, mely többek között az endothel felszínén lévő ACE hatására termelődik. Az angiotenzin II közvetlenül a simaizomsejten lévő receptorok stimulálása által hat, másrészt az endothel sejten lévő receptorok izgalma révén fokozza az endothelin és a reaktív oxigen speciestek (ROS) szintézisét. Ezen indirekt hatások szintén a vazokonstriktció irányába hatnak. [71,72,74,77]

### 3.1.2.3. Vazokonstriktor prostaglandinok

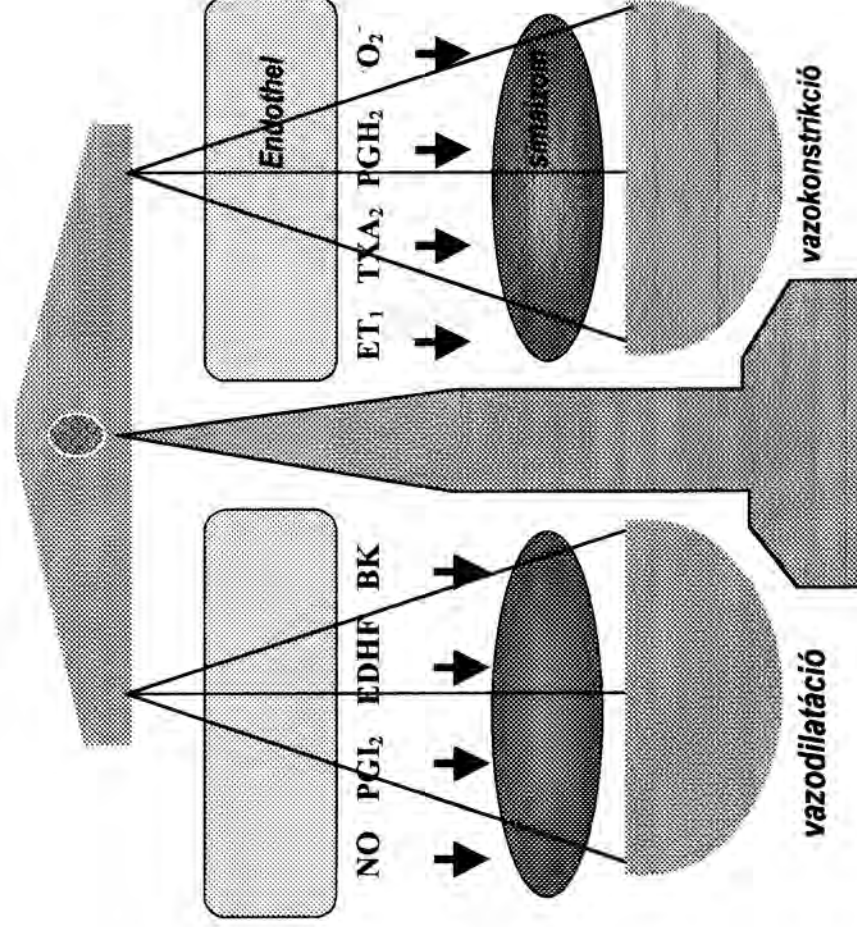
Thromboxan A<sub>2</sub>, a prostaglandin H<sub>2</sub> és az endoperoxidok az arachidonsav anyagcsere termékei, melyek vazokonstriktor hatásúak. A thrombocitákban és az endothelben egyaránt termelődnek.

### 3.1.2.4. Szuperoxid anion és a reaktív oxigen speciestek (ROS)

A szuperoxid anion és egyéb ROS-k a szervezetben lejátszódó minden egyes redox folyamat során kisebb-nagyobb mennyiségben termelődnek. Magában az érfalban, a simaizom sejtekben, az endothelben és a fibrocytákban is jelentős mennyiségű oxidatív szabad gyök képződik. Az endothel oxidatív szabad gyök termelésében több redox reakció is szerepet játszik. A régebben ismert xantin oxidáz és az arachidonsav anyagcsere enzimjei mellett az utóbbi időben vált nyilvánvalóvá a NADH-NADPH dependens oxidázok szerepe az endothelium oxidatív szabadgyök termelésében. A szuperoxid anion és egyéb ROS-k káros hatásukat részben közvetlenül, részben a NO közömbösítése révén fejtik ki [77]. Az oxidatív stressz jelentőségére a későbbiekben, külön fejezetben visszatérek.

Összefoglalva:

Az itt tárgyalt, az endothel által termelt vasoaktív faktorok a kölcsönhatások miatt rendkívül bonyolult rendszert képeznek. Egy faktor szintjének megváltozása átmenetileg kibillentí az egyensúlyt, ami a rendszerben ellenreakciókat vált ki, és ez szerencsés esetben egy új egyensúlyi állapotot eredményez. (3. ábra) Normális endothel funkció esetén az egyensúly zavar gyorsan korrigálódik, ellenben ha az endothel funkció károsodott, akkor visszafordíthatatlan láncreakciók indulhatnak be, melyek többek közt az atherosclerosis kialakulásához vezetnek. Ez az állandó dinamizmus az endothel többi funkciójára is jellemző.



3. ábra: Az endothel által termelt, a vazotónus szabályozásban szerepet játszó fontosabb faktorok közötti egyensúly

### 3.2. Gyulladásos folyamatok szabályozása

Az egészséges endothel által termelt NO és az érfalban termelődött reaktív oxigén gyökök közti egyensúlyra már korábban kitértünk.[77] A fokozott oxidatív stresszel járó kórállapotok ( hyperkoleszterinémia, hypertonia, diabetes mellitus, dohányzás ... ) esetén fokozódik a szuperoxid anionok termelődése. Ha ezt nem tudja ellensúlyozni az NO termelés, akkor az egyensúlyi állapot kórosan megváltozik, aminek az eredménye többek között az LDL oxidációja lesz. A szuperoxid gyökök és az oxidált LDL hatására először nő az endothel sejtekben a nuclear factor kappa B (NFκB) koncentráció, majd az adhéziós molekulák génjeinek stimulációja után fokozódik az endothel által termelt adhéziós molekulák elválasztása. [4, 112, 144]. Az adhéziós molekulák biztosítják a sejtek egymáshoz és az extracelluláris mátrixhoz való kötődését, fontos szerepet játsza a sejtek növekedésében, differenciálódásában, migrációjában. Az élettani szerep mellett e molekuláknak fontos szerepük van a kardiovaszkuláris rendszer betegségeinek pathogenesisében, így az atherosclerosis kialakulásában. Az adhéziós molekulák három fő csoportját különítjük el, az integrineket, szelektineket és az immunglobulin családot. Az egyre több ismert adhéziós molekula közül az érfal gyulladásos folyamataiban talán legjelentősebb, de mindenképpen a leginkább vizsgált molekulák szerepét emelném ki.

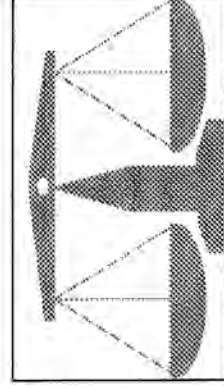
A szelektinek közül az endothelben mutatták ki először az E-szelektint, mely a leukociták és az endothel között laza kötődést eredményez. A leukociták mintegy gördülnek az endothel felszínén és vagy újra visszajutnak a véráramba, vagy erősebb kötődést eredményező kapcsolat révén stabilabban kötődnek az endothelhez. Az endothelhez kötődő leukocyták belépnek az érfalba és ott gyulladásos folyamatot indítanak be. A leukociták és az endothel erősebb kötődését az integrinek és az immunglobulin superfamily tagjai eredményezik, melyek közül az intercellularis adhéziós molekulák ( ICAM 1, 2 és 3 ) és a vaszkuláris sejt adhéziós molekulák

(VCAM 1) emelhetők ki. Az adhéziós molekulák mellett az endothel termeli a monocita chemoattractant protein-1-t (MCP-1), mely a monociták érfalba történő migrációját fokozza. Az érfalba jutott makrofágok cytokineket bocsátanak ki, jelentős mennyiségű szuperoxid aniont termelnek és az oxidált LDL bekebelezése által habos sejtekké alakulnak. A koleszterinnel telítődött habos sejtek összessége az úgynevezett „fatty streak” mely az atherosclerosis első stádiuma. Természetesen e folyamatban is számos más ismert és valószínűleg még több eddig ismeretlen, egymással kölcsönhatásban lévő faktor vesz részt. [4,82,112,144]

### 3.3. Haemostasis szabályozása

Az endothel egy nem adhézív lumeni felszint biztosít az erek belfelületén, melyben antikoaguláns, fibrinolitikus és antithrombotikus hatású faktorok egyaránt szerepet játszanak. A normális funkciójú endothel finom egyensúlyt tart fenn a prokoaguláns és antikoaguláns hatások között.

I. Táblázat: Néhány az endothelium által termelt alvadás irányába és alvadás ellen ható faktor



Alvadást serkentő	Alvadást gátló
vWF	Thrombomodulin
PAI-1	tPA
Thromboxan	Prostacyclin

### 3.3.1. Antithrombotikus és prothrombotikus hatások

Az endothel sejtek heparin-szerű glycosaminoglycan vegyületeket termelnek, melyek az antithrombin III-hoz kötődve inaktívják a coagulatio enzimeket, a thrombint és az aktivált X faktort egyaránt. Az endothel termeli a thrombomodulint is, mely egy membrán receptor. A thrombomodulin-thrombin kötődés a protein C aktivátora. A protein C protein S jelenlétében inaktíválja az aktív V és VIII faktorokat, másrészt a plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) megkötése révén fokozza a fibrinolysist. Döntő részben az endothelium felelős a von Willebrand faktor (vWF) termeléséért és raktározásáért.

### 3.3.2. Fibrinolízis

Az endothel termeli a szöveti plazminogén aktivátort (t-PA), mely egy szerin proteáz inhibitor, ami a plazminogént plazminná alakítja. A t-PA termelést fokozza a stressz, a thrombin, a bradykinin és a cytokinek. Ugyancsak az endothel termeli a PAI-1-t, mely a legkifejezettebb endogén inhibitora a t-PA-nak. A két faktor közötti egyensúlyt az angiotenzin II a thrombosis irányába, az ACE gátlók viszont a fibrinolízis irányába billentik.

### 3.3.3. Thrombocita funkció

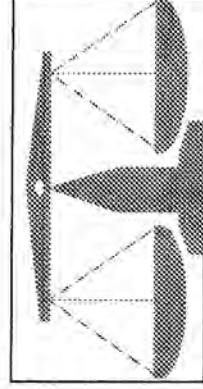
Az endothel funkció jelentős hatással van a trombocita funkcióra. Mind az NO, mind a prostacyclin gátolja a trombocita adhéziót és aggregációt. Az endothel sejtek és a trombociták arachidonsav anyagcsereje között szoros kapcsolat van. Az arachidonsav anyagcsere során a trombocitákban termelődött thromboxan és az endothel által termelt prostacyclin közötti egyensúly mellett az arachidonsav anyagcsere során képződött szabadgyökök is jelentős szerepet játszanak a rendszerben.



### 3.4. Trófikus folyamatok szabályozása

Az endothel többféle faktort választ el, melyek a simaizomsejtek proliferációjára serkentő vagy gátló hatással vannak. [118].

II. táblázat: Érfali simaizomsejt proliferációját serkentő és gátló növekedési faktorok



Proliferációt serkentő növekedési faktorok	Proliferációt gátló növekedési faktorok
Angiotenzin II	NO
Endothelin	Bradykinin
Szuperoxid anion	Prostacyclin
Fibroblaszt növekedési (growth) faktor	Heparan sulfát
Inzulin szerű növekedési faktor	TGF $\beta$
Thrombocita növekedési faktor (PDGF)	

Egészséges viszonyok között a proliferációt elősegítő és gátló faktorok között finom egyensúlyi állapot áll fenn. Endothel diszfunkció esetén a proliferációt elősegítő növekedési faktorok túlsúlya az érfal szerkezetének átalakulását eredményezi, melyet érfali remodellingnek neveznek. [66]. Magas vérnyomás esetén az érfal mediája megvastagodik. [53]. Napjainkig nem eldöntött, hogy magas vérnyomás esetén az endothel diszfunkció az elsődleges, vagy a

magas vérnyomás következményeként alakul ki. Valószínűleg „tyúk-tojás” problémával állunk szemben.

### 3.5. A renin angiotenzin rendszer és az endothel funkció

A renint legelőször a juxtaglomeruláris sejtekben mutatták ki, később tisztázódott, hogy megtalálható az erek falában is, akárcsak a RAS összes komponense. A renin alakítja át az angiotenzinogént angiotenzin I-é (Ang-I), melyet az angiotenzin konvertáz enzim (ACE) alakít tovább angiotenzin II-vé (Ang-II). Az ACE nem játszik kizárólagos szerepet az Ang-II képződésben. [168] A catepsin-G, a tonin, a t-PA és talán a legjelentősebb kimáz enzimek is képesek Ang-II képzésre. [111] Ezen nem ACE mediált Ang-II képzésnek is nagy jelentősége van, főleg pathologias körülmények között. [98]. Erre utal, hogy hosszabb ideig történő ACE gátló kezelés után a kezdetben alacsony Ang II szint emelkedést mutat. [168]. Az ACE az Ang I-Ang II átalakulás mellett a bradykinin inaktiválásáért is felelős, azaz azonos a kinináz II enzimmel. Az ACE tehát szabályozza a vaszkulatura szempontjából kiemelkedő fontosságú két enzim, az angiotenzin II és a bradykinin szintjét is. A szöveti RAS szerepe úgy tűnik még fontosabb mint a keringő komponenseké. Kimutatták, hogy a szervezet ACE készletének 90-99 %-a a szövetekben található és csak kevesebb mint 10 %-a a keringésben. [3,54]. A szöveti RAS tanulmányozását nehezíti, hogy például az itt keletkező Ang-II nem okoz jelentős változást a vérplazma Ang-II szintjében. A szöveti RAS döntően hozzájárul a vaszkuláris tónus szabályozásához egyrészt direkt módon, a simaizom sejteken lévő AT receptorok stimulálása révén, másrészt indirekt módon az endothel funkciójának befolyásolása által hatással van a korábban tárgyalt összes endothelfüggő hatásra.

Az Ang-II octapeptidből a terminális aminosav lehasításával keletkezik az Ang-III heptapeptid. Ismert még az Ang-IV hexapeptid is. Ezen két utóbbi vegyület in vivo szerepe vitatott.

Az Ang-II élettani és terápiás szempontból igen jelentős hatásait a keringési rendszerre és a szervezet só-víz háztartására az AT<sub>1</sub> angiotenzin receptor közvetítésével fejtí ki. Az emberben az AT<sub>1</sub> receptor 359 aminosavból álló fehérje. [69]. Az AT<sub>1</sub> receptor Ang-II kötőhelyének kialakításában a molekula extracelluláris régiói és a membránhélixek vesznek részt. [91]. A receptor aktiválódása során a jelet, melyet a hormon kötődése jelent, feltételezhetően a hélixek átrendeződése közvetíti az intracelluláris molekuláris részek felé. Ezt követően az AT<sub>1</sub> receptor Gq családba tartozó GPT-t kötő fehérjét aktivál, melynek során foszfolipáz C enzim aktiválódása következik be. Ez az enzim a membránban található foszfátidilinozitol-4,5-trifoszfátot hasítja, melynek során két másodlagos hírvívő keletkezik: inozitol-1,4,5-trifoszfát (ITP) és diacilglicerin. Az ITP hatására a sejten belüli raktárakból Ca<sup>++</sup> szabadul fel, a megnövekedett cytoplazma Ca<sup>++</sup> koncentráció hatására létrejön az adott sejtre jellemző válasz. Tartósan emelkedett Ang-II a legtöbb célszervben hypertrophiát és hyperplasiát eredményez, mely hatást szintén az AT<sub>1</sub> receptor közvetíti. [92].

Az AT receptorokhoz szelektíven kötődő antagonisták és agonisták az AT<sub>1</sub> receptorok mellett létező egyéb AT receptorok felfedezéséhez vezettek. Jelenleg az AT<sub>1</sub> receptorok mellett az AT<sub>2</sub> receptorok jelentősége látszik körvonalazódni. Ezen receptorok szöveti eloszlására jellemző, hogy különösen magas az expresszió szintje magzati szövetekben, majd a megszületés után igen gyorsan esik. [70]. Egyes feltételezések szerint az AT<sub>2</sub> receptorok expressziója kóros körülmények között (pl. szívinfarktus, balkamra hypertrophia, PTCA utáni neointima proliferáció) esetén előtérbe kerülhet. [129]. Az AT<sub>2</sub> receptorok jelentősége különösen nagy az AT<sub>1</sub> blokkolók terápiás alkalmazása esetén, amikor - ellentétben az ACE gátlók hatásával - az Ang-II koncentrációja emelkedik a vérben. Ez felveti annak a

lehetőségét, hogy a nem blokkolt AT<sub>2</sub> receptorok izgatása kedvező, vagy akár kedvezőtlen hatásokat eredményezzen.

Az endothel funkciót mind az Ang-II mind a bradykinin döntően befolyásolja. Az ang II fokozza az endothel sejteken lévő angiotenzin receptorok izgatása révén a foszfolipáz A2 és a cyclooxygenáz aktivitását. A prosztaglandinok modulálják az Ang-II hatását.[120] Az Ang-II stimulálja az endothel sejtek endothelin termelését.[119]. Az Ang-II ugyancsak stimulálja az érfalban az endothelben, fibrocytákban és simaizom sejtekben is megtalálható NADH oxidáz aktivitást, mely jelentős ROS felszabadulást eredményez, annak következményeivel.[77]. Az Ang-II és a következményesen fokozott oxidatív stressz vazokonstriktor, gyulladást fokozó, trófikus illetve haemostaseologiai hatását korábban már említettük. A bradykinin fokozza az L arginin-NO átalakulást az endothelben. A bradykinin ugyancsak fokozza a prostaglandinok szintézisét. A bradykinin és a következményesen növekvő NO szint vazodilatátor, thrombocita funkciót gátló, fibrinolizist fokozó és antiproliferatív hatását korábban már említetttem.

Jelenleg a klinikumban két gyógyszercsoport használatos, mely a RAS-t döntően befolyásolja.

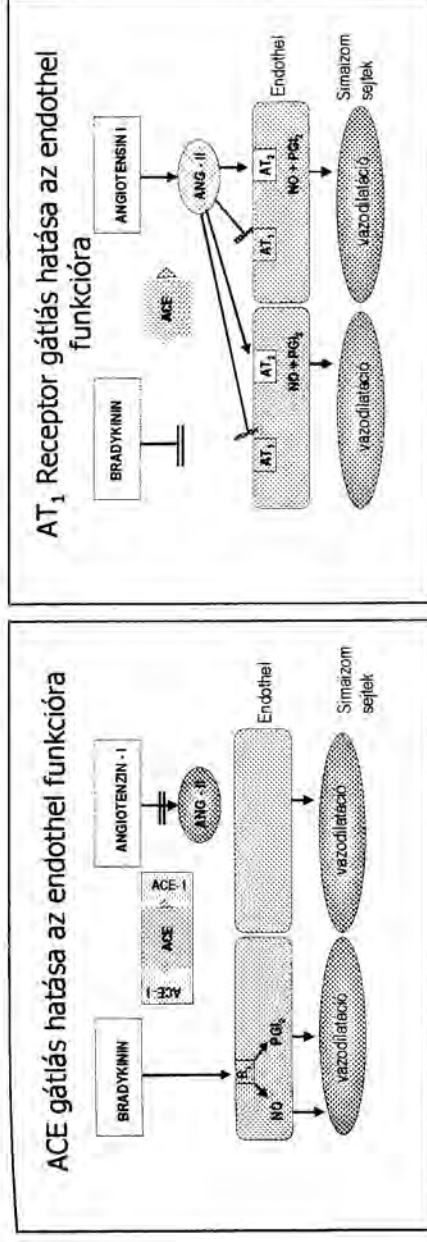
### III. táblázat: Az ACE gátlók és az AT<sub>1</sub> blokkolók közötti legfontosabb különbségek

	ACE gátlók	AT <sub>1</sub> blokkolók
<i>Bradykinin</i>	+++	0+
<i>AT<sub>1</sub> recetor izgalma</i>	---*	---
<i>AT<sub>2</sub> receptor izgalma</i>	---*	+++
<i>AT<sub>x</sub> receptor izgalma</i>	---*	+++

\* az alternatív utak miatt ezek a hatások idővel csökkenhetnek

Az ACE gátlók és az AT<sub>1</sub> blokkolók hatása között jelentős különbség van. A legalapvetőbbek ezek közül a III. táblázatban láthatóak.

A két gyógyszercsoport közötti különbségek miatt az endothel funkcióra való hatás sem azonos, illetve az együttes adásnak is elméletileg létjogosultsága van, melyet további vizsgálatoknak kell tisztázniuk. (4. ábra)



4. ábra: ACE gátlás és AT<sub>1</sub> receptor gátlás hatása az endothel funkcióra.

### 3.6. Az oxidatív stressz és az endothel funkció

Az eddigiekben részben már érintettem a reaktív oxidatív szabad gyökök (ROS) szerepét. Ebben a fejezetben az oxidatív stressz és az endothel funkció kapcsolatát szeretném áttekinteni. Mint azt már említettem fiziológias körülmények között az egészséges endotheliumból felszabaduló faktorok a rendkívül bonyolult kölcsönhatások eredményeként összességében egyensúlyi állapotot eredményeznek. Ha a faktorok közül a NO-t és a szuperoxid aniont ( $\cdot O_2^-$ ) kiemeljük akkor e két faktor között is egy finom egyensúly áll fenn. Az érfaiban termelődő  $\cdot O_2^-$  -t a szuperoxid dizmutáz (SOD) enzimatis úton lebontja. Az NO és a

$\cdot O_2^-$  reakciósebessége azonban mintegy háromszorosa a SOD és a  $\cdot O_2^-$  reakciósebességének. [188]. Ebből is következik, hogy az érfalban lejátszódó NO és  $\cdot O_2^-$  gyök-gyök reakciónak rendkívül fontos biológiai jelentősége van. Az NO és  $\cdot O_2^-$  reakció terméke a peroxinitrit, melyből protonálódás után a rendkívül reaktív hydroxil gyök keletkezik, ami az ismert káros hatásokat, például lipid peroxidációt eredményez.

Az atherosclerosis és annak rizikófaktorai csökkent endothel dependens vaszkuláris relaxációval járnak. De kimutatták, hogy koleszterin dús diétán tartott nyulaknál az aortában nem csökkent, hanem inkább fokozódott az érfal NO termelése. Ezzel ellentétben az NO hatása csökkent, mivel azt a temelődött oxidatív szabad gyökök közömbösítették. [130].

Amennyiben ezek a nyulak SOD-t kaptak, akkor drámai módon megnőtt az endothel függő vazodilatáció az artériákban. Később chemiluminescenciával kimutatták, hogy ezekben a nyulakban a  $\cdot O_2^-$  termelés háromszorosa emelkedett a kontrol állatokhoz képest. [144].

Az endothel  $\cdot O_2^-$  termeléséért az atherosclerosis kezdeti szakaszában a xantin oxidáz (XO) felelős, mely enzim aktivitása oxypurinollal gátlható. Az atherosclerosis előrehaladtával viszont más oxidázok válnak fontosabbá, ezzel párhuzamosan az oxypurinol hatásossága egyre csökken. Az utóbbi 3-4 évben vált ismertté, hogy az érfalban az endothelben, fibrocitákban és a simaizom sejtekben is megtalálható egy membránhoz kötött oxidáz, mely a NADH-t és a NADPH-t használ szubsztrátként az elektron transzferhez. Ezen vaszkuláris NADH oxidáz hasonló a neutrofil granulocitákban az oxidatív „burst”-t eredményező NAD(P)H oxidázhoz, de a hasonlóság mellett néhány alapvető különbség is van e két enzim között. A vaszkuláris NADH oxidáz aktivitása kisebb, szubsztrátként inkább a NADH-t használja mint a NADPH-t. Biológiai szerepe valószínűleg az NO aktivitás modulálása. [77]. Különösen fontos az a tény, hogy a vaszkuláris NADH oxidáz aktivitását az Ang II és néhány cytokin szabályozza, azaz az emelkedett Ang II fokozza a vaszkuláris  $\cdot O_2^-$  termelést. A  $\cdot O_2^-$  és még inkább a NO és

.O<sub>2</sub><sup>-</sup> reakcióterméke a rendkívül reaktív hydroxil gyök lipid peroxidációt, következményes membrán, fehérje és DNS károsodást eredményez. Ezek a reaktív oxidatív szabad gyökök (ROS-k) ugyancsak oxidálják az LDL molekulákat. [80, 147]. Az oxidált LDL illetve a ROS-k az endothel sejtekben NF  $\kappa$  B emelkedést, és ezen jelátviteli mechanizmuson keresztül redox-sensitiv gének expresszióját, VCAM, ICAM, monocyte chemotactic protein- 1 (MCP-1) termelését eredményezik. [20, 124, 162]. Ezek az adhéziós molekulák és a citokinek szintén fontos szerepet játszanak az atherosclerosis folyamatában. Az oxidatív stressz csökkentése, illetve a termelődött ROS-k közömbösítése elméletileg antiatherogen hatású. Ennek a témakörnek a gyakorlati vonatkozásait a későbbiekben, saját vizsgálataim ismertetésekor még részletesen tárgyalom.

#### 4. Az endothel funkciót befolyásoló kórállapotok.

Eddigiekben ismertettem a normál endothel szabályzó szerepét, melynek eredménye az adott pillanatban fennálló értónus és lokális vérárvadékonyság, a leukociták adhéziójának és penetrációjának, a símaizomszövetek hypertrophiájának és hyperplasiájának gátlása. A táblázatban felsorolt kórállapotokban kóros endothel funkció észlelhető, azaz károsodik az egyes kémiai, illetve mechanikai ingerek hatására az egészséges endothel által adott válasz. [105,136,184]

Példaként nézzük acetilkolin (Ach) hatását az értónusra. Az Ach hatására normális endothel funkció esetén vazodilatáció lép fel, melynek mértéke kóros endothel funkció esetén csökken. Súlyosabb esetben, illetve az endothel eltávolítása esetén a válasz vazokonstrukció lesz.

IV. táblázat: Endothel diszfunkcióval járó kórállapotok

Endothel diszfunkcióval járó kórállapotok
Atherosclerosis
Hipertónia
Hiperkoleszterinémia
Dohányzás
Diabetes mellitus /Inzulin rezisztencia
Genetikus predispositio
- Hyperhomocysteinaemia
- Familiaris hiperkoleszterinémia
- ACE genotípus
Idősebb életkor
Férfi nem
Szívelégtelenség

Variancia analízis szerint a fentiek közül az endothel funkciót befolyásoló független változók a következők: koleszterin szint, dohányzás, életkor, férfi nem, pozitív családi anamnézis. [31,190].



## 4.1. Atherosclerosis

Az endothel diszfunkció valószínűleg az atherosclerosis kezdeti stádiuma. Erre utal, hogy az atherosclerosis rizikófaktorai endothel diszfunkcióval járnak már akkor is, mikor az érfalban mophologiai elváltozások még nem alakulnak ki. Az endothel diszfunkció kialakulása fokozatos. Kezdetben az endothel dependens dilatáció mértéke csökken, majd teljesen megszűnik. Az endothel diszfunkció érinti a nagyobb artériákat, a rezisztencia ereket és a vénákat is. Meg kell jegyezni, hogy az endothel diszfunkció mértéke nem egyforma az egyén ereiben. Még egy adott ér különböző szakaszain is eltérések lehetnek [58]. A rezisztencia erek és a nagyobb artériák illetve a coronaria artériák és az artéria brachialis endothel funkciója között a vizsgálok többnyire korrelációt találtak, de az irodalom nem egységes [5,206]. Az endothel diszfunkció a vazodilatátor és vazokonstriktor faktorok közötti egyensúly kisklásával jár. Természetesen nem csak az értónus érintett, hanem a simaizom proliferációt, gyulladást és koagulációt fokozó faktorok túlsúlyba jutása is döntő jelentőségű, főleg az atherosclerosis előrehaladtával. Jól ismert, hogy egy plakkban észlelt makrofágok száma, ha úgy tetszik a gyulladás mértéke, fokozza az adott plakk instabilitását. [196]. Ugyancsak jól ismert az instabil anginában és az akut szívinfarktusban a lokális thrombotikus folyamatok és a lokális vazokonstriktio szerepe. [77].

## 4.2. Hipertónia

Hipertóniában több szerző is kimutatta az endothel funkció károsodását [42,83,103,150] Az endothel diszfunkció kialakulásában a NO termelés, vagy kibocsátás csökkenése mellett a hipertónia okozta oxidatív stressz is szerepet játszik. [4,148,170]. Koller Ákos munkatársaival elegáns kísérleti körülmények között igazolta az emelkedett intraluminális nyomás következtében kialakult fokozott szuperoxid anion termelést. [88]. A hipertóniás betegek egy

része valamilyen vasoaktív kezelést kap. Ezen betegcsoportnál az endothel funkciót természetesen befolyásolja a korábbi antihipertenzív terápia. **Éppen ezért nagy jelentősége van korábban kezeletlen hipertóniás betegcsoport vizsgálatának, mely csoportot mi is tanulmányoztuk.** [136,137]. Továbbra sem tisztázott, hogy az endothel diszfunkció oka vagy következménye a magas vérnyomásnak. [102,121,171].

### 4.3. Hyperlipidaemia:

A hyperlipidaemia hatása talán a leginkább vizsgált az endothel diszfunkció szempontjából. A megfigyelések egy része állatkísérletekből származik. Koleszterindús diétán tartott állatokban endothel diszfunkció alakul ki az atherosclerosis histológiai képeinek megjelenése előtt, mely az atherosclerosis morfológiai képeinek kialakulása után is fennmarad.[62]. Hasonlóan endothel diszfunkció mutatható ki hyperkoleszterinémias emberekben, függetlenül attól, hogy más rizikófaktor jelen van-e.[40,51,216]. Hyperkoleszterinémia esetén észlelt kóros endothel funkció nem a NO termelés csökkenésének, hanem a reaktív oxidatív szabad gyökök (ROS) túltermelésének a következménye.[130]. A fokozott oxidatív stressz az LDL oxidációját fokozza. Az oxidált LDL pedig pozitív feedback útján fokozza az endothel sejtekben a ROS termelését, ezáltal az oxidatív stresszt. Ugyancsak fokozódik az endothelben az adhéziós molekulák és kemotaktikus faktorok szintézise. A helyszínrre érkező macrophagok habos sejtekké alakulnak. Emellett trofikus folyamatok indulnak el a növekedési faktorok termelődése miatt. Ezen folyamat végeredménye az atherosclerosis. Familiáris hyperkoleszterinémiában már kora gyermekkorban jelentősen károsodott endothel funkció mutatható ki.[29]. Bizonyos gének korai atherosclerosis kialakulásához vezetnek, más gének viszont védenek az atherosclerosis kialakulása ellen.[85].

Bár a vizsgálok zöme a hyperkoleszterinémiát tanulmányozta, az utóbbi években igazolódott, hogy a hipertrigliceridémia is az atherosclerosis rizikófaktora.[11]. Zsirdús táplálék

fogyasztása a postprandialis szérum trigliceridszint emelkedés mellett átmeneti kb 4-6 órán át tartó endothel funkció károsodást eredményez egészséges, normokoleszterinémias emberekben. [116,202]. Az antioxidánsok kivédik ezt az átmeneti endothel funkció károsodást, mely az oxidatív mechanizmus szerepét veti fel. [158]. Alacsony zsirtartalmú étel nem befolyásolja az endothel funkciót. Ennek a ténynek módszertani jelentősége is van, miszerint az endothel funkció vizsgálatát standardizált körülmények között, legcélszerűbben éhgyomorral, de semmiképpen sem zsírdús étkezést követően kell végezni.

#### **4.4. Dohányzás**

A rizikófaktorokat illetően a dohányzás káros hatással van az endothel funkcióra, mégpedig dózistól függően. [30]. Lényeges megjegyezni, hogy a passzív dohányosok is veszélyeztetve vannak. [26]. A dohányzást abbagyó csoportnál az endothel funkció jobb, mint az aktív dohányosoknál, ami arra utal, hogy a dohányzás okozta endothel funkció károsodás, legalábbis részben, visszafordítható. A dohányzás endothel funkciót károsító hatásának mechanizmusa nem ismert, de a legvalószínűbb magyarázat szerint a dohányzás fokozza az oxidatív stresszt. [133]. Erre utal az is, hogy dohányosoknál magasabb az oxidált LDL szint. A dohányzás és a magas LDL szint káros hatása szinergista módon érvényesül. [81].

#### **4.5. Diabetes mellitus**

Régóta ismert az a tény, hogy a cukorbetegség az atherosclerosis rizikófaktora. A hyperinsulinemia pathogenetikai szerepét először a hatvanas években vetették fel, mely hipotesist az elmúlt 30 év vizsgálatai messzemenően alátámasztották. [179]. Az insulin fokozza a lipíd szintézist, a koleszterin szintézist, az LDL oxidációját, a monociták-makrofágok és símaizomszövetek oxidált LDL felvételét. Cukorbetegyeknél a vaszkuláris diszfunkció nem csak a

kisereket érinti. Az áramlásfüggő dilatáció vizsgálatával kimutatható endothel funkció károsodás mértéke a betegség fennállásának időtartamával nő! [36]. A cukorbetegség mindkét típusában endothel diszfunkció észlelhető. [36, 127].

#### 4.6. Oestrogen hiány

Epidemiológiai tanulmányok igazolták, hogy az oestrogen pótlás csökkenti a kardiovaszkuláris szövődeményeket postmenopausás nőknél. [176]. Az oestrogen kedvező hatással van a lipíd profilra: emeli a HDL koleszterint, csökkenti az LDL koleszterint és a lipoprotein-a-t. [43, 175]. Emellett az oestrogen pótlás direkt kedvező hatást is kifejt az endothelre, kedvezően befolyásolja a vazomotor tónust, csökkenti a PAI-1 aktivitást. Valószínűleg döntő jelentősége van az antioxidáns hatásnak, mely amellett, hogy csökkenti az LDL oxidációját, csökkenti az NO közömbösítését az érfalban. [210]. Feltűnően jó hatású a hormonpótló kezelés coronaria X szindrómában, ahol csökkent endothel funkció áll fenn normális coronaria anatómia mellett. [166]. Az áramlásfüggő dilatáció mértéke menopausa előtti nőknél a menstruációs ciklustól függően változik. [79].

#### 4.7. Hyperhomocysteinemia

A homocystein egy nagyon reakcióképes aminosav, mely a methioninből keletkezik. A hyperhomocysteinemia egy viszonylag új rizikófaktor, mely korai atherosclerosisra hajlamosít. [95, 185, 212]. Az autosomalis recessiven öröklődő homocystinuria már kora gyermekkorban az endothel függő vazodilatáció károsodásához vezet. [27]. A homocysteinnek kapcsolatban még sok a nyitott kérdés.

#### **4.8. ACE genotípus**

Több tanulmány igazolta, hogy az ACE DD genotípus fokozott szívinfarktus kockázatot jelent. Ez a fokozott kockázat különösen azon betegcsoportnál nyilvánvaló, akiknél a kockázat az egyéb rizikófaktorok szempontjából alacsony. [23,24].

#### **4.9. Életkor**

Az életkor előrehaladtával mindkét nemnél károsodik az endothel funkciója, bár a nők ebből a szempontból is körülbelül egy évtizeddel tovább vannak "védett állapotban". [28]

#### **4.10. Krónikus szívelégtelenség**

A krónikus szívelégtelenségben jellemző a fokozott perifériás ellenállás, melynek oka a perifériás vazokonstrikció és a csökkent vaszkuláris complience. Ebben idegi (emelkedett szimpatikus tónus), humorális (fokozott RAS aktivitás) és az érfalban lejátszódó lokális (vazokonstriktor faktorok túlsúlya) folyamatok egyaránt szerepet játszanak. A bazális NO szintézis nem csökken, sőt inkább emelkedett, de ezt a vazokonstriktor mechanizmusok ellensúlyozzák, sőt az utóbbiak túlsúlya áll fenn. [49]. A conduit artériák endoathel funkcióját egyes szerzők normálisnak találták, mások kórosnak. [12,86].

## 5. Endothel funkció javításának terápiás lehetőségei

Figyelembe véve a már tárgyalt számos tényezőt, mely endothel diszfunkcióhoz vezet, nem meglepő, hogy számos gyógyszeres és nem gyógyszeres lehetőség van az endothel funkció javítására. Ezek közül a jelenleg is rutinszerűen alkalmazott terápiás lehetőségeket az V. táblázat tünteti fel.

*V. táblázat:* Az endothel funkció javításának terápiás lehetőségei

Az endothel funkció javításának lehetőségei
Diéta és életvitel megváltoztatása - Dohányzás elhagyása, fizikai tréning
Lipid csökkentők
Oestrogen terápia (nőknél)
L-Arginin
Folsav
Aspirin
Gén terápia
ACE inhibitorok
AT <sub>1</sub> blokkolók
Ca <sup>++</sup> antagonisták
Antioxidánsok

Az endothel funkció javítását célzó terápiás lehetőségek a vazodilatáció, a gyulladásgátlás, a thrombóziskészség csökkentése és az antiproliferációs hatások irányába hatnak. Vagy az úgynevezett „Jó oldalon” álló faktorok szintézisének és kiválasztásának fokozása, vagy az úgynevezett „Rossz oldalon” álló faktorok szintézisének, illetve kiválasztásának csökkentése a cél. Egy faktor megváltoztatása természetesen a rendszer egészére kihat, és reakciók sorozatát indítja be és eredményeként egy új egyensúlyi állapot jön létre. A reakciók egy része a beavatkozás után másodpercekkel megindul (pl. NO release) de az endothel funkció végleges adaptációja hónapokig eltarthat ( pl. egyes gén regulációk ).

A terápiás beavatkozás eredményének a lemérése sem egyszerű. Ha a monitorozást például egy faktor plazma szintjének változásával végezzük, akkor elméletileg lehet, hogy e faktor változása ugyan kedvező lesz, de a többi faktor változása miatt az adott faktor a rendszer egészére nézve nem reprezentatív. Ha a vaszkuláris tónus változását mérjük, amely számos faktor hatásának eredményét tükrözi, akkor már a rendszer egészét tekintve reprezentatívabb eredményt kapunk, de nem biztos, hogy a gyulladás, a haemostasis és a trófikus folyamatok is ugyanazon irányba változnak.

Jelenleg már sok eredmény ismert a kísérleti és klinikai tanulmányokból. Ezen vizsgálatok egy adott terápia endothel funkcióira kifejtett akut vagy krónikus hatását vizsgálták. Nincs azonban adat arra vonatkozóan, hogy az endothel funkció megváltoztatása hosszabb távon hogyan befolyásolja a kardiovaszkuláris szövődmények gyakoriságát.

Ezek után az irodalom alapján röviden áttekintem az V táblázatban felsorolt terápiás lehetőségek hatását az endothel funkcióra.

### 5.1. Diéta

A magas zsírtartalmú diéta endothel funkciót károsító hatását állatkísérletekben kimutatták. Ugyancsak kimutattott, hogy tartós kísérletes hiperkoleszterinémia következtében kialakult kóros endothel funkció alacsony zsírtartalmú diétával helyreállítható. [76]. Ezzel ellentétben hiperkoleszterinémias embereknél az alacsony zsírtartalmú diéta önmagában nem javította szignifikáns mértékben az endothel funkciót. [6].

A magas L Arginin tartalmú diéta javítja az endothel funkciót. [34,50].

## 5.2. Fizikai tréning

Az elhízás és a testmozgás hiánya hyperinsulinémiát, emelkedett plazma triglycerid szintet, magasabb vérnyomást és csökkent HDL koleszterin szintet eredményez. Az elhízás csökkentése, vagy megelőzése és a fizikai tréning preventív hatása az atherosclerosisra jól ismert. A fizikai tréning javítja az endothel funkciót. [35,102]. Krónikus szívelégtelenségben szenvedőknél a károsodott áramlásfüggő dilatáció fizikai ténnyel javítható. Ennek oka valószínűleg az NO termelés fokozódása. [86]. Módszertani szempontból fontos, hogy az endothel funkció vizsgálata előtt végzett fizikai aktivitás hatással van a vizsgálat eredményére. [39]. Emiatt az endothel funkció vizsgálata előtt legalább 10 perc nyugalom szükséges.

## 5.3. Dohányzás elhagyása

Azoknál a korábban dohányzó egyéneknél, akik a dohányzást abbahagyták, az ÁFD nagyobb mint a jelenleg is dohányzó betegcsoportnál. Ez arra utal, hogy a dohányzás okozta endothel funkció károsodás reverzibilis lehet. [30].

## 5.4. Gyógyszeres terápia

### 5.4.1. Lipid csökkentők

A hiperlipoproteinémiás egyéneknél észlelt endothel funkció károsodás alapján okkal várható, hogy a lipid csökkentő terápia javítja az endothel funkciót. A kérdésben az irodalmat áttekintve konszenzus van. Egyes lipid csökkentőkről valóban kimutatták, hogy javítják az endothelium dependens vazodilatációt. Hat hónapos cholestyramine adás mellett javult a coronariák kóros acetilkolin dependens vazodilatációja. [110].



### HMG-CoA redoktáz inhibitorok

A statinok nagyon hatásosan csökkentik az LDL koleszterint. Számos tanulmány igazolta, hogy a koleszterin csökkentés javítja az endotel funkciót, az atherosclerosis regresszióját eredményezi, csökkenti a cardiovascularis szövődmények gyakoriságát és javítja a túlélést. A lehetséges mechanizmusok a következők:

- 1./ csökken a vascularis tónus részben azért, hogy a koleszterinszint csökkentése csökkenti az oxidatív stresszt
- 2./ csökken az érfalban a gyulladás
- 3./ a lipid mag csökkentése stabilizálja az atherosclerotikus plakkot.
- 4./ kis mértékű bár, de kimutatott a plakk regresszió
- 5./ a koleszterin csökkentése csökkenti a mentális stresszre bekövetkező vascularis reaktivitást. [183].

Hiperkoleszterinémias betegeknél alkalmazott lovastatin javította az endotel-függő vazodilatációt. [55, 191, 203]. Az endotel funkció javulása viszonylag gyorsan bekövetkezik. Mérsékelt hiperkoleszterinémia esetén alkalmazott egy hónapos simvastatin (20 mg/die) kezelés már szignifikánsan javította az endotel függő vazodilatációt, mely javulás a harmadik hónap végén még kifejezettebb volt. [52]. Az oxidatív stressz szerepét hiperkoleszterinemiában az is alátámasztja, hogy statin mellé adott antioxidáns a lovastatin monoterápiánál kifejezettebben javítja az endotel függő vazodilatációt. [6, 181].

Több tanulmány igazolta, hogy a statinokkal elért koleszterin csökkentés csökkentette az ischaemias periódusok számát és időtartamát (total ischaemic burden). [8, 195].

#### **5.4.2. Hormonpótló kezelés**

Több tanulmány igazolta az oestrogen pótlás kedvező hatását az endothel funkcióra menopausa utáni nőknél. Ezen kedvező hatás mind a nagyobb artériákban, mind a rezisztencia erek szintjén érvényesül.[65,113,126].

#### **5.4.3. L-Arginine**

Az L-Arginin az NO prekurzora, így érthető szerepe az endothel funkció javításában. Néhány tanulmány kimutatta, hogy hiperkoleszterinémiasoknál illetve szívelégtelenségben az L-arginin javítja az endothel funkciót. [2,34,41,50]. In vitro tanulmányok igazolták, hogy az L-arginin csökkenti a VCAM-1 expresszióját és ugyancsak csökkenti a thrombociták aggregációját.[192,211].

#### **5.4.4. Fólsav**

A fólsav csökkenti a homocystein szintjét, azáltal, hogy a methionint metabolizáló enzimet indukálja. Hyperhomocysteinémiasoknál 8 hetes fólsav kezelés javította az artéria brachialis endothel-függő dilatációját. [213].

#### **5.4.5. Aspirin**

Újabbban igazolták, hogy az aspirin a thrombocita aggregáció csökkenése mellett javítja az endothel funkciót, valószínűleg a vazokonstriktor prosztaglandinok szintézisének gátlása révén.[93].

#### 5.4.6. Gén terápia

Állatkísérletekben az NO-szintáz gén transzfer után megfigyelt biztató eredmények humán vonatkozású következményeit még korai megítélni. [204].

*Az ACE inhibitorok, ATI blokkolók,  $Ca^{++}$  antagonisták és antioxidáns terápia hatását magunk is tanulmányoztuk tekintettel a máig tisztázatlan kérdésekre. Ezen kérdéseket saját vizsgálataim során részletesen tárgyalom.*

## 6. Endothel funkció vizsgálati módszerei

### 6.1. In vitro vizsgálatok és állatkísérletek

Az endothel funkciót kísérleti körülmények között számosan vizsgálták. [44, 89, 90, 100, 102, 104, 106, 128, 167, 182]. Ezek a kísérletes vizsgálatok standardizált körülmények között, egyetlen faktort változtatva igyekeznek annak hatását lemérni. Jelen elméleti ismerteink nagyrészt ezeken a vizsgálatokon alapulnak. A klinikai kutatás során természetesen ezen elméleti megközelítés nem használható a számos ismert és további, még ismertetlen faktorok rendkívül bonyolult kölcsönhatása miatt. Természetesen a független változók számának csökkentése a lehetséges határig itt is fontos cél.

### 6.2. Humán vizsgálatok

Az endothel funkció *humán in vivo* vizsgálatára többféle módszer áll rendelkezésünkre.

#### 6.2.1. Laboratóriumi vizsgálatok

Rendkívül fontos és rohamosan fejlődő experimentális terület, de a rutinszerű klinikai elterjedésnek több gátja van. A faktorok többnyire abluminalisan szabadulnak fel, a vérszint változása nem tükrözi kellő mértékben a szöveti változásokat. A módszerek érzékenyek, nagy laboratóriumi gyakorlatot igényelnek, esetenként relatíve bonyolult vérvételi, tárolási és feldolgozási technika kívánatos. Nem utolsósorban ezek a módszerek rendkívül drágák. [105]. Egy faktor vizsgálata önmagában többnyire nem elegendő, több faktor együttes, egyidejű vizsgálata célszerű, mely ismét költségnövelő tényező. Ha ezeket a faktorokat lokálisan, például a sinus coronarius vérében vizsgáljuk, akkor a vizsgálat már természetesen invazív.

## 6.2.2. Pletizmográfia

Pletizmográfot használhatunk a véráramlás és a perifériás értónus mérésére. A vizsgálat során intraartériás endothenel stimuláló anyag, általában acetilkolin (Ach) beadása után fellépő változások alapján, indirekt módon becsüljük meg a perifériás rezisztencia erek Ach receptor dependens endothenel funkcióját. [32]. A módszer jól reprodukálható. Hátránya az, hogy az artériás gyógyszerbevitel miatt artéria punkcióra van szükség. Újabban egyes vizsgálok transzdermális bevitellel próbálkoznak

## 6.3.3. Képzelt eljárások:

A klinikai kutatás során az endothenel funkció megítélésének legegyszerűbben használt módszerei az erek átmérőjének változását vizsgálják az endothenel erő különböző humorális (általában acetilkolin) és mechanikai ingerek (magnövelt áramlás) hatására. Normális endothenel funkció esetén észlelt vazodilatátor válasz észlelehető, kóros endothenel funkció esetén, például atherosclerosisban, Ach hatására a coronaria artériák vazokonstriktója következik be. [115].

### 6.3.3.1. Invazív módszerek:

Artéria coronariák vizsgálatánál a kvantitatív coronarographiát használják az érátmérő változásának pontos megítéléséhez. Ezen módszerrel coronaria sclerosisban, illetve annak rizikófaktorai fennállása esetén kóros endothenel funkció mutatható ki az artéria coronariákban. [201]. A coronarographia invazív és költséges volta lehetetlenné teszi az atherosclerosis hosszú preklinikai fázisa alatt az endothenel funkció rutinszerű vizsgálatát ezzel a módszerrel.

### 6.3.3.2. Nem invazív módszerek:

A 90-s évek elején fejlesztettek ki egy olyan nem invazív technikát, mely a végtag artériák, felnőtteknél az artéria brachialis, endothenel függő dilatációját nagy felbontású ultrahang kép segítségével vizsgálja. [29]. Az alkar leszorítását, majd a leszorítás felengedését követő

átmenetileg megemelkedett véráramlás normál endothen funkció esetén az artéria dilatációját eredményezi. Az elvégzett in vivo kísérletek, melyeket NO termelés antagonistáinak adása mellett végeztek, arra utalnak, hogy ezen megnövekedett áramlás okozta dilatáció ( **flow mediated dilatation** = **FMD**, *magyar megfelelője áramlásfüggő dilatáció ÁFD*) emberben elsősorban az adott artéria endothenjének NO termelésétől függ. [97]. Ugyancsak igazolták, hogy az artéria brachialis és az artéria coronariák endothen-függő vazodilatációja között szoros a korreláció. [193]. Az ÁFD vizsgálata napjainkig az egyetlen rutinszerűen használható, viszonylag olcsó, nem invazív endothen funkciós vizsgálat.

**Ezzel a módszerrel hazánkban munkacsoportunk elsőként kezdte el tanulmányozni az endothen funkciót. [136, 184]. Dolgozatomban ezt a módszert, a vele szerzett tapasztalataimat, az eredményeket, és alkalmazási területeit tárgyalom.**

## 7. Saját vizsgálatok

Először az ÁFD vizsgálattal kapcsolatos módszertani jelentőségű eredményeimet és észrevételeimet ismertetem.

Az irodalomban a metodikát áttekintve feltűnő, hogy az áramlási sebesség fokozódását a különböző vizsgálok fontosnak találták, viszont a nyírófeszültség másik meghatározója, a *viszkozitás* nincs megemlítve a klinikai vizsgálatokban. Emiatt vizsgáltunk meg egy klinikai modellt képző betegcsoporton a viszkozitás változásának hatását az ÁFD-ra. A viszkozitás módszertani jelentőségével kapcsolatosak a transzfúzióra szorult krónikus anémiás betegcsoporttal kapcsolatos megfigyelések, emiatt ezt a vizsgálatot is a módszertannál ismertetem, bár didaktikai szempontból a kórállapotoknál is tárgyalható lenne.

Ezt követően az **egészséges kontroll** csoport vizsgálati eredményei kerülnek ismertetésre. Itt célokom volt az artéria brachialis nyugalmi átmérője és az áramlásfüggő dilatáció között összefüggés megállapítása is, mivel az irodalomban tisztán egészséges személyeket tartalmazó csoportra vonatkozó ilyen adat nincs.

Az endothel funkció, amint korábban tárgyaltuk, számos **kórállapotban** károsodott. Ezek közül a hipertóniás betegeket vizsgáltam részletesebben, különös tekintettel a korábban kezeletlen betegekre. Az egyes antihipertenzív terápiák különböző mértékben befolyásolják az endothel funkciót. Ezen endothel funkcióra gyakorolt hatások egy része hosszabb idő alatt alakul ki, és feltételezhetően hosszabb ideig meg is marad az adott gyógyszer elhagyása után. Hosszú ideig gyógyszermentesen hagyni hipertóniás beteget etikailag kérdéses. Emiatt van nagy jelentősége az általunk megvizsgált korábban kezeletlen magas vérnyomásos betegcsoportnak. Ugyancsak itt kerülnek ismertetésre a cytosztatikus kezelés alatt álló haemathologiai betegekkal kapcsolatos vizsgálatok, melyek az **oxidatív stressz** és az endothel

funkció soktényezős kapcsolatrendszerét érintik. A doxorubicin okozta oxidatív stressz megítélése, illetve az egyes betegek közti egyéni különbségek alapján történő differenciálás lehetősége motiválta ezen vizsgálataimat

Az **endothel funkció javítására**, amint azt szintén már ismertettem, többféle lehetőség kínálkozik. Ezek közül az ACE inhibitorok, az AT<sub>1</sub> blokkolók, a Ca<sup>++</sup> antagonisták szerepét tanulmányoztam. Az egyes terápiák hatását az endothel funkcióra, mint láttuk, sokan vizsgálták. Az ACE inhibitorok körüli irodalmi ellentmondásokat, az egyes szerek közti különbség fontosságát említettem. A benazepriilt más munkacsoportok előttünk nem vizsgálták ilyen betegcsoportban. Az AT<sub>1</sub> receptor blokkolók endothel funkcióra kifejtett hatásának vizsgálatát a már említett elméleti kérdések tisztázása teszi szükségessé. Ez annál is inkább fontos, mert várhatóan az ACE inhibitorok által okozott köhögés miatt jelentős számú betegnél kerül majd bevezetésre az AT<sub>1</sub> blokkolók valamelyike. A Ca<sup>++</sup> antagonisták megítélése nem egységes az endothel funkció szempontjából. Három szert is vizsgáltunk. A lacidipin vizsgálata részben érinti az oxidatív stressz és az endothel funkció kapcsolatát.



## 7.1. Az ÁFD vizsgálattal kapcsolatos módszertani vizsgálatok

### 7.1.1. Áramlásfüggő Dilatáció (ÁFD) vizsgálatának módszere:

Az ÁFD-t Celermajer módszere szerint mértük. [29]. A vizsgálatokra 10 perc ágynyugalom után fekvő pozícióban levő betegeknek került sor. A beteg jobb karjának artéria brachialisáról 7,5-10 MHz-s frekvenciájú longitudinális transducerrel (Hewlett-Packard Sonos 2000 illetve Sonos 100) hosszanti képet nyertünk. [154]. A közeli és távoli érfal media-adventicia határai (u.n. "m" vonalak) közötti távolságot vettük az ér átmérőjének. Az áramlás sebességét az ér középvonalában, 60-70 fokos dőlésszöggel, 1 mm-s Doppler kapuval mértük.

A mérések helye a könyökhajlat felett 2-1,5 cm-rel volt, ott, ahol az artériáról a legjobb minőségű képet kaptuk. Nagy hangsúlyt fektettünk arra, hogy a legnagyobb érátmérőt nyerjük.

Miután nyugalmi állapotban az artéria brachialis átmérőjét és áramlását detektáltuk, az alkaron a vérnyomásmérő mandzsettáját 240 Hgmm-re felfújtuk, mellyel 4,5 percig az alkart leszorítottuk. A leszorítás utolsó 10 másodpercében és a felengedés után 15 másodpercig a centrális áramlást rögzítettük (reaktív hiperémia). A felengedés után 45 és 60 másodperc között mértük az ér átmérőjét. Ezen átmérők közül a három legnagyobb átlaga adta a hiperémia alatti érátmérőt.

Ezt követően 10 percet vártunk, míg a nyugalmi állapot visszatér, majd 0,4 mg sublingualis nitrát spray után félpercenként detektáltuk az ér átmérőjét. A három legnagyobb érték átlaga adta a nitrát utáni érátmérőt. A méréseket mindig utólag videomagnó felvétel alapján végeztük el. Az egyes átmérők mindig három mérés átlagából adódnak. Az átmérőket R hullám kapuzva mértük, azaz azonos ciklusban, ami a cikluson belüli átmérő változásokat kiküszöböli, ezzel együtt mérsékli az eltérő compliance hatását. A nyugalmi és a hiperémia

alatti átlagos Doppler áramlási sebességet mindig 5 egymást követő szívciklus átlaga alapján ítéltük meg.

A 4,5 percig tartó alkar leszorítás felengedése után az artéria brachialisban átmenetileg megemelkedett áramlási sebesség, normális endothen funkció esetén, az artéria ugyancsak átmeneti kitágulását eredményezi (endothen függő dilatáció).

Az endothen funkcióra a következő paraméterekből következtettünk.

- 1. Az áramlásfüggő dilatáció (ÁFD):** a reaktív hiperémia okozta átmérő változás a nyugalmi érátmérőhöz képest, százalékban kifejezve (endothen függő dilatáció).
- 2. ÁFD/NITRÁT hányados:** a reaktív hiperémia és a nitrát okozta tágulás hányadosa százalékban kifejezve (endothen függő dilatáció és az endothenlől független dilatáció aránya).

### 7.1.2. Reprodukálhatóság:

Az alkalmazott módszer reprodukálhatóságát többen megvizsgálták, amit mi is hasonlóan jónak találtunk. Az artéria brachialis hiperémiát követő dilatációjának variabilitását 1,5%-nak találtuk. [29-31]. Két független vizsgáló közötti variabilitás nálunk 1,9% (0-8%) volt. [136].

### 7.1.3. Hol alkalmazzuk a kompressziót?

Technikai szempontból fontos, hogy az ÁFD vizsgálatát egyes munkacsoportok más-más módszerrel végzik. Döntő különbségnek tartjuk, hogy a leszorítás a vizsgálati hely alatt, vagy felett történik. [29-31, 38, 67]. Európában az előbbi, míg Amerikában az utóbbi módszert használják. Mindkét fél makacsul ragaszkodik az általa használt módszerhez. Ezen kérdést 5 egészséges személyen tanulmányoztuk.

### Vizsgálati csoport és módszer.

5 egészséges önkéntes személyt vizsgáltunk. Átlagéletkor  $31 \pm 8,8$  év.

A vizsgált személyeknél először az alkart szorítottuk le 4,5 percig, majd a felengedés után 25 másodpercig az áramlási sebességet rögzítettük, ezt követően folyamatosan az artéria brachialis átmérőjét és 10 másodpercenként a centrális áramlási sebességet rögzítettük a videón.

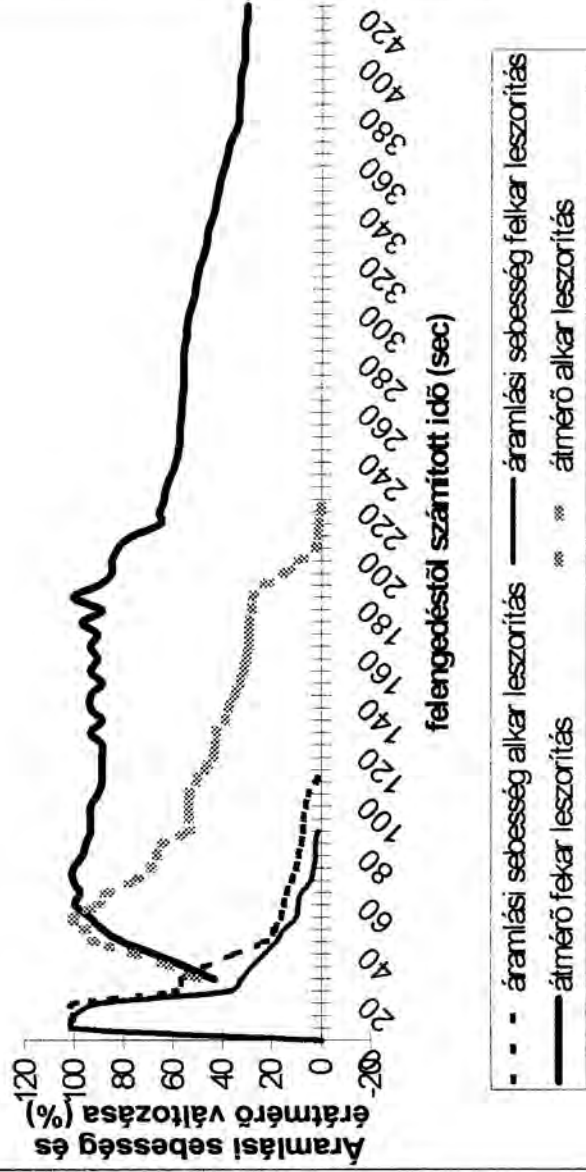
Egy óra múlva a vizsgálatot a másik karon megismételtük, de most a vizsgálati hely felett alkalmaztuk a felkar leszorítását 4,5 percig. A felengedés után ismét rögzítettük az artéria brachialis centrális áramlási sebességének és átmérőjének változását a felengedéstől számított idő függvényében. Az áramlási sebesség és az artéria brachialis átmérőjének változását a maximális érték %-ban tüntettük fel (a kiindulási értéket 0 %-nak, a felengedés utáni maximális sebesség illetve átmérő értékeket 100 %-nak véve).

### Eredmények:

Az áramlási sebesség és az átmérő változásait az 5. ábrán láthatjuk. Az átlagos *áramlási sebesség* változásának dinamikája az alsó és felső leszorításnál hasonló volt. A leszorítás felengedése után átmenetileg jelentősen, mintegy 5-7 szeresére növekedett áramlási sebesség a felengedéstől számított 100 másodpercen belül visszatért a kiindulási értékhez, akár az alkart, akár a felkart szorítottuk le. Az átmérő változásának dinamikája viszont jelentősen különbözött a kétféle módszernél. A felkar leszorításánál lényegesen elhúzódóbb volt az ér tágulása, mint az alkar leszorításánál.

A felkar leszorításakor a tágulás mértéke valamivel nagyobb volt  $14,2 \pm 3,9\%$ , mint az alkar leszorításakor:  $10,5 \pm 3,5\%$ .

### Áramlási sebesség és az érátmérő változásának dinamikája alkar és felkar leszorítás esetén



5. ábra: Az artéria brachialis centrális áramlási sebesség és az átmérő változásának dinamikája a mérési hely alatti (alkar) leszorítás, és a mérési hely feletti (felkar) leszorítás felengedése után eltelt idő függvényében öt egészséges személynél.

#### Megbeszélés

Eredményeink alapján véleményem a következő. Ha a vizsgálati hely felett történik a leszorítás, akkor a vizsgálati hely a leszorítás alatti ischaemias, emiatt az érreakciót a leszorítás alatti ischaemia illetve annak következményei is befolyásolják. Ha a leszorítást az alkaron alkalmazzuk, akkor a vizsgálati hely nem ischaemias, így az érreakciót csak a megnövekedett áramlási sebesség provokálja. Valószínűleg mind az alkar, mind a felkar esetén alkalmazott leszorítás után kialakult artéria brachialis dilatáció mértéke bizonyos mértékig jellemző az endothel funkcióra. Viszont eredményeink azt mutatják, hogy az alkar leszorítás esetén az

áramlás változásának dinamikáját sokkal jobban közelíti az érátmérő változásának dinamikája. (lásd 5. ábra). Az áramlásfüggő dilatáció létrejöttében a nagyon gyorsan lebomló NO-nak van döntő szerepe. Az alkar leszorítás esetén a felengedés utáni relatív hiperémia időtartamát nem haladja meg jelentősen az átmeneti értágulat időtartama. A felkar leszorítás esetén viszont a hiperémia időtartamánál jóval hosszabb ideig tartó értágulat következik be.

Következésképpen, ha áramlásfüggő dilatációról beszélünk, akkor helyesebb az alkar leszorítását alkalmazni. A felkar leszorítását követő tágulat, az átmeneti hiperémiához képest eltérő (elnyújtottabb) időtartama miatt, nem is annyira áramlásfüggő. A felkar leszorításánál a nagyon rövid életidejű NO mellett más faktorok is szerepet kell, hogy játszanak, melyek az áramlási sebesség változásához képest jóval elnyújtottabb, és nagyobb mértékű értágulatot eredményeznek. Ilyenek nyilván, többek között, az ischaemia során felhalmozódott anyagcsere termékek. Ezek alapján a felkar leszorítás utáni artéria brachialis átmérő változást már nem helyes áramlásfüggő dilatácónak nevezni. Helyesebb lehet az áramlás és ischaemia függő dilatáció kifejezés.

Véleményem szerint ha áramlásfüggő dilatációról beszélünk, akkor nem szerencsés, ha az éreakcióban az ischaemia is szerepet játszik, ezek alapján választottuk a Celemajer által leírt alkar leszorítási módszert. [29]. A későbbiekben mindenképpen metodikai egyeztetés lenne kívánatos az Atlanti óceán két partja között.

### 7.1.3. Érdemes-e bonyolultabbá tenni, ami viszonylag egyszerű?

Az ÁFD módszerét az irodalomban rendszeresen használó vizsgálok módszertani leírásánál az endothel ért inger nagyságát az adott artérián a leszorítás felengedése utáni hiperémiás időszakban percenként átáramló vérmennyiség nyugalmi véráramláshoz viszonyított növekedésével jellemezték. A vérmennyiséget a centralis áramlási sebesség és az érkeresztmetszet szorzatából számították. [29-31,38,67].

(1. képlet)                      véráramlás ( $Q$ )  $\approx$  centrális áramlási sebesség ( $v$ ) \*  $r^2 \pi$

Az endothelt ért inger nagysága azonban nem az éren átáramlott vérmennyiség, hanem a nyírófeszültség változásával jellemezhető. [104]. Amíg a képlet (1. képlet) alapján számított véráramlás az érsugár négyzetével egyenes arányban növekszik, addig az endothelt ért nyírófeszültség ( $\tau$ ) az ér sugarával valójában fordított arányban változik (ld 2. képlet).

(2.képlet)                      nyírófeszültség( $\tau$ )  $\approx$  viszkozitás( $\eta$ )\* sebesség gradiens ( $dv/dr$ )

Ebből következik, hogy a centrális áramlás sebességének változása jobban jellemzi az endothelt ért inger (nyírófeszültség) nagyságát, mint a (1.képlet) alapján származtatott átáramlott vérmennyiség megváltozása a hiperémia alatt, így ezen számítás elvégzése nem csak felesleges, hanem le is von az áramlási sebesség változásának értékéből. A jövőben ennek figyelembe vételét javasoljuk.

#### 7.1.4. Viszkozitás változásának hatása az ÁFD-ra.

Van-e a viszkozitás változásának jelentősége az önkontrollos ÁFD vizsgálatok eredményének értékelésekor? Amíg a vizsgálok az endothelt ért inger nagyságának jellemzésekor az áramlás növekedését figyelembe veszik, addig a viszkozitás szerepét egyáltalán nem említik. Kérdés, hogy a viszkozitás esetleges változása valóban elhanyagolható-e? Mint azt a 2. képletből is látjuk (46. Oldal), a nyírófeszültség egyrészt az áramlási sebesség gradiens változásával, másrészt az áramló folyadék viszkozitásával arányos. Az in vitro vizsgálatok igazolták, hogy akár az áramló folyadék sebességének, akár viszkozitásának növelése az ér endothel függő dilatációját eredményezi. [104]. In vivo állatkísérletekben az in vitro körülményeknél

összetettebb mechanizmusok érvényesülnek. Erre utal, hogy a hematokrit változtatásával elért viszkozitás változása nem eredményezett konzisztens értónus és áramlásváltozást. [89,167]. A viszkozitás és az áramlás függő dilatació kapcsolatának in vivo humán vizsgálatáról nem tudunk. Ezen kérdés gyakorlati jelentősége az, hogy az egyes betegeknel ismételten elvégzett ÁFD vizsgálatok eredményét a két mérés között bekövetkezett esetleges viszkozitás változás befolyásolja-e? Mászóval az ÁFD változását valóban az endothel funkció változásának tulajdoníthatjuk-e? A viszkozitás és az ÁFD összefüggését magunk is tanulmányoztuk. Ehhez egy olyan krónikus anémia miatt transzfúzióra szoruló betegcsoportot választottunk, mint vizsgálati modellt, kiknél transzfúzió adása következtében változott a vér viszkozitása.

#### Betegek és módszer:

A vér viszkozitásának hatását az artéria brachialis áramlás-függő dilataciójára olyan krónikus anémiás betegeknel vizsgáltuk, akik kifejezett szubjektív panaszok miatt transzfúzióra szorultak a kórházi felvételt követően. 10 beteg közül 8 nő és 2 férfibeteg volt. Átlagéletkor  $50,9 \pm 16,6$  év. Az anémia oka 8 esetben krónikus gastrointestinalis vagy nőgyógyászati eredetű vérvesztés, 1 esetben tumor, 1 esetben haemolysis volt. A betegeknel a felvétel után a következő labor vizsgálatokat végeztük el: hemoglobin (Hgb), hematokrit (Htk), vörösvértest szám (vvt), fehérvérsejt szám (fvs), thrombocita (thc), plazma viszkozitás, se koleszterin (chol), triglicerid (trigl), fibrinogén, összféhérije, karbamid nitrogén (CN), kreatinin. Ugyancsak elvégeztük az áramlásfüggő dilatació (ÁFD) vizsgálatát a korábban már ismertetett módszer szerint. [29].

Ezt követően a betegek transzfúziót kaptak. Az átlagos vérigény 4 egység vvt koncentrátum volt. A transzfúzió után a fenti labor vizsgálatokat és az ÁFD vizsgálatot megismételtük. Az eredményeket átlag  $\pm$  SD formában adtuk meg. A statisztikai számításokat egymintás student t próbával végeztük.  $P < 0,05$  szintet tekintettük szignifikánsnak.

### Eredmények

A transzfúzió előtti és a transzfúziót követő laboratóriumi paramétereket a VI. táblázatban tüntettük fel.

A táblázatból kiemelendő, hogy a transzfúzió hatására a teljes vér viszkozitás emelkedését eredményező változások történtek. Szignifikáns mértékben a Hb, Htk, vvt szám emelkedett, a koleszterin szint gyengébb szignifikanciával, de ugyancsak emelkedett a transzfúzió után.

VI. Táblázat A transzfúzió előtti és utáni paraméterek összehasonlítása

*Az eredmények átlag  $\pm$  SD formában vannak feltüntetve*

	Transzfúzió előtti érték	Transzfúzió utáni érték	
Hgb (mmol/l)	4,15 $\pm$ 0,7	6,39 $\pm$ 0,85	p < 0,001
Vvt (T/l)	2,81 $\pm$ 0,83	3,98 $\pm$ 0,83	p < 0,001
Htk (%)	24,1 $\pm$ 2,4	33,8 $\pm$ 3,3	p < 0,001
Fvs (G/l)	5,71 $\pm$ 2,9	5,6 $\pm$ 1,56	n.s.
The (G/l)	252 $\pm$ 186	226 $\pm$ 107	n.s.
Se. össz. fehérje (g/l)	61,4 $\pm$ 9,3	66,1 $\pm$ 11,9	n.s.
Fibrinogén (g/l)	3,94 $\pm$ 1,6	4,11 $\pm$ 1,7	n.s.
Plazma viszkozitás (mPas)	1,30 $\pm$ 0,08	1,2 $\pm$ 0,07	n.s.
Se CN (mmol/l)	5,1 $\pm$ 1,7	5,3 $\pm$ 1,5	n.s.
Se kreatinin (umol/l)	73 $\pm$ 7,8	88 $\pm$ 42	n.s.
Se chol ((mmol/l)	3,45 $\pm$ 1,01	3,89 $\pm$ 0,84	p < 0,05
Se trigl (mmol/l)	1,15 $\pm$ 0,3	1,28 $\pm$ 0,27	n.s.



Az áramlásfüggő dilatáció vizsgálatának eredményét a VII. táblázatban tüntettük fel. A betegek anémia alatt mért átlagos érátmérője  $3,94 \pm 0,7$  mm, áramlásfüggő dilatációja  $11,6 \pm 4,3$  %, artéria brachialis átlagos nyugalmi centrális áramlási sebessége  $34,8 \pm 11,1$  cm/sec, hiperémia alatti áramlási sebessége  $140,2 \pm 28,8$  cm/sec.

*VII. táblázat Az ÁFD vizsgálat eredményeinek összevetése transfúzió előtt és után.*

*(Az eredmények átlag  $\pm$  SD formában vannak feltüntetve)*

	Anémia alatt	Transzfúzió után	
Alap artéria brachialis átmérő (mm)	$3,94 \pm 0,70$	$3,95 \pm 0,69$	n.s
Áramlásfüggő dilatáció ÁFD (%)	$11,5 \pm 4,3$	$9,7 \pm 4,6$	n.s.
Nyugalmi áramlási sebesség (cm/sec)	$34,8 \pm 11,1$	$23,9 \pm 5,7$	$p < 0,05$
Hyperémia alatti áramlási sebesség (cm/s)	$140,2 \pm 28,8$	$110,3 \pm 28,9$	$p < 0,01$
Hyperaemia alatti áramlási sebesség és a nyugalmi áramlási sebesség különbsége (cm/s)	$107,3 \pm 23,8$	$86,4 \pm 25,9$	$p < 0,02$

Az anémia korrigálása utáni átlagos érátmérő  $3,95 \pm 0,69$  mm, áramlásfüggő dilatáció  $9,7 \pm 4,6$  %, artéria brachialis nyugalmi centrális áramlási sebessége  $23,9 \pm 5,7$  cm/sec, hiperémia alatti áramlási sebessége  $110,3 \pm 28,9$  cm/sec volt.

A VII. táblázatból látszik, hogy mind a nyugalmi, mind a hiperémia alatti centrális áramlási sebesség nagyobb az anémia alatt, mint az anémia rendezése után. Ugyancsak szignifikánsan nagyobb a hiperémia okozta áramlási sebesség növekedésének nagysága az anémia alatt, az

anémia korrekciója utáni állapothoz képest. Az áramlásfüggő dilatáció értékében nincs szignifikáns különbség az anémia alatt és annak rendezése után.

#### Következtetések

A viszkozitás változásának hatását az endothel függő dilatációra elsősorban a rezisztencia ereken, arteriolákban vizsgálták. A viszkozitás növelése által okozott nyírófeszültség növekedés endothel függő dilatációt eredményez izolált patkány cremaster arteriolákban, melyet az endothelben termelt prosztaglandinok és NO együttesen hoznak létre. [104]. Kutya és egyéb állatok coronaria arterioláiban azonban valószínű, hogy a közvetítő faktor kizárólag NO. [106, 182]. Humán coronaria arteriolákban is azt találták, hogy a közvetítő faktor főleg a nitrogén monoxid. [100]. A vér viszkozitás fontos szerepet játszik a perifériás ellenállás illetve a szöveti véráramlás szabályozásában. Nagyobb ereken a viszkozitás növelése kísérleti körülmények között szintén az áramlás-függő dilatáció növekedéséhez vezet. [90]. A vér viszkozitás hatását az artériák áramlás-függő dilatációjára az általunk használt módszerrel in vivo embereken is lehet tanulmányozni. [136]. Munkacsoportunk szignifikáns haematokrit változást okozó transzfúzió hatására bekövetkező vérviszkozitás változás hatását vizsgálta az áramlásfüggő dilatációra. A vér viszkozitását jellemző adatok közül a haematokrit, a vvt szám és a hemoglobin értéke változott számottevően a transzfúzió hatására, mely faktorok a teljes vér viszkozitás döntő determinánsai. A transzfúzió hatására az artéria brachialisban a centrális áramlási sebesség mind nyugalomban, mind a hiperémia alatt szignifikánsan csökkent. A transzfúzió hatására bekövetkező viszkozitás és áramlási sebesség változás ellenkező hatással van az érfal endothelet érő nyírófeszültség nagyságára. Az ismert képletből (2.képlet) látható, hogy a viszkozitás növekedése növeli, a sebesség gradiens csökkenése pedig csökkenti az érfalára ható nyírófeszültséget.

(2.képlet)  $\text{nyirófeszültség}(\tau) \approx \text{viszkozitás}(\eta) * \text{sebesség gradiens} (dv/dr)$

Beteginknél is ez történt, azaz a viszkozitás növekedését a véráramlási sebesség, ezzel együtt a sebesség gradiens csökkenése kísérte a transzfúzió adását követően. Eredményeink alapján e két hatás kiegyenlíti egymást. Tétélezzük fel, hogy az endothel funkció a transzfúzió adása előtt és után közel azonos az egyes betegeknél, azaz a transzfúzió adása nem okoz az artéria endotheljének válaszkészségében érdemi változást. Ha ez igaz, akkor az áramlásfüggő dilatació értéke az endothel ért inger, azaz a nyirófeszültség nagyságától függ (3.képlet).

(3.képlet)  $\text{ÁFD} \approx \text{nyirófeszültség}(\tau) \approx \text{viszkozitás}(\eta) * \text{sebesség gradiens} (dv/dr)$

Márpedig eredményeink alapján az áramlásfüggő dilatació nem változott érdemileg a transzfúzió hatására. Tehát a 3.képlet alapján feltételezhető, hogy a nyirófeszültséget sem változtatta meg a transzfúzió. Azt mondhatjuk, hogy az áramlásfüggő dilatació értéke az aktuális haematokrit értéktől illetve vér viszkozitás értéktől független, mivel az anémia alatti emelkedett áramlási sebesség és az alacsonyabb vér viszkozitás hatása az artéria endotheljére nagyjából és egészében kiegyenlíti egymást.

In vitro vizsgálatoknak kétségtelen előnyük, hogy kísérleti körülmények között ki tudják emelni a komplex hatások közül azt az egyet, melyet tanulmányoznak. Ezen kísérletek célja, hogy a kiválasztott hatást a többi faktor változásából adódó hatás nélkül vizsgálják. Ez viszont a kísérletek in vivo vonatkoztatásánál figyelembe veendő. In vivo a nyirófeszültség változása mellett a transzmurális nyomás, a parenchimális anyagcsere változása, az endothel felszínén bekövetkező változások és egyéb jelátviteli mechanizmusok is befolyásolják az áramlás-függő dilatació mértékét.

A választott beteganyag csak egy minta a viszkozitás és az endothel funkció összefüggésének vizsgálatára. Az áramlásfüggő dilatació az endothel funkció vizsgálatának egy olyan elfogadott in vivo módszere, mely komplex hatások eredményeként létrejövő érreakció alapján következtet az endothel vazomotor funkciójára. Természetesen az anémia, illetve a transzfúzió okozta humoralis változások, a kapott eredményt befolyásolhatják. A mindennapi gyakorlatban az önkontrollos ÁFD vizsgálati módszert általában olyan személyeknél illetve csoportoknál használjuk, kiknél a viszkozitás illetve a hematokrit variabilitása kisebb (akár elhanyagolható) a jelen vizsgálati csoporthoz képest. Ezen kisebb viszkozitásbeli eltéréseknek feltételezhetően szintén nincs signifikáns hatásuk az áramlásfüggő dilatacióra. Természetesen ez nem azt jelenti, hogy a vér viszkozitás változásának nincs hatása az endothel ért inger nagyságára, de ezen in vivo endothel funkciós vizsgálatnál, krónikus anémiás betegcsoportban a viszkozitás változását a sebesség gradiens változása kiegyenlíti illetve fordítja.

Krónikus anémiás betegeket vizsgáltunk, melyek természetesen különböznek az akut anémiás betegcsoporttól. Ezen utóbbi betegcsoportnak a gyakorlat szempontjából talán kisebb a jelentősége, hiszen átmeneti szituációról van szó. Akut anémiában az anyagcsere változásaiból adódó hatásoknak valószínűleg nagyobb szerepük van. [138, 139]

## 7.2. Egészséges populáció ÁFD vizsgálata:

Egészséges egyének áramlásfüggő dilatációját Celemajer és munkatársai részletesen tanulmányozták. [29-31]. Hasonló vizsgálatot mi is végeztünk 30 egészséges emberen, akik részben főiskolai hallgatók voltak, részben olyan páciensek, kiknél nem igazolódott cardiovascularis betegség illetve rizikófaktor. Ezen személyek jellemzői (átlagéletkor  $34,5 \pm 12,8$  év, 15 nő - 15 férfi).

Ezen vizsgált személyek jellemzőit a VIII. táblázat mutatja.

VIII. táblázat: 30 egészséges kontroll személy jellemzői

(Átmérő=arteria brachialis nyugalmi átmérője, ÁFD=áramlásfüggő dilatáció, NITRAT= 0,4 mg nitrát spray utáni endotheltől független dilatáció, ÁFD/NITRAT= az előző kettő hányadosa)

	Átlag	Minimum	Maximum	SD
ÉLETKOR (év)	34,47	19,00	57,00	12,94
ÁTMÉRŐ (mm)	3,62	2,38	4,92	0,78
ÁFD (%)	11,92	5,30	26,05	4,34
NITRÁT (%)	19,59	12,90	24,93	4,10
ÁFD/NITR (%)	52,94	29,41	67,69	9,67

A vizsgált artéria nyugalmi átmérőjének döntő jelentősége van a vazodilatátor válasz szempontjából. Amikor ÁFD vizsgálatot végzünk, a vizsgált csoportnál ezt figyelembe kell venni. Az ÁFD és a nyugalmi ératérő között negatív korreláció van ( $r = - 3,9$ ) azaz a

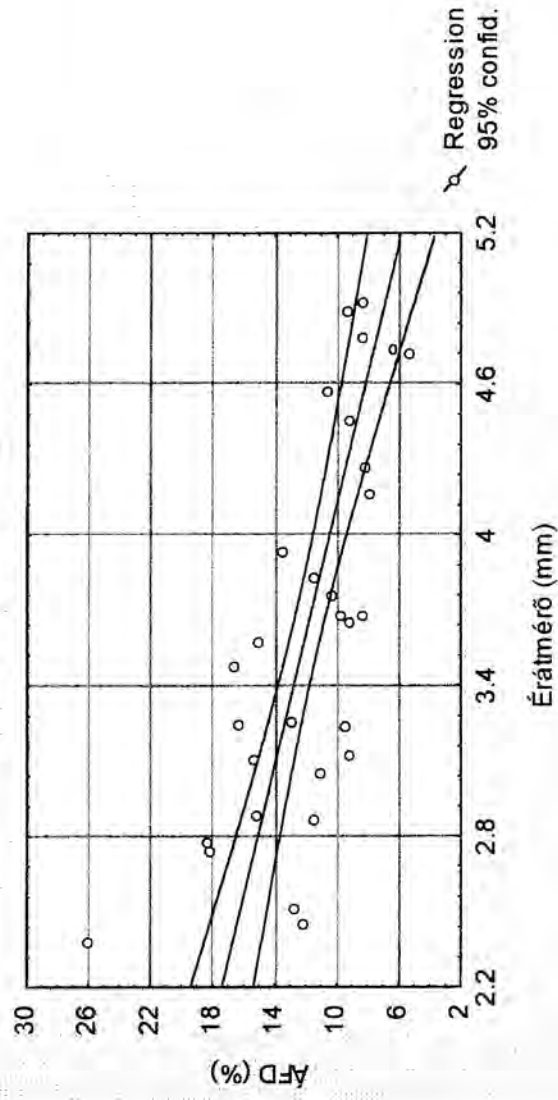
nagyobb átmérőjű artériák egészséges egyéneknél is kisebb relatív tágulékonyságot mutatnak a hiperémia alatt. (6. ábra). Ez a módszer bizonyos korlátait is mutatja. 6 mm-nél nagyobb nyugalmi átmérőjű ereknél egészséges viszonyok között is olyan alacsony az áramlásfüggő dilatáció mértéke, hogy nem lehet az egészséges és kóros viszonyokat érdemben az ÁFD szempontjából megkülönböztetni. Az általunk vizsgált egészséges kontroll egyének nyugalmi érátmérője  $3,62 \pm 0,78$  mm volt, mely mellett  $11,9 \pm 5,3$  %-s ÁFD-t találtunk.

6. ábra

Egészséges populáció nyugalmi érátmérőjének és az ÁFD-nak az összefüggése

$$\text{ÁFD (\%)} = 25,873 - 3,851 * \text{Érátmérő (mm)}$$

Correlation:  $r = -0,6903$



Ezen egészséges csoportot a későbbiekben, mint kontroll csoportot használtuk fel a statisztikai összehasonlítások során.

### 7.3. Esszenciális, korábban kezeletlen, hipertóniás betegek endothel funkciója

Korábban már tárgyaltuk, hogy a vizsgálok többsége hipertóniás betegeknel károsodott endothel funkciót talált, de az irodalom nem teljesen egységes.[42,83,103,150,197]. Abban a kérdésben, hogy az endothel funkció oka, vagy inkább következménye a hipertóniának szintén eltérők a vélemények.[140,197]. A legtöbb hipertóniás beteg már valamilyen előkezelésben részesült. A vérnyomáscsökkentő szerek végleges hatása az endothel funkcióra lassan alakul ki (4-8 hét), emiatt feltételezhető, hogy a szerek elhagyásuk után tartósan érzetetik hatásukat az endothel funkcióra. Emiatt nagyon fontos a korábban kezeletlen betegcsoport vizsgálata, mely a következő tanulmány célja.

#### Betegek

A vizsgálatba eredetileg 50 korábban kezeletlen enyhe és közepes súlyos hipertóniás beteget vontunk be. 19 nő és 31 férfibeteg, átlagéletkor  $42 \pm 13$ , 1 év. A betegek jellemzőit a IX. táblázat mutatja. Kizárási kritériumnak tekintettük a szekunder hipertóniát, a cukorbetegséget, dohányzást. A rutin klinikai vizsgálatok mellett betegeinknél a korábban tárgyalt módszer szerint elvégeztük az ÁFD vizsgálatát.

A vizsgálatnak két fő célja volt.

- Korábban kezeletlen esszenciális hipertóniás betegcsoport endothel funkciójának összehasonlítása az egészséges kontroll csoporttal
- Annak vizsgálata, hogy mely faktorok felelősek a hipertóniás betegeknel az endothel funkcióban található egyéni különbségekért

A statisztikai elemzéseket kétféleképpen végeztük el, t-próbával, ANOVA teszttel és multivariancia analízissel végeztük.

### Eredmények

A vizsgálati eredményeket szintén a IX. táblázat tünteti fel.

IX. táblázat: Korábban kezeletlen hipertóniás betegcsoport jellemzői és ÁFD vizsgálatának eredménye.

	Átlag	Minimum	Maximum	SD
KOR (év)	42,00	18,00	65,00	13,12
RR (SYST) (Hgmm)	168,81	140,00	210,00	16,02
RR (DIAST)	103,10	80,00	120,00	7,96
KOLESZTERIN (mmol/l)	5,67	3,00	8,80	1,13
KREATININ (umol/l)	89,74	70,00	127,00	12,22
ÉR ÁTMÉRŐ (mm)	4,15	2,64	6,62	0,73
ÁFD (%)	5,86	-1,82	14,25	3,79
NITRÁT utáni dilatació (%)	19,35	5,41	41,16	6,54
ÁFD/NITRÁT (%)	28,71	-27,78	66,15	17,75

Az átlagos szisztolés vérnyomás  $168,8 \pm 16$  Hgmm, a diasztolés vérnyomás  $103,5 \pm 8$  Hgmm volt. Az artéria brachialis átlagos átmérőjét az alapvizsgálatnál  $4,15 \pm 0,73$  mm-nek, az átlagos ÁFD-t  $5,86 \pm 3,79$  %-nak találtuk. Az egyéni különbségek jelentősek voltak. Amíg 25 betegnél kifejezetten csökkent az ÁFD értéke (<5%), addig a másik 25 betegnél relative normális (azaz 5 % feletti) ÁFD- t találtunk.

Megvizsgáltuk, hogy a hipertóniás betegcsoport, hogy viszonyul a korábban ismertetett egészséges kontroll csoporthoz. Mind az ÁFD mind az ÁFD/Nitrát arány szignifikánsan



alacsonyabb volt a hipertóniás betegcsoportban, mint az egészséges kontroll csoportnál (ÁFD:  $5,86 \pm 3,79\%$  vs  $11,92 \pm 4,34\%$   $p < 0,0001$ ; ÁFD/NITRÁT arány:  $28,7 \pm 17,8\%$  vs  $52,9 \pm 9,8\%$   $p < 0,0001$ ). A hipertóniás betegcsoport idősebb volt, mint a kontroll csoport.

Multivariancia analízis szerint az ÁFD és az ÁFD/Nitrát arány csökkenése a hipertóniás betegcsoportban az életkortól függetlenül alacsonyabb a kontroll csoporthoz képest.

A hipertóniás betegek az ÁFD értékeiben mutatókozó jelentős egyéni különbségek alapján két csoportra oszthatók. 25 betegnél 5% alatt volt az ÁFD, míg a betegek másik felénél 5 % felett.

Megvizsgáltuk, hogy a csökkent ÁFD-t mutató csoport az egyéb vizsgált paraméterek szempontjából hogyan viszonyul az 5% feletti, azaz normális, ÁFD-t mutató csoporthoz.

*X. táblázat* Normális és csökkent ÁFD-t mutató hipertóniás betegek összehasonlítása

	csökkent ÁFD < 5%	Normális ÁFD > 5%	Szignifikancia
Életkor (év)	$42,9 \pm 13,4$	$41,47 \pm 13$	ns
Férfi / Nő arány (%)	17/8	14/11	ns
Vérnyomás (Hgmm)	$171/104 \pm 18/9$	$167/102 \pm 14/7$	ns
Koleszterin (mmol/l)	$5,6 \pm 1,2$	$5,8 \pm 1,1$	ns
Nyugalmi artéria brachialis ÁFD (%)	$4,3 \pm 0,7$	$4,0 \pm 0,7$	ns
ÁFD (%)	$3 \pm 1,9$	$8,7 \pm 3$	$p < 0,0001$
Nitrát utáni dilatació (%)	$17,3 \pm 6,8$	$21,3 \pm 5,8$	$p = 0,032$
ÁFD/Nitrát (%)	$16,7 \pm 14,5$	$40,7 \pm 11,5$	$p < 0,0001$

A két csoportnál az aktuális vérnyomásérték, az életkor, nem, tenzió, vérzsírok, a nyugalmi artéria brachialis átmérő, koleszterin és szemfenéki elváltozás tekintetében nem volt érdemi különbség (X. táblázat). Az ÁFD és az ÁFD/Nitrát arány erősen szignifikáns különbsége mellett a nitrát okozta dilatació is enyhébb fokban, de szignifikánsan nagyobb volt az 5 %-nál nagyobb ÁFD-t produkáló betegcsoportban.

### Megbeszélés

A nem dohányzó, kezeletlen hipertóniás betegcsoport ÁFD-ja csökkent a normális kontrollokhoz képest. Ez felveti annak a lehetőségét, hogy hipertóniában a nyírófeszültség emelkedése kisebb dilatációt eredményez az egészséges kontrollhoz képest, ami magának a nyírófeszültségnek az emelkedéséhez vezet, tehát a nyírófeszültség szabályozása nem megfelelő. [103].

Az endothel funkció károsodás viszonylag korán jelentkezik, megelőzi a morfológiai elváltozások kialakulását. Kezeletlen betegek esetében nem ismerjük a magas vérnyomás kialakulásának pontos kezdetét. Emiatt nem meglepő, hogy betegek az ÁFD szempontjából heterogén csoportot képeztek, vagyis az endothel függő dilatáció mértéke egyénenként igen változó volt.

Eredményeink alapján az egyének közötti ÁFD különbségek sem az aktuális vérnyomással, sem az életkorral, sem a nemek közötti különbséggel, sem a koleszterinnel, sem a szérum kreatinin értékével, sem a nyugalmi artéria brachialis átmérővel nem magyarázhatóak. A csökkent ÁFD-t mutató betegek nitrát utáni csökkent dilatációja enyhébb fokban, de szignifikáns volt. Ez az érfali compliance csökkenésére utal a kórosan alacsony ÁFD-jű betegcsoportnál. Multivariancia analízis szerint a két csoport között az ÁFD értékében található eltérésnek csak kis részéért felelős a csökkent érfali compliance. A compliance-től független ÁFD/NITRÁT arányban is erősen szignifikáns különbség mutatkozik a két csoport között.

Továbbra is tisztázandó kérdés az endothel funkció lokális változékonysága. Coronaria sclerosisban szenvedő betegeknél egy koszorúéren belül is változó az acetilkolin hatására bekövetkező dilatáció. [206]. Kérdéses, hogy hipertóniás betegek érrendszerében vannak-e lokális különbségek az endothel funkcióban illetve diszfunkcióban. [17]. Ugyancsak kérdéses az összefüggés a rezisztencia erek és a nagyobb artériák endothel függő dilatációja között. [87].

Tisztázandó, hogy az endothel diszfunkció szerepet játszik-e a hipertónia pathogenezisében, az érfalra ható vazodilatátor illetve vasokonstriktor hatások egyensúlyának felbomlása által, vagy az endothel funkció csak a hipertónia kialakulása után károsodik, tehát a hipertónia következménye inkább, mint annak oka.

#### 7.4. Oxidatív stressz és endothel funkció

Az érfali endothel, mint azt korábban már láttuk, rendkívül fontos szerepet játszik a vazotónus, a vérárvadás, a gyulladáso és trofikus folyamatok szabályozásában. [118]. Ebben a soktényezős rendszerben döntő szerepe van a NO-nak illetve a NO oxidatív inaktivációjának. [77]. Az endothelben termelődő NO-nak számos kedvező hatása van. Az NO azonban rendkívül reakcióképes, gyorsan reagál a környezetében lévő szuperoxid gyökkel, melynek eredményeként egy nagyon reaktív intermedier, a peroxinitrit keletkezik. A peroxinitrit protonálódva peroxinitrátot képez, mely a rendkívül aktív hydroxil gyök képződéséhez vezet. Ezen reaktív gyök lipid peroxidációt, membrán károsodást, adhéziós molekulák expresszióját, az LDL oxidációját eredményezi. [161]. Az oxidatív szabadgyököknek tehát fontos szerepük van az endothel diszfunkcióban nemcsak azért, hogy mintegy közömbösítik az endothel által termelt NO-t, hanem ezen reakció termékei, a peroxinitrit és a felszabaduló hydroxil gyök hozzájárulnak az atherosclerosis folyamatához. Az érfalban rendkívül finom egyensúly van a NO és a szuperoxid anion között. [77]. Ezen egyensúly felborulását eredményezheti az NO termelés csökkenése mellett a szuperoxid anion koncentrációjának emelkedése, egyrészt a fokozott oxidatív stressz, másrészt az alacsony antioxidáns kapacitás miatt. Az endothel függő vazodilatáció komplex folyamat, melynek csökkenésében a fenti egyensúly felborulásának van döntő szerepe. Az áramlás függő dilatació (AFD) vizsgálata ezen egyensúly in vivo tanulmányozásának egy lehetséges módszere. Az atherosclerosis és annak rizikófaktorai (dohányzás, hipertónia, diabetes) igazoltan fokozott oxidatív stresszsel járnak. [141]. Logikusnak tűnik, hogy a fokozott oxidatív stressz káros hatását az antioxidánsok csökkentik, ezáltal az antioxidánsok adásának kedvező hatással kell lennie az atherosclerosisra. In vivo és állatkísérleti adatok ezt a feltételezést támogatják.

[94,215]. C és E vitamin disznókban PTCA után adva az artéria coronariák lumenének

növekedését eredményezte. [142] A humán irodalmi adatok azonban ellentmondásosak. [32].

Az MVP (Multivitamin and Probuocol Study) nem találta kedvezőnek a vitaminok (  $\beta$ -karotin, C vitamin, E vitamin) hatását PTCA-t követő resztenózis kialakulásának gátlására. [45]. A közelmúltban publikált CHAOS tanulmányban ismert koszorúér betegekben egy évnél hosszabb E vitamin kezelés 60 %-kal csökkentette az szívinfarktus morbiditást, viszont a fatális infarktusok számát nem szignifikánsan, de emelte. [178]. Ugyancsak hasonló eredménnyel záródott az Alpha-Tocopherol Beta-Carotene Cancer Prevention Study (ATBC study). Ebben a tanulmányban az alfa-tocopherol statisztikailag szignifikáns mértékben csökkentette a nem halálos szívinfarktusok számát. Ezzel ellentétben, ha nem is szignifikáns mértékben, de nőtt a fatális coronaria történések száma. [163]. Atherosclerosisban az akut C vitamin adás javította az ÁFD-t. [67]. Egyelőre atherosclerosisban az antioxidánsok adása mellett szóló egyértelmű bizonyíték hiányzik. Emiatt coronaria betegeknek, jelen állás szerint, rutinszerűen nem ajánlítható antioxidáns kezelés. [163].

A szabadgyökös reakciók számos kórállapotban döntő szerepet játszanak és szerepük bizonyított az oxigén toxicitásban, a krónikus granulomatózus betegségekben, az öregedésben, az atherosclerosisban, az ischaemiás reperfüziós szövetkárosodásban, a karcinogenezisben, krónikus májbetegségek egy részében, gyógyszer okozta szövetkárosodásokban, gyulladásoz megbetegedésekben. [59]. Az oxidatív stressz klinikai kutatása a folyamat rendkívül összetett volta miatt nem egyszerű. Minden olyan kórállapot, ahol az oxidatív stressz meghaladja az antioxidáns kapacitást elméletileg az endotel funkció károsodásához vezet. Ez fordította érdeklődésünket az antracyclinek kardiotoxikus hatásának vizsgálatakor az ÁFD vizsgálatára.

Az antracyclin antibiotikumok a leghatékonyabb citosztatikumok közé tartoznak. Az antracyclinek erős szabadgyök képzők legalább kétféle mechanizmussal. A doxorubicin (DOX) quinon formájának enzimatisz redukcióját követő redox körben a molekuláris oxigén szuperoxid gyökké alakul. A másik mechanizmus a DOX-vas komplex képződés, mely

komplex belső redukcióra és redox átalakulásra képes, mely szintén szuperoxid gyök képződését eredményezi.[13]. A szuperoxid gyök és reaktív metabolitjai lipid peroxidációhoz, membránkárosodáshoz, szövetkárosodáshoz vezetnek. A DOX daganatellenes hatása elsősorban a nucleinsav szintézis gátlásán alapul, ezzel szemben a cardiotoxicitás a reaktív oxigén speciestek (ROS) képződésével függ össze a gyenge antioxidáns kapacitással rendelkező myocardiumban. Ezen eltérő hatásmechanizmus teszi lehetővé, hogy a cardiotoxicitást csökkentsük megtartott tumorelleses hatás mellett.[47,95,145,159].

A doxorubicin (DOX) cardiomyopathia mindmáig nagy problémát jelent. A DOX indukálta szíveltelenség valószínűleg az egyes adagok okozta aktuálisan kisebb szubklinikus károsodások összegződéséeként alakul ki. A cardiomyopathia gyakorisága a DOX kumulatív dózisének emelkedésével együtt nő, 500 mg/tfm<sup>2</sup> kumulatív dózis felett meghaladja az 5 %-t. [108]. A protokollok ezt figyelembe véve úgy vannak összeállítva, hogy e dózist ne lépjék át. Egyes betegeknel azonban e dózis túllépése lenne kívánatos a daganatellenes hatás, illetve a gyógyulás miatt. Rizikófaktorok (mediastinális besugárzás, kombinált kemoterápia, magasabb életkor, szívbetegek) fennállása esetén a szívizom károsodás sokkal kisebb dózisoknál is kialakulhat. [13,22,75,131,135].

Nagyon fontos a DOX cardiomyopathia kivédése illetve kezelése, illetve a myocardium károsodását minél érzékenyebb detektálása. A DOX cardiomyopathia kivédésére több lehetőség kínálkozik. A kelátképzőkről (cardioxán) bebizonyosodott, hogy hatásos kardioprotektív szerek, ellenben az antioxidánsok kedvező hatását egyértelműen nem sikerült igazolni.[13,19,45,47,48,109,178,205]. Emellett a gyógyszeradás módjának megváltoztatásával (bólus vagy folyamatos infúzió), kevésbé toxikus analógok (pl. epirubicin) kifejlesztésével bizonyos mértékig csökkenteni lehet a terápia cardiotoxicikus mellékhatásának veszélyét. Többféle módszert használnak a myocardium károsodás korai detektálására (echocardiográfia, radionuclid ventriculográfia, troponinok, rádióaktív myosinellenes antitest ...)

de a probléma még messze nem megoldott. [21, 64, 126]. További nehézséget jelent, hogy a cardiomyopathia sokszor a terápia abbahagyása után évekkal-évtizedekkel alakul ki. [177]. Az egyes betegek között jelentős különbség van a doxorubicinnal szembeni érzékenység szempontjából. Olyan nem invazív módszer lenne kívánatos, mellyel a nagy rizikójú betegeket ki lehetne emelni. Ezen válogatott betegsoportnál a kardioprotekciótól különösen nagy haszon várható. Ezeknél a betegeknél az antioxidánsok adása is hasznos lehet, míg a jó antioxidáns kapacitással rendelkező betegcsoportnál az exogén antioxidáns adása esetleg elnyomhatja az amúgy jó endogén antioxidáns kapacitást. Az érfalban korábban már említett finom egyensúly van a NO és a szuperoxid anion között. [77, 118]. A DOX bólus adása ezt az egyensúlyt a reaktív oxigén gyökök felé billentheti, különösen a gyenge endogén antioxidáns kapacitással rendelkező betegeknél. Így elméletileg a DOX adása után bekövetkező endothel funkció változás az oxidatív stresszel szembeni védekező képesség fokmérője lehet. Más vizsgálok egyébként már korábban is használtak endothel funkciót vizsgáló módszert a doxorubicin kardiotoxicitásának jelzésére a DOX kezelés alatt, mikor is endothelin-1 meghatározással monitorozták a betegeket. [214].

Tanulmányunkban a következő kérdésekre kerestünk választ:

- 1.) Milyen változás jön létre DOX adást követően az endothel funkcióban?
- 2.) Milyen változás követi a DOX bólus adását a redox státuszt jellemző biokémiai markerekben?
- 3.) Milyen hatással van az endothel funkcióra az antioxidáns és a DOX együttes adása?
- 4.) Milyen kapcsolat van az első DOX bólust követő ÁFD változás mértéke és a követés során észlelt bal kamrai ejekciós frakció változás mértéke között?

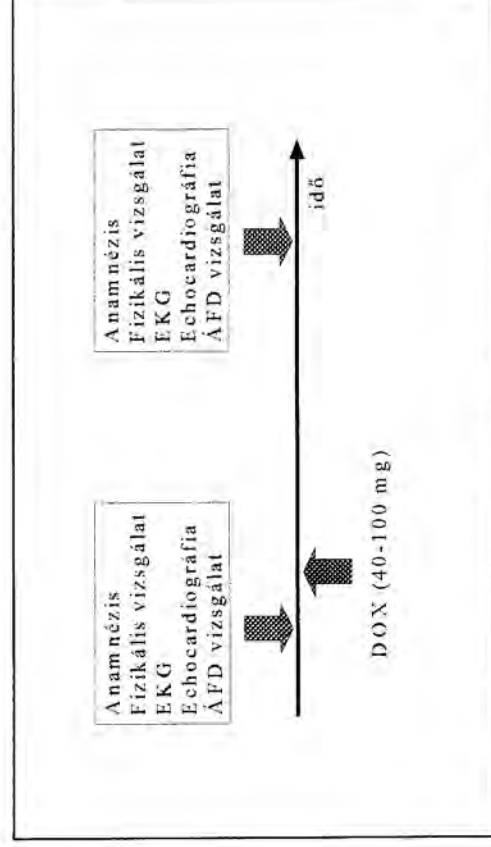
#### 7.4.1. DOX kezelésben részesülő haemathológiai betegek ÁFD vizsgálata:

##### Betegek és módszer

A vizsgálatba 22 beteget vontunk be, akik malignus haemathológiai betegség miatt a haemathológiai osztályon álltak kezelés alatt 1996 januárja és 1998 augusztusa között. 18 beteg non Hodgkin lymphomában (NHL), 4 beteg Hodgkin kórban szenvedett (HL). A betegek mindegyike DOX-t tartalmazó protokollal volt kezelve, a NHL-ban szenvedők CHOP, a HL-ban szenvedők COPP+ABVD protokoll szerint. [18,99]. Életkor:  $37, 3 \pm 13, 7$  év. Az alkalmanként adott DOX dózis  $44 \pm 12$  mg/tfm<sup>2</sup> volt. A követési periódus alatt a betegek átlagosan  $235 \pm 112$  mg/ tfm<sup>2</sup> kumulatív DOX dózist kaptak.

A vizsgálatba való bevonáskor anamnesis, fizikális vizsgálat, labor vizsgálat, echocardiográfia történt. A betegnek az endoethel funkciót az áramlásfüggő dilatació (ÁFD) módszerével határoztuk meg [30,31,79,136] a DOX bólus beadása előtt és a beadást követően.

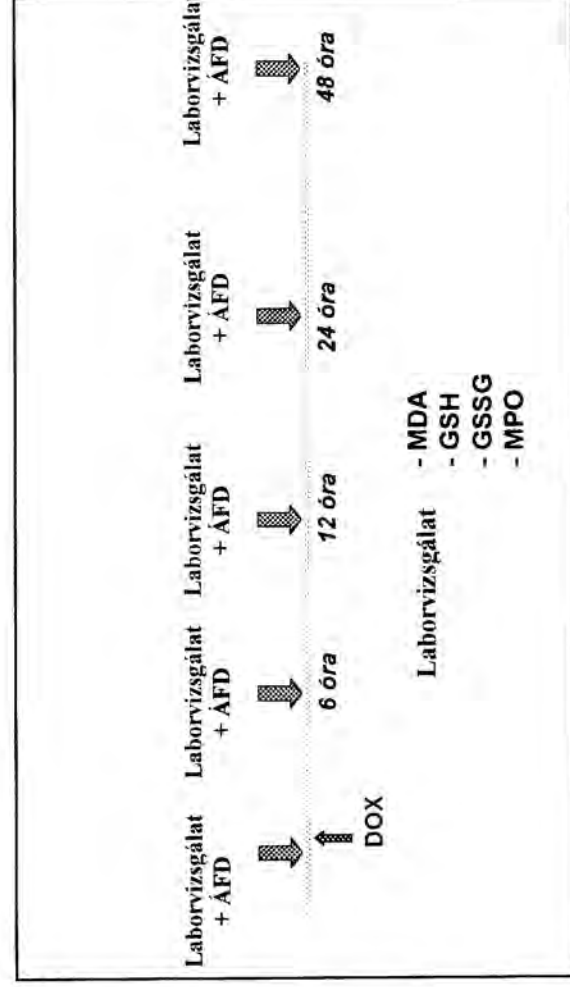
**I. protokoll:** Az első 13 betegnél a DOX adás előtt elvégzett kiindulási ÁFD vizsgálatot a DOX bólus után átlagosan 11,2 órával egy kontroll ÁFD vizsgálat követte. (7. ábra)



7. Ábra: I. protokoll: 13 betegnél a DOX beadása előtt mért ÁFD-t a bólus beadása után egy alkalommal kontrolláltuk



**II. protokoll:** A többi 9 betegnél részletesebb vizsgálatokat végeztünk: a DOX beadás előtt közvetlenül illetve 6, 12, 24 és 48 óra múlva megmértük az ÁFD értékét, illetve az oxidáns-antioxidáns státusz labor paramétereit ( redukált glutation (GSH) vér és plasma, oxidált glutation (GSSG) plasma, malondialdehid (MDA) vér és plasma, myeloperoxidase (MPO)). [142,155,171,187]. (8. ábra).



8. ábra. II. Protokoll. 9 betegnél az ÁFD-t a DOX bólus után több alkalommal mértük, azért, hogy meghatározzuk a DOX bólus beadását követő ÁFD változás időbeni lefolyását. Ugyancsak meghatároztuk az ÁFD mérésekkel egyidőben a redox státuszt jellemző biokémiai markereket ( MDA= malondialdehide, GSH: redukált glutation, GSSG oxidált glutation, MPO myeloperoxidase)

**III. protokoll:** A II. protokoll 9 betege közül annál a negyennél, akik az első DOX bólus után az ÁFD csökkenés kifejezett volt (> 5%) a következő DOX bólus előtt 1000 mg iv C vitamint adtunk. Az ÁFD és a biokémiai markerek meghatározása ekkor is a C vitamin és a DOX bólus beadás előtt, illetve 6, 12, 24, 48 óra múlva történt (hasonlóan a II. protokollhoz).

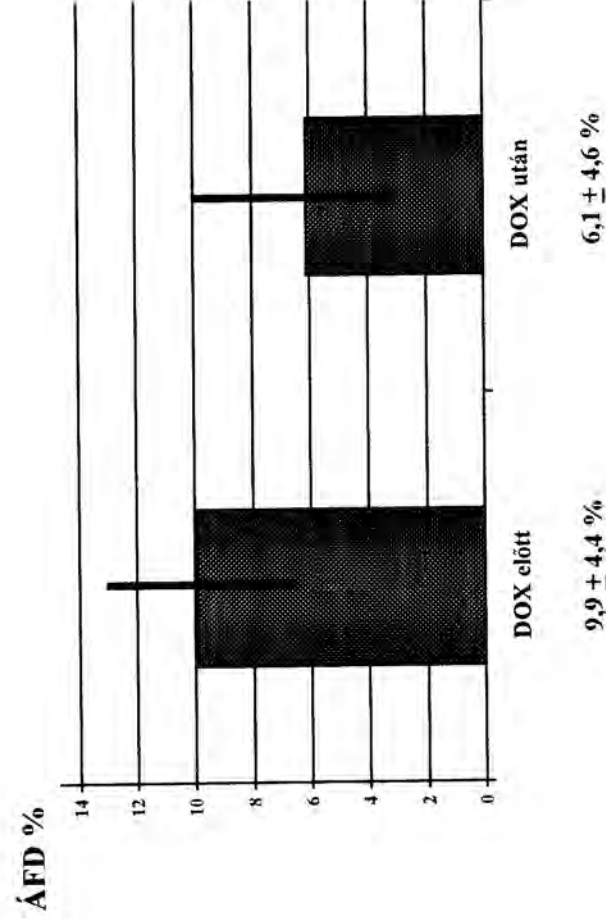
Az első DOX bólus előtt és a beadás után 6 órával minden betegnél meghatároztuk CK-t és CK-MB-t, 15 betegnél ugyanazon időpontokban Troponin T meghatározást is végeztünk. Betegeinket az első DOX bólus után természetesen követtük. Ezen követési periódus alatt a kezelési protokolloknak megfelelően betegeink ismételten kaptak DOX bólusokat. A követés átlagos időtartama  $18,6 \pm 8,1$  hónap volt. Ezen időszak alatt betegeink átlagosan  $229 \pm 112$  mg /tfm<sup>2</sup> kumulatív DOX dózist kaptak. Minden DOX bólus előtt és után rutin vizsgálatok történtek. A bal kamrai ejekciós frakciót M-mód echokardiográfiával (Teiholtz) határoztuk meg a kezelés megkezdése előtt, illetve a követés során minden 100 mg/tfm<sup>2</sup> dózis elérésekor, illetve a követési periódus végén. 11 betegnél az ejekciós frakciót az echokardiográfia mellett radionuklid ventrikulográfiával is követtük. A követési periódus végén ismételten MDA meghatározást végeztünk a II vizsgálati protokoll betegcsoportjánál, kiknél a DOX kezelés előtt is történt MDA meghatározás.

A statisztikai értékelés során az egymintas t-próbát, lineális regressziót és stepwise multiple regressziós analízist használtuk. Az eltéréseket  $p < 0,05$  szinten tekintettük szignifikánsnak.

### Eredmények:

A DOX bólus után nem láttunk egyetlen betegnél sem CK Troponin T illetve EKG elváltozást.

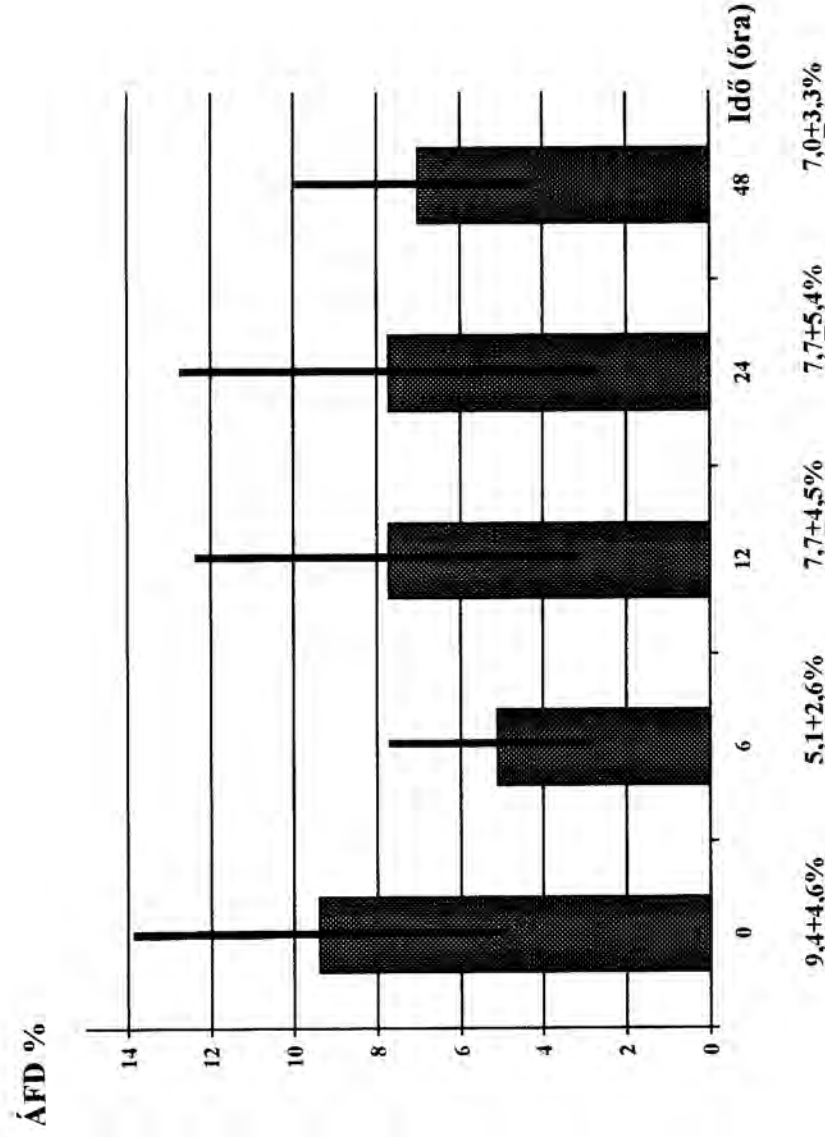
A DOX adása után az ÁFD értéke szignifikánsan csökkent. (9. Ábra) Az észlelt ÁFD változás mértékében jelentős egyéni különbségeket találtunk.



9 ábra. Doxorubicin (DOX) adás előtti és a szer adását követő ÁFD értékek (22 beteg) A II protokoll szerinti vizsgált 9 betegnél a DOX bólus beadása után 6 órával mért értékeket vettük figyelembe. Az értékek átlag ± SD formában vannak megadva

Az ÁFD változás szignifikáns volt (  $p < 0,05$  ).

A II. protokoll 9 betegnél elvégzett vizsgálat alapján az ÁFD csökkenés mértéke a DOX adása után 6 órával volt a legkifejezettebb, de még 48 óra múlva sem érte el az ÁFD a kiindulási értéket. (10. ábra)

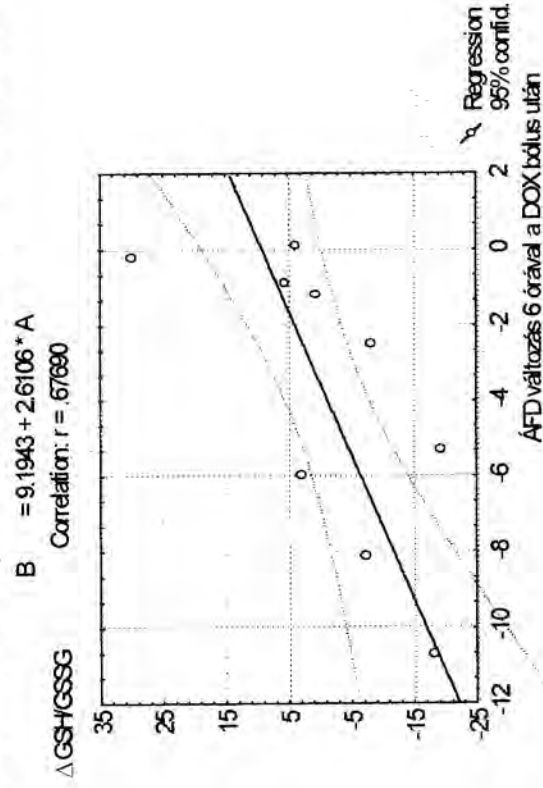


10. ábra: A II protokoll szerint vizsgált betegek DOX adás előtti és a DOX adás után 6, 12, 24 és 48 órával mért ÁFD értékei (9 beteg). Az értékek átlag ± SD formában vannak megadva. A 6 órás érték szignifikánsan alacsonyabb ( $p < 0,02$ )

A redox status jelző biokémiai markerek egyike sem változott szignifikáns mértékben.

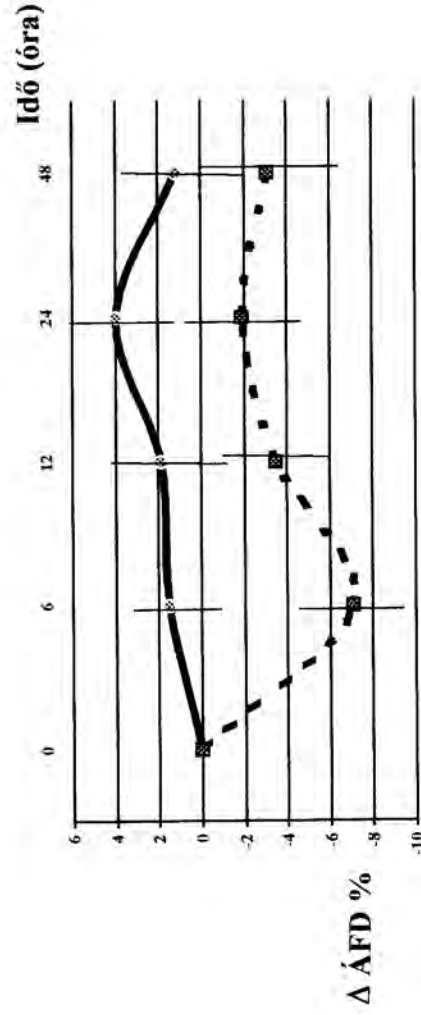
Az ÁFD változás mértéke illetve GSH/GSSG arány változása között összefüggést találtunk. A DOX bólus után nagyobb ÁFD csökkenéssel reagáló betegeknél a fenti arány csökkenése volt megfigyelhető. (11. ábra)

ADOX bólust követő GSH/GSSG arány változása és az ÁFD változása közötti korreláció



11. ábra: A DOX adása után 6 órával észlelt ÁFD és GSH/GSSG arány a DOX bólus előtti értékhez képest mért változásának összevetése ( II. protokoll, 9 beteg ) Azoknál a betegeknél, akiknél az ÁFD csökkenés nagyobb volt, a GSH/GSSG arány csökkenését találtuk.

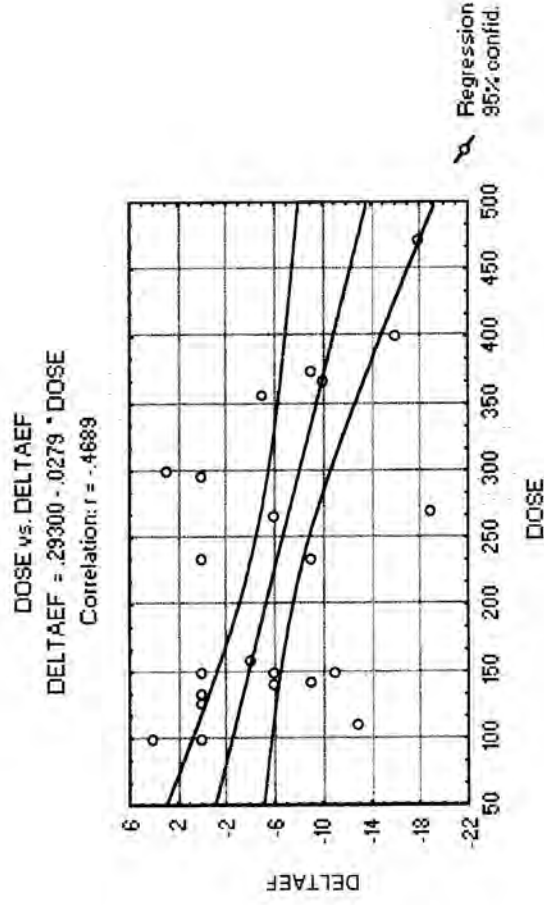
A III protokollban a C vitamin előkezelés egyaránt kivédte a DOX adása utáni ÁFD csökkenést és a GSH/GSSG arány csökkenését. (12. ábra)



12. ábra: A C-vitamin adás a DOX bólus előtt (folyamatos vonal) kivédte a korábban észlelt DOX adást követő ÁFD csökkenést (szaggatott vonal) (III. protokoll, 4 beteg)

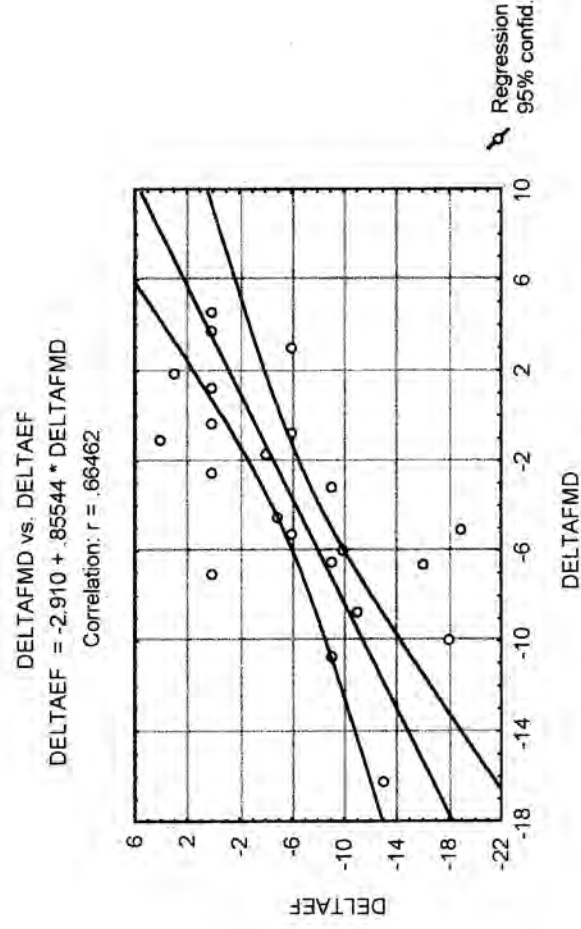
Betegeink átlagos követési ideje  $18,6 \pm 8,1$  hónap volt. A követés során 5 beteg meghalt az alapbetegség progressziója miatt. 2 betegnél alakult ki szívelégtelenség. Mindkét betegnél az első DOX bólust követően több mint 5 %-s ÁFD csökkenést észleltünk.

A követés során a bal kamrai ejekciós frakció (EF) szignifikáns mértékben csökkent (kiindulási EF:  $66,4 \pm 7,9$  %, követés végén mért EF:  $60,5 \pm 9$  %  $p < 0,05$ ) de kifejezett egyéni különbségeket találtunk ebben a vonatkozásban is. Negatív korrelációt találtunk a kumulatív DOX dózis és az EF változása között. (13. ábra)



13. ábra: A követés során adott kumulatív DOX dózis és a bal kamrai EF változás között negatív korrelációt találtunk

Az első DOX bólus beadását követő ÁFD változás mértéke és a követés során észlelt bal kamrai EF csökkenés között a korreláció még szorosabb volt (14. ábra)



14. ábra. Az első DOX bólus után észlelt ÁFD (=FMD flow mediated dilatation) csökkenés mértéke és a követés során észlelt bal kamrai EF csökkenés korrelált egymással.

A bal kamrai ejekciós frakció változása a kumulatív DOX dózissal és az első DOX bólus beadását követő ÁFD változás mértékével szignifikáns mértékben és függetlenül korrelált. A II. protokoll beteginél a követési periódus végén mért plazma MDA érték szignifikánsan magasabb volt a kiindulási értékhez hasonlítva (kiindulási MDA érték az első DOX bólus előtt:  $0,34 \pm 0,25$  nmol/ml a követés végén:  $1,82 \pm 1,1$  nmol/ml  $p < 0,001$ ).

### Megbeszélés

Betegeinknél a DOX bólus után az MDA, GSH, GSSG és MPO értékek változása nem érte el a szignifikáns szintet. Ezzel ellentétben, állatkísérletekben DOX kezelést követően szignifikáns MDA emelkedést, GSH/GSSG arány kedvezőtlen változását, sőt CK emelkedést észleltek

[113]. Ezen kísérletekben az általunk alkalmazott testfelület  $m^2$ -kénti DOX dózis többszörösét alkalmazták. Mi CK vagy Troponin-T eltérést nem találtunk egyetlen betegünkönél sem, más az általunk alkalmazott dózist alkalmazó humán vizsgálokhoz hasonlóan. [61]. Az a tény, hogy az átlagosan  $44 \pm 12 \text{ mg/tfm}^2$  i.v. bolus DOX adása nem okozott szignifikáns változást az általunk vizsgált labor paraméterekben (MDA, GSH, MPO, GSH/GSSG) természetesen nem jelenti azt, hogy ezen DOX dózis nem jelent oxidatív stresszt. Intracellulárisan illetve az endothel abluminális oldalán lejátszódó folyamatokat kevésbé jelzik a vérben, illetve plazmában mért változások.

A labor paraméterekkel ellentétben a DOX bólus adását szignifikáns ÁFD csökkenés követte.

Az ÁFD csökkenés mértéke a DOX adás után 6 órával volt a legkifejezettebb, de az ÁFD átlagértéke még 48 óra múlva sem érte el a kiindulási értéket. Ez a dinamika hasonló az állatkísérletek adataihoz. [114]. Az ÁFD csökkenés mértékében jelentős egyéni különbségeket találtunk. A betegek mintegy felénél az ÁFD csökkenés mértéke jelentős ( $> 5\%$ ), míg a többieknél nem észleltünk jelentős ÁFD csökkenést a DOX adást követően. Ez alapján a betegek két csoportra oszthatók. Az egyik csoportnál (nevezzük „A” csoportnak), kiknél kifejezett ÁFD csökkenés követte a DOX adását, feltehetően csökkent az oxidatív stresszel szembeni ellenálló képesség. A másik betegcsoportnál („B” csoport), akiknél nem követte jelentős ÁFD csökkenés a DOX adását, az endogén antioxidáns kapacitás feltehetően megfelelő. Két betegnél alakult ki a követési periódus alatt szívelégtelenség. Mindkét beteg az előbb említett „A” csoportba tartozott.

A C vitamin előkezeléssel ki lehetett védeni a DOX adást követő ÁFD csökkenést. Szeretnénk hangsúlyozni, hogy ez nem jelenti azt, hogy a C-vitamin a választandó antioxidáns a DOX cardiomyopathia prevenciójára. Teoretikusan célszerűbbnek tűnik lipíd oldékony antioxidáns, pl. E vitamin adása az intracelluláris oxidatív stressz és a következményes lipíd peroxidáció kivédésére. A C-vitamin előkezelés ÁFD csökkenést kivédő hatása sokkal inkább azt



bizonyítja, hogy a DOX adását követő ÁFD változás mértéke alkalmas az oxidatív stressz hatásának, illetve az oxidatív stressz és az adott szervezet endogén antioxidáns kapacitása eredőjeként kialakuló redox státuszának a megítélésére. Ez egyben indirekt bizonyíték arra, hogy a DOX bólus beadását követő ÁFD változásban az oxidatív stressznek van oki szerepe. Az antioxidánsok adása előnyösnek tűnik kísérleti körülmények között az oxidatív stressz káros hatásának kivédésére. Coronaria betegeknel alkalmazott antioxidánsok hatását vizsgáló nagy betegszámú tanulmányok (CHAOS, ATBC) eredményei nem egyértelműek. [163]. A nem fatális coronaria események számának szignifikáns csökkentése mellett kisebb mértékben bár, de nőtt a fatális coronaria események száma, és az ösztörtalitás is. Tetszetős magyarázatnak tűnik, hogy a tartósan alkalmazott exogen antioxidáns visszaszoríthatja az endogén atioxidáns kapacitást, ezáltal a nagyobb oxidatív stressz esetén az adott szervezet esendőbb. Elméletileg az lenne a megoldás, hogy a csökkent antioxidáns kapacitású betegeket valamilyen módon ki tudnánk emelni az eredendően jó endogén antioxidáns kapacitással rendelkező betegek közül. Ez jelenleg nem megoldott a klinikai gyakorlatban. Pedig az előbb említett szelekció lehetővé tenné, hogy azok a betegek kapjanak antioxidánst, akiknek arra igazán szükségük lenne. Ugyancsak ellentmondásos a DOX cardiomyopathia megelőzését antioxidánsokkal megkísérlő tanulmányok eredménye. [48,109]. Ennek is az lehet a magyarázata, hogy a válogatás nélkül mindenkinek adott antioxidáns terápianak bizonyos betegéknél feltehetően nincs előnye, illetve káros hatás is felmerül. A kelát képző cardioxán az oxidatív stresszt anélkül csökkenti, hogy negatív hatással lenne az endogén antioxidáns kapacitásra. [47]. Ezen szer előnyös hatása bizonyított, de a rutinszerű kezelésnek anyagi akadálya is van. A kezelendő betegek kiválasztásának egyik módja lehet a DOX adását követő ÁFD változás mértéke. A követés során észlelt bal kamrai EF csökkenés mértéke és az első DOX bólust követő ÁFD csökkenés mértéke közötti korreláció arra utal, hogy az ÁFD csökkenés alapján történő beteg szelektálásnak prognosztikus jelentősége lehet a későbbi bal kamrai funkció károsodás

szempontjából. Természetesen az antioxidáns kapacitás folyamatosan változik, így az első DOX bólust követő ÁFD változás „csak” egy rizikófaktor, és nem helyettesíti a betegek kardialis státuszának rendszeres ellenőrzését.

A tanulmány korlátait jelenti, hogy a kezelési protokolloknak megfelelően a DOX-nal egy időben más szerek is beadásra kerültek. [18,99]. E szerek is szerepet játszhatnak az ÁFD változásban, de oxidatív terhelést okozó hatásuk az irodalom alapján lényegesen kisebb, mint a DOX-é, így a DOX-nal együtt beadott gyógyszer rezsim okozta oxidatív stresszben feltételezhetően a DOX szerepe a döntő. A betegek szelektálása szempontjából még egyszerűbb a kérdés. Amíg a betegek egy része a DOX és a többi szer együttese okozta stresszre kifejezett ÁFD csökkenéssel válaszolt, addig a betegek más csoportjánál a szerek beadását ilyen változás nem követte. Akiknél az ÁFD kifejezetten csökkent a DOX és egyéb szerek beadása után, azoknál ez a vaszkuláris integritás kibillenését, a szerek beadását követő részben oxidatív stresszel szembeni csökkent ellenálló képességet jelzi. A betegek szelektálása szempontjából kevésbé döntő, hogy a DOX mellett más szert is kaptak-e vagy sem.

Teoretikusan az ÁFD változás mértéke, akár függetlenül az inger fajtájától és nagyságától, egy adott betegnél a vaszkuláris integritás megőrzésére irányuló ellenálló képességnek egyfajta jelzője lehet. A kérdés megvilágításához közelebb vihet a DOX monoterápiában részesülő betegek vizsgálata, mely egy következő tanulmány tárgya lehet. Megemlíjtjük, hogy a NHL és a HL betegcsoport viselkedése érdemben nem különbözött, de a statisztikai összehasonlításnak az alacsony betegszám miatt nem láttuk értelmét.

Természetesen az oxidatív stressz és az antioxidáns terápia körül számtalan kérdés tisztázatlan. Kít kezeljünk, mivel, mekkora dózissal és mennyi ideig? Ezen kérdéseket jelenleg is kiterjedten vizsgálják, s feltehetően éveknek, esetleg évtizedeknek kell eltelniük a végleges válaszokig.

## 7.5. Endothel diszfunkció gyógyszeres terápiája

### 7.5.1. Benazepril kezelés hatása az ÁFD-ra

Kísérleti és klinikai bizonyítékok egész sora támasztotta alá, hogy az ACE gátlók védelmet biztosítanak az atherosclerosisra illetve annak szövődésével szemben. [152, 153, 186, 187].

A renin-angiotenzin rendszer és az endothel funkció között szoros a kapcsolat. Az ACE szabályozza az egyensúlyt a vazokonstriktorok és vazodilatátorok, a növekedési faktorok és azok inhibitorai, a proinflammátorok és anti-inflammátorok, a thrombotikus és fibrinolytikus faktorok között. [152, 199]. Az ACE inhibitorok vaszkuloprotektív hatása többtényezős, az angiotenzin II képződés és a bradykinin lebontás gátlása útján érvényesül. [132]. Az ACE gátlók és a bradykinin B2-receptor blokkolók együttes adásakor kevert eredmények amellel szólnak, hogy a bradykinin hatás szerepe jelentősebb, mint az angiotenzin II keletkezésének gátlása. [14]. Az ACE gátlás endothel funkciót javító hatása szempontjából az irodalmi adatok ellentmondásosak. Endothel funkció javítást mutattak ki egyes szerzők. [7, 10, 83, 122, 123, 160], míg mások az ACE gátlást ezen szempontból hatástalannak találták [16, 42, 101, 149]. Ezen eltérés részben abból adódhat, hogy a csoport egyes tagjai között valószínűleg különbség van az endothel funkcióra gyakorolt hatás tekintetében, melynek oka lehet a szöveti ACE-hez való eltérő affinitás [7]. Emellett az eredmények közti eltérésekben az endothel funkció megítéléséhez használt metódika, a terápia időtartama, a kiválasztott betegcsoportban lévő eltérések is szerepet játszhatnak. Az endothel funkció javulása, legalábbis részben független a vérnyomáscsökkentő hatástól. [123]. Benazeprilre vonatkozó endothel funkciós vizsgálatot munkacsoportunkat megelőzően más nem végezt. [136, 137].

### Betegek és módszer

A vizsgálatba eredetileg 35 korábban kezeletlen enyhe és közepes súlyos hipertóniás beteget vontunk be. Az eredmények értékelése csak abban a 21 hipertóniás betegben történt meg, akiknél mód volt az R-hullám kapuzásra. Erre azért volt szükség, hogy az érfalak eltérő compliance az eredményt ne zavarja. A szekunder hipertóniát, diabetest részletes klinikai vizsgálattal zártuk ki. A 21 beteg közül 13 férfi és 8 nőbeteg volt, életkoruk  $39,1 \pm 15$  év. Az alapvizsgálatkor meghatározott szérum koleszterin érték  $6,05 \pm 1,4$  mmol/l, a kreatinin  $89 \pm 12$   $\mu$ mol/l volt. A szemfenék vizsgálat során 6 esetben láttunk az artériákon kis kaliberingadozást, a többi esetben eltérés nem volt.

*Módszer:* A betegeknél a vizsgálatba vételkor részletes anamnézis, fizikális labor és EKG vizsgálat történt, majd elvégeztük az ÁFD vizsgálatát a korábban már ismertetett módszer szerint. Betegeink ezen alapvizsgálat elvégzése után 10 mg benazepril kaptak, aminek az ÁFD-re kifejtett hatását a bevétel után 2 órával mértük (akut hatás), majd ezt követően betegeink egy hónapig napi 10 mg benazepril szedtek. Az ÁFD vizsgálatot egy hónap után megismételtük (krónikus hatás).

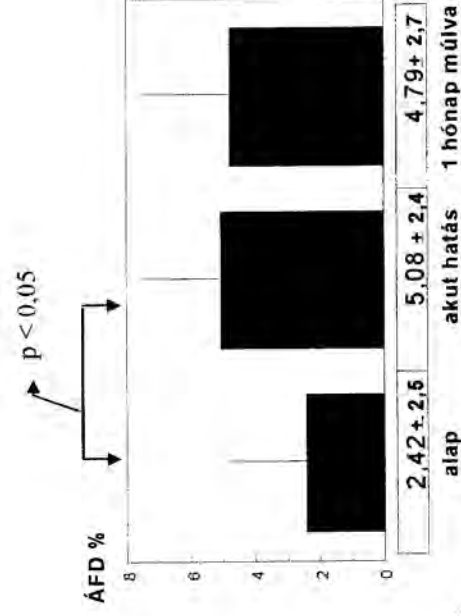
A statisztikai elemzést egymintás t-próbával végeztük, eredmények átlag  $\pm$  SD formában vannak feltüntetve.  $p < 0,05$  szintet tekintettünk szignifikánsnak.

### Eredmények

Az alapvizsgálat során a szisztolés tenzió  $176,2 \pm 18$  Hgmm, a diasztolés tenzió  $104,5 \pm 8,8$  Hgmm volt. A 10 mg benazepril bevétele után két órával az átlagos szisztolés vérnyomás  $150,5 \pm 18$  Hgmm-re, a diasztolés érték  $93,3 \pm 11$  Hgmm-re csökkent. Az egy hónapig tartó benazepril kezelés után további változást az átlagos vérnyomásértékek tekintetében nem találtunk ( $154,8 \pm 17,8 / 92,4 \pm 11,9$  Hgmm).

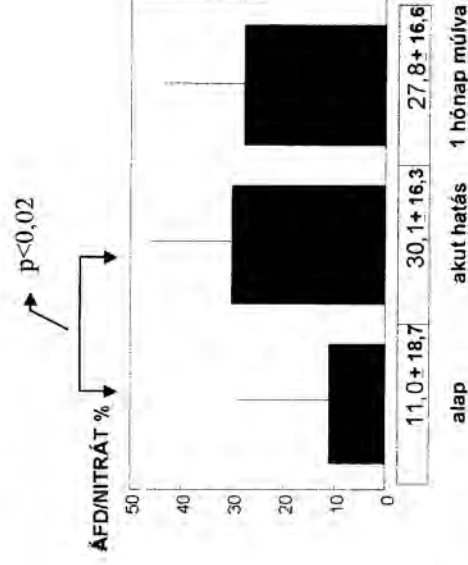
Az artéria brachialis átlagos átmérője az alapvizsgálatnál  $4,09 \pm 0,55$  mm, az átlagos FMD  $5,02 \pm 4,1$  % volt.

Ha mind a 21 beteg átlagát nézzük, akkor az alapértékhez ( $5,02 \pm 4,1$  %) képest sem az akut ( $6,67 \pm 3,9\%$ ) sem az egy hónapos ACE gátlás ( $5,59 \pm 2,9\%$ ) nem eredményezett statisztikailag szignifikáns ÁFD változást. Az irodalom és saját adataim alapján a betegeinknél az alapvizsgálatkor talált átlagos érátmérő esetében az ÁFD-t 5% alatt tekinthetjük kórosnak [29,67]. Így betegeinket két csoportra osztottuk. Az egyik csoportba (**1. Csoport**) tartozott az a 9 beteg, akiknél az alapvizsgálat során 5 % feletti, a másikba (**2. Csoport**), akiknél 5% alatti ÁFD-t mértünk (12 beteg). Külön megvizsgáltuk ezen utóbbi **2. Csoportot**, hogy náluk a benazepril milyen hatással volt a ÁFD-ra. Ezen 2. Csoport betegeinél az akut és krónikus benazepril hatás után mért ÁFD értékeket a 15. ábrán tüntettem fel.



15. ábra. Akut és krónikus benazepril kezelés hatása az ÁFD-re csökkent kiindulási ÁFD-t mutató, korábban kezeltelen 12 hipertóniás betegnél

Látható, hogy az alapvizsgálathoz képest ( $2,4 \pm 2,5\%$ ) a benazepril akut hatására az ÁFD javult ( $5,08 \pm 2,4\%$ ), viszont az egy hónapos benazepril kezelés további érdemi változást nem okozott ( $4,78 \pm 27\%$ ). Még jelentősebb a változás az ÁFD/NITRÁT hányadosban. Az alapvizsgálathoz ennek értéke  $11 \pm 18,7\%$ , akut benazepril hatásban  $30,1 \pm 16,2\%$ , krónikus benazepril hatásban  $27,8 \pm 16,7\%$  (16. ábra).



16. ábra. Akut és krónikus benazepril kezelés hatása az ÁFD/NITRÁT arányra csökkent kiindulási ÁFD-t mutató, korábban kezeletlen 12 hipertóniás betegnél

Megvizsgáltuk, hogy a csökkent ÁFD-t mutató csoport az egyéb vizsgált paraméterek szempontjából hogyan viszonyul az 5% feletti, azaz normális ÁFD-t mutató csoporthoz. A két csoportnál az életkor, nem, tenzió, vérzsírok, a nyugalmi artéria brachialis átmérő, koleszterin, szemfenéki elváltozás tekintetében nem volt különbség, tehát a két csoport összevethető. (XI. táblázat)

*XI. táblázat:* Csökkent és normális ÁFD-t produkáló korábban kezeletlen hypertoniás betegcsoport összevetése

	csökkent ÁFD<5%	Normális ÁFD>5%	szignifikancia
Életkor (év)	37,8±17	40,7±17	Ns
Férfi / Nő arány (%)	7/5	6/3	Ns
Vérnyomás (Hgmm)	176/104 ± 21/11	177/107 ± 16/4	Ns
Koleszterin (mmol/l)	5, 84 ± 1,56	6,36 ± 1,2	Ns
Nyugalmi artéria brachialis átmérő(mm)	4,15 ± 0,52	4,01 ± 0,73	Ns

### Megbeszélés

Ha a 21 beteget mint csoportot nézzük, akkor a benazepril hatására bekövetkezett endothelfüggő vazodilatáció növekedő tendenciát mutatott ugyan, de ez nem volt statisztikailag szignifikáns. Várhatóan, ahol közel normális az endothel funkció, ott kisebb effektust remélhetünk egy gyógyszeres beavatkozástól, mint ahol már károsodás van. Ha a csökkent ÁFD-s betegeket külön vizsgáljuk (2. Csoport), akkor náluk a benazepril akut hatásra szignifikánsan javult a ÁFD. Az egy hónapos benazepril kezelés azonban már további javulást nem eredményezett az akut változáshoz képest. Ezek a változások még kifejezettebben megfigyelhetők, egy másik endothel funkciót jelző értéket, a FMD/NITRÁT hányadost alkalmazva. Fontos megfigyelésnek tartjuk azt, ha egy terápia endothel funkciót javító hatását akarjuk vizsgálni, olyan betegeket célszerű a vizsgálati csoportba beválasztani, ahol a károsodás már kimutatható. Az ACE inhibíció és az endothel funkció kapcsolatáról legutóbb a BANFF (Brachial Artery Normalization of Forearm Flow) tanulmány adott értékes adatokat. [7,205]. Ezen tanulmány eredménye azt mutatja, hogy a 8 hetes quinapril kezelés szignifikánsan növelte az ÁFD-t, a losartan és az amlodipin nem szignifikáns növekedést, az enalapril pedig nem szignifikáns csökkenést eredményezett. A quinapril kedvező hatását a jó szöveti penetrációval magyarázhatjuk. Megjegyzendő, hogy e tanulmányba randomizált

betegek átlagos kezelés előtti ÁFD-je 7 %-s volt, tehát egy relative jó endothel funkciójú csoport. Fontos kérdés, hogy az ACE gátlás endothel funkciót javító hatásában mekkora az angiotenzin II szint csökkenésének illetve a bradikinin szint fokozódásának a szerepe. Ezen kérdés megválaszolásához az angiotenzin II receptor (AT1) blokkolók hatásának vizsgálata visz közelebb. [7,92,205].



### 7.5.2. AT<sub>1</sub> blokkolók hatása az ÁFD-ra

Az AT<sub>1</sub> blokkolók kedvező hatását hipertóniában és krónikus szívelégtelenségben több tanulmány is igazolta. [92, 155]. Az endothel funkcióra kifejített hatás lehetséges mechanizmusait korábban tárgyaltuk. Ezidáig egy klinikai tanulmány jelent meg, mely a losartan endothel funkcióra kifejített hatását vizsgálta. [92]. Ezen BANFF study nem mutatott ki losartan kezelés mellett szignifikáns endothel funkció javulást, de a kérdés még tovább vizsgálendő. Az AT<sub>1</sub> blokkolók endothel funkcióra gyakorolt hatásának vizsgálata hozzásegít az ACE gátlók endothel funkcióra kifejített hatásának jobb megértéséhez is. Ilyen megfontolás alapján két AT<sub>1</sub> receptor antagonistá endothel funkcióra kifejített hatását vizsgáltuk.

#### Betegek és módszer

12 kezeletlen hipertóniás beteget vontunk be a vizsgálatba. 6 férfi, 6 nő, átlagéletkor  $48,2 \pm 8,7$  év. A bevonáskor a szekunder hipertóniát, diabetest, dohányzást tekintettük kizárási kritériumnak. A kiindulási vérnyomás  $165 \pm 12 / 97 \pm 9$  Hgmm volt. A bevonáskor a korábban ismertett módszer szerint elvégeztük az ÁFD vizsgálatát. Ezt követően betegeink közül hat beteg napi 40 mg losartant, a másik hat beteg napi 50 mg valsartant kapott négy héten keresztül. Az elkezdett AT<sub>1</sub> receptor gátló szeren kívül más vasoaktív kezelést nem kaptak az egy hónapos periódus alatt. Ekkor újabb ÁFD vizsgálatot végeztünk. Az eredményeket átlag  $\pm$  SD formában adtuk meg. Az összehasonlítást egymintás t-próbával végeztük,  $p < 0,05$ - tekintettük a szignifikancia szintjének.

### Eredmények

Betegeinknél mellékhatás nem jelentkezett a kezelés során. A vérnyomás szignifikáns mértékben csökkent a negyedik hét végéig ( $165 \pm 12/97 \pm 9$  Hgmm-ről  $140 \pm 12/85 \pm 5$  Hgmm-re).

Az ÁFD változása nem volt szignifikáns. (XII. táblázat)

XII. Táblázat: 4 hetes  $AT_1$  receptor gátló kezelés hatása az ÁFD-re

	Alap	4 hét	szignifikancia
ÁFD (%)	$6,5 \pm 3,1$	$8,4 \pm 3,8$	n.s.
NITRÁT (%)	$18,1 \pm 3,6$	$19 \pm 5,1$	n.s.
ÁFD/NITRÁT (%)	$36,1 \pm 15,2$	$44,4 \pm 14,9$	n.s.

### Megbeszélés

Az eredmények alapján az egy hónapos  $AT_1$  blokkoló kezelés hatására nem változott szignifikáns mértékben az ÁFD értéke. Ez megfelel a BANFF study eredményének.

A tanulmány korlátai jelentősek. Alacsony az esetszám, az alkalmazott  $AT_1$  blokkoló is kétféle volt. Bár a két szer dózisa bioequivalensnek tekinthető, nem kizárt, hogy az ACE gátlóhoz hasonló különbség az egyes  $AT_1$  receptor blokkoló szerek között is fennáll. A két szer ÁFD-ra gyakorolt hatása közötti különbség megítélésére a vizsgálat nem volt alkalmas. Figyelemre méltó, hogy a betegcsoport kiindulási ÁFD-je nagyobb volt 5%-nál, hasonlóan a BANFF study betegcsoportjához. Lehet, hogy a kóros kiindulási ÁFD-t mutató betegcsoportnál az eredmény lehet, hogy másként alakul, mint ezt láttuk a benazeprilrel kezelt betegeink példáján is. Az ACE gátlás endothel funkcióra gyakorolt hatásával kapcsolatban a következő kérdés merül fel. Az ACE gátlás endothel funkciót javító hatásában mi a jelentősebb, az angiotenzin II képzés gátlása, vagy a bradykinin lebonás gátlása? Véleményem szerint, bár eredményeink és a

BANFF tanulmány eredménye alapján az ACE inhibitor hatásban döntőnek a bradykinin hatás tűnik, a kérdés még nem lezárta. Az állatkísérletek szerint az endothel sejteken, de az érfalban lévő fibrocitákon, simaizomsejteken található  $AT_1$  receptorok izgalma fokozza az érfalban oxidatív stresszt, emellett fokozódik az ET1 elválasztás is. Mindezen mechanizmusok függetlenek a bradykinin hatástól. Az eddigi vizsgálatok arra utalnak, hogy az  $AT_1$  receptorok blokkolása is hatással van az endothel funkcióra, de a mechanizmus nem tisztázott. A klinikai kutatás eredményeinek értékelésénél azonban mindig figyelembe kell venni, hogy azokat számos faktor befolyásolja. Az állatkísérletek, illetve in vitro kísérletek során a vizsgált faktoron kívül az egyéb hatások elméletileg kiküszöbölhetőek. Ez soha nem lehetséges egy klinikai vizsgálatnál. Emiatt nehéz adaptálni az in vitro illetve állatkísérleti eredményeket a klinikumba.

### 7.5.3. $Ca^{++}$ antagonisták hatása az endothel funkcióra

A  $Ca^{++}$  antagonisták antiatherogén hatása összetett. Az antihipertenzív hatás, a thrombocita aggregáció és migráció gátlása, az érfali simaizomsejtek proliferációjának és migrációjának gátlása, az acyl-coenzim-A-cholesterol acyltransferáz (ACAT) gátlása révén a phagocyták által felfalt koleszterin észterifikációjának gátlása, a kötőszövet képződés gátlása, az endothel funkció javítása, az antioxidáns hatás egyaránt az atherogenesis gátlásának irányába hat. [151]. Állatkísérleti adatok bizonyítják az egyes  $Ca^{++}$  antagonisták antiatherogén hatását. [174]. Ezt a kérdést vizsgáló multicentrikus humán tanulmányok (PREVENT=amlodipin, ELSA=lacidipin) eredménye a közeljövőben várható.

Az utóbbi évek kutatásai feltárták a  $Ca^{++}$  antagonisták hatásának módját az érfal simaizom sejteire, amely a sejt relaxációját eredményezi. [25]. Pár éve derült fény arra a meglepő tényre, hogy a  $Ca^{++}$  antagonisták értágító hatásának egy része endothel függő. [56, 73]. Az a tény, hogy a  $Ca^{++}$  antagonisták vazodilatátor hatása csökkenthető a NO szintézis gátlásával arra utal, hogy a vazodilatátor hatás endothel függő komponense NO felszabadulás útján érvényesül. Ezt direkt módon, NO elektród segítségével igazolni is lehetett. [165]. A  $Ca^{++}$  antagonisták konvencionális biológiai támadáspontja, a feszültség függő L-csatorna nem található meg az endothel sejteken. [1]. A  $Ca^{++}$  antagonisták valószínűleg egy feszülés függő receptoron keresztül, a nevéük alapján paradoxnak tűnő módon, az intracelluláris  $Ca^{++}$  szint emelkedésén keresztül fokozzák az NO termelést az endothel sejtekben. [172]. Tehát a  $Ca^{++}$  antagonisták vazorelaxáns hatása kettős úton érvényesül. Egyrészt az elektromos feszültség függő L-csatorna gátlásán keresztül direkt módon a simaizom sejtekre hatva, másrészt az endothel NO termelésének fokozásán keresztül, indirekt módon. Emellett más mechanizmusok is szerepet játszanak. Több tanulmány igazolta, hogy a  $Ca^{++}$  antagonisták csökkentik az ET-1

által kiváltott vazokonstriktio mértékét, illetve tartós adás után a preproendothelin-1 mRNA expresszióját. [60, 68].

Ezen kísérleti adatokból kiindulva munkacsoportunk megvizsgálta egyes  $Ca^{++}$  antagonisták hatását in vivo az endothel dependens áramlásfüggő dilatacióra (ÁFD). A vizsgálatok során három különböző szert választottunk. A verapamil hatásának megítélését az tette érdekessé, hogy az irodalomban főleg a dihydropyridinekre vonatkozó endothel funkciós vizsgálatok találhatók. Emellett a dihydropyridinek közül két tartós hatású, lipofil oldallánccal rendelkező harmadik generációs készítmény, az amlodipin és a lacidipin endothel funkcióra kifejtett hatását tanulmányoztuk. [57]. A lacidipin a  $Ca^{++}$  antagonistá hatás mellett kifejezett antioxidáns is. Az amlodipinnek, akárcsak a többi  $Ca^{++}$  antagonistának, is van antioxidáns hatása, de ez kisebb mértékű. [117].

### 7.5.3.1. Verapamil hatása az ÁFD-ra esszenciális hipertóniás betegeknél.

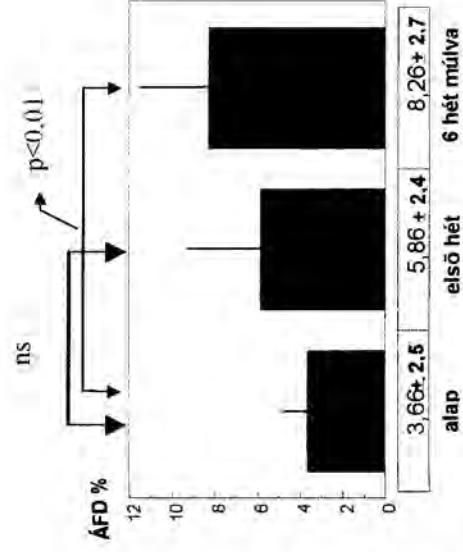
#### Betegek és módszer

A vizsgálatba kezeletlen enyhe és közepesúlyos hipertóniás beteget vontunk be, kiknél az ismételten mért diasztolés vérnyomás 95 és 115 Hgmm között volt. Ugyancsak bevételi kritérium volt, hogy a betegnek kóros, azaz 5 % alatti legyen az alapvizsgálat során mért ÁFD-ja. Bevételi korhatár 20 és 75 év közötti életkor volt. Kizárási kritériumok: a dohányzás, szekunder hipertónia, diabetes mellitus, ismert coronária sclerosis illetve atherosclerosis. Fél év alatt a bevételi kritériumoknak megfelelő 10 beteget sikerült a vizsgálatba bevonni. Az alapvizsgálat során anamnesis, fizikális vizsgálat, laborvizsgálatok (szérum koleszterin, triglicerid, HDL koleszterin, vércukor, húgysav, kreatinin,  $Na^{+}$ ,  $K^{+}$ ) és az artéria brachialis ÁFD vizsgálata történt a korábban már ismertetett módon. Betegeink jellemzői az alapvizsgálatkor: 7 férfi és 3 nő; átlagéletkor  $46 \pm 10,6$  év; testsúly  $91,2 \pm 14,1$  kg; szisztolés

vérnyomás  $165,6 \pm 12,6$  Hgmm; diasztolés vérnyomás  $104,4 \pm 6,3$  Hgmm; szívfrekvencia  $73,9 \pm 11,8$  /min; koleszterin  $5,3 \pm 4,4$  mmol/l; triglicerid  $1,8 \pm 8,3$  mmol/l; HDL koleszterin  $1,3 \pm 0,1$  mmol/l; vércukor  $4,9 \pm 0,7$  mmol/l; húgysav  $303 \pm 91$   $\mu$ mol/l; szétum kreatinin  $79,6 \pm 30,2$   $\mu$ mol/l; Na<sup>+</sup>  $140,7$  mmol/l; K<sup>+</sup>  $4,4 \pm 0,3$  mmol/l; artéria brachialis nyugalmi átmérő  $4,50 \pm 0,9$  mm; ÁFD  $3,7 \pm 1,0$  %; ÁFD/ Nitrát arány:  $23,9 \pm 7,3$  %. Az alapvizsgálat során betegeinknél vérnyomás csökkentő terápiaként 240 mg retard verapamil (Isoptin SR 240) állítottunk be. Ezt követően egy héten belül került sor az első ellenőrző vizsgálatra mely során a mellékhatásokra kérdeztünk rá, vérnyomás ellenőrzést és újabb ÁFD vizsgálatot végeztünk. A záró vizsgálatra 6 hét múlva került sor melynek során az alapvizsgálatnak megfelelő vizsgálatokat ismételtük meg. A statisztikai elemzést egymintás t-próbával és variancia analízissel végeztük.

### Eredmények

A vérnyomás az első kontroll vizsgálat során már szignifikáns mértékben csökkent ( $150,7 \pm 11 / 89,2 \pm 5,3$  Hgmm-re,  $p < 0,02$ ), mely csökkenés a záróvizsgálatkor még kifejezettebb volt ( $143,1 \pm 9,9 / 84,9 \pm 4,1$  Hgmm,  $p < 0,01$ ). A szívfrekvencia, az artéria brachialis átmérője és a labor értékek egyike sem változott érdemben a követés során. Az ÁFD értékét az első ellenőrzéskor  $5,9 \pm 3,4$  %-nak (n.s.) a záróvizsgálatkor  $8,3 \pm 3,4$  %-nak ( $p < 0,01$ ) találtuk (17. Ábra). Az ÁFD/Nitrát arány az első kontroll során  $38,0 \pm 9,5$  % (n.s.) a záróvizsgálatkor  $54,6 \pm 10,2$  % ( $p < 0,01$ ) volt. A NITRÁT okozta, nem endothel függő dilatáció mértékében nem volt szignifikáns változás sem az egy hetes, sem a hat-hetes kontroll vizsgálatkor. (alap:  $15,5 \pm 4,8$  %; 1 hét:  $15,5 \pm 4,8$  %; 6 hét:  $15,1 \pm 4,8$  %)



17. ábra. ÁFD változás 1 hetes és 6 hetes retard verapamil kezelés hatására korábban kezeletlen 10

hypertoniás betegnél, kiknél a kiindulási ÁFD kóros volt.

### Megbeszélés

A napi 240 mg retard verapamil a hatodik hét végére szignifikánsan javította az artéria brachialis ÁFD-ját. A  $Ca^{++}$  antagonistákkal kapcsolatos eddigi vizsgálatok a dihidropiridinek hatását vizsgálták. Kísérleti körülmények között állatok receptor receptor dependens endothel funkcióját értékelték [1, 56, 73, 147, 165, 172]. Mi a phenylalkilamin csoportba tartozó verapamil retard készítményének 6 hetes szedését is előnyösnek találtuk az endothel funkció javítása terén. Az egy héten belüli első kontroll vizsgálatnál nem találtunk szignifikáns javulást a beteg áramlásfüggő endothel funkciójában. Ebből az következik, hogy az endothel funkció javulása legalábbis részben a tartós gyógyszerhatással kapcsolatos. A  $Ca^{++}$  antagonisták endothel funkciót javító, akutan érvényesülő hatásának jelátviteli mechanizmusa részben tisztázott [172]. Emellett a krónikus gyógyszerhatás feltételezhetően transcripsiós faktorok aktiválódását eredményezi [107]. Ezek a gének promoter régióhoz kötődően egyes gének aktivációját fokozzák, más gének aktivációját csökkentik. Ennek eredményeként megváltozik az endothel reakciókészsége mind a nyírófeszültség fokozódására, mind más receptorokon

keresztül érvényesülő agonisták és antagonisták okozta ingerekre. Ennek végeredménye a tartós verapamil kezelés következtében a fokozott áramlásfüggő dilatació hajlamos. Természetesen az endotelben végbemenő változások mellett a simaizom sejtekben végbemenő esetleges változásoknak is szerepe lehet, bár a vizsgálatunkban a nitrát utáni, nem endothel függő dilatació nem változott. Ezen a téren még számos kérdés tisztázandó. A viszonylag kis betegszám amiatt van, mert nagyon szigorú bevételi kritériumokat határoztunk meg. A korábban tárgyalt ACE inhibitor kezelés hatását értékelő vizsgálat során szerzett tapasztalatunk az, hogy azon betegeket érdemes beválasztani az endothel funkció javítási szándékát célzó gyógyszerhatás vizsgálatba, kiknél kóros endothel funkciót észlelünk a gyógyszer adása előtt. Ez a jelentős egyéni különbségek miatt a betegek mintegy felének kiesését eredményezte kezeletlen hipertóniások esetén, viszont így a statisztikai értékelés szempontjából előnyösebb csoportot nyertünk.

### 7.5.3.2. Amlodipin hatásának vizsgálata az ÁFD-ra

A  $Ca^{++}$  antagonisták endothel funkcióra gyakorolt hatásával kapcsolatos tanulmányok zöme a dihydroyridinek hatását vizsgálta. [1, 56, 73, 165, 172]. A következő tanulmányban e csoportból a harmadik generációs amlodipin hatását vizsgáltuk.

#### Betegek és módszer

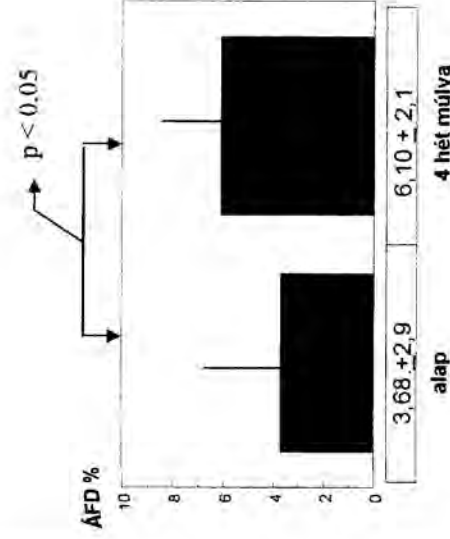
Korábban kezeletlen hipertóniás betegek viszonylag ritkán kerülnek kardiológushoz. Ezen betegek általában családorvosukkal találkoznak először, aki a betegek gyógyszeres kezelését elkezdte. A korábbi vizsgálati protokollok (retard verapamil hatásának vizsgálata) során tapasztalt betegborzásti nehézségek miatt úgy határoztunk, hogy az amlodipin terápia hatását az endothel funkcióra olyan betegeknél vizsgáljuk, kiknél a bevéasztáskor kóros



ÁFD-t találunk az addig alkalmazott *terápia mellett*. A hipertónia mellett endoethel diszfunkcióhoz vezető rizikófaktorok közül a diabetes és a hyperlipoproteinaemia emelhető ki. Ezen vizsgálati protokollban ezek egyikét sem tekintettük kizárási kritériumnak. Sőt arra való tekintettel, hogy ezen betegek között gyakoribb lesz a kóros endoethel funkció, olyan 20-70 év közötti diabeteses beteget választottunk be a vizsgálatba, kiknél a magasabb tenzió miatt az amlodipin beállításának fennállt az indikációja. Emellett azt tekintettük fontosnak, hogy az utóbbi három hónapban olyan lényeges terápiás változtatás nem történt, mely az endoethel funkcióra ható gyógyszereket érintette. Kizárási kritérium volt az ismert coronaria sclerosis, illetve arteriosclerosis, a nitrát kezelés illetve interkurrens betegség. Az alapvizsgálat anamnézis felvételből, rutin fizikális vizsgálatból és ÁFD vizsgálatból állt. Az addigi terápia folytatása mellett 10 mg amlodipint állítottunk be betegeinknél, majd a fenti vizsgálatokat négy hét múlva megismételtük. A vizsgálatba két hónap alatt 12 beteget vontunk be. (7 férfi és 5 nő; átlagéletkor  $52,2 \pm 11,3$  év).

#### Eredmények

A négyhetes kezelés alatt a vérnyomás szignifikáns mértékben csökkent ( $148+10/93+8$  Hgmm-ről  $143+7/88+6$  Hgmm-re;  $p<0,05$ ). Az alapvizsgálat során mért ÁFD ( $3,7 \pm 2,9$  %) a négyhetes amlodipin kezelés hatására ( $6,1 \pm 2,1$  %-ra) emelkedett ( $p<0,05$ ) (18. ábra). Hasonló szignifikanciával javult az ÁFD/Nitrát arány is ( $27,9 \pm 12,1$ %-ról  $40,6 \pm 14,9$ %-ra). Nitrát utáni dilatáció nem változott szignifikáns mértékben. ( $13,1+4,7$ %-ról  $15,2+4$ %-ra).



18. ábra. 4 hetes amlodipin kezelés hatása 12 diabeteses beteg artéria brachialisának áramlásfüggő dilatációjára.

### Megbeszélés

Az egy hónapos amlodipin kezelés javította a diabeteses betegek károsodott endothel funkcióját. A protokoll kialakításánál eddigi tapasztalatainkra támaszkodtunk. A betegtoborzási nehézségek miatt lemondtunk a monoterápiáról. A  $Ca^{++}$  antagonisták akutan is várható endothel funkciót javító hatása mellé tevődik a több hetes kezelés pozitív hatása. A verapamilal szerzett tapasztalat alapján feltételezhető, hogy ÁFD-t, azaz az endothel funkciót, javítani szándékozó  $Ca^{++}$  antagonisták hatásának végső megítélése minimum egy hónapos kezelés után célszerű. A korábban már említett BANFF study egyik vizsgált antihypertensív szere az amlodipin. [205]. A tanulmány szerint az amlodipin nem szignifikáns ÁFD növelő hatást eredményezett. Az általunk vizsgált betegcsoport kiindulási ÁFD értéke lényegesen alacsonyabb volt a BANFF populáció ÁFD értékénél. Ez magyarázhatja az eltérő eredményt. Eredményeink alapján arra következtetünk, hogy a harmadik generációs  $Ca^{++}$  antagonisták amlodipin javítja a káros endothel funkcióval rendelkező diabeteses betegek áramlásfüggő dilatációját, mely az antihypertenzív hatás mellett hozzájárulhat a szer antiatherogén hatásához. [161].

### 7.5.3.3. Lacidipin hatása az ÁFD-ra

A lacidipin dihydropyridin csoportba tartozó, harmadik generációs, tartós hatású  $\text{Ca}^{++}$  antagonistá. Hatását az endothel funkcióra, mint  $\text{Ca}^{++}$  antagonistá és mint antioxidáns is kifejti. A  $\text{Ca}^{++}$  antagonisták között ezen hatása a legkifejezettebb, megközelíti az E vitamin antioxidáns hatását [117].

#### Betegek és módszer

10 korábban kezeletlen hipertóniás beteget vontunk be a vizsgálatba. 8 férfi és 2 nőbeteg. Átlagéletkor  $51,3 \pm 15,4$  év. Kizárási kritérium volt a secunder hipertónia. A betegek rutin vizsgálat mellett ÁFD vizsgálaton estek át. Ezt követően a betegek napi 4 mg lacidipin monoterápiát kaptak. Az ÁFD vizsgálatot 1 hét, 2 hét, 4 hét és 3 hónap múlva megismételtük. A statisztikai elemzést variancia analízissel végeztük.

#### Eredmények

A lacidipin kezelés egy hét után szignifikáns mértékben csökkentette a vérnyomást, későbbiekben további csökkenés nem volt megfigyelhető. A betegeknél az ÁFD már egy hetes lacidipin kezelés után szignifikáns mértékben megnőtt, mely növekedés a harmadik hónap végéig fennállt. Ugyanez figyelhető meg az ÁFD/NITRÁT arány vonatkozásában. A NITRÁT okozta dilatáció nem változott a lacidipin kezelés hatására.

XII. táblázat: Napi 4 mg lacidipin kezelés hatása 10 hipertóniás betegek vérnyomására és endothel funkciójára:

	Alap	1 hét	2 hét	4 hét	3 hó
RR	158,2/102,3±3,1	139±11/88,8±8,8	135,5±7,3/85,6±6,8	140,3±13,2/85±7,1	135±7,9/82,8±4,4
ÁFD	5,1 ± 2	8,0 ± 3,5	8,3 ± 3,5	10,5 ± 3,3	7,1 ± 2,1
NITRÁT	17,8 ± 3,6	18,9 ± 6,6	19 ± 4,4	22,2 ± 6,4	19,6 ± 3,2
FMD/NITRÁT	28,7 ± 11,1	42,3 ± 10,9	42 ± 10,1	48,9 ± 17,5	36,7 ± 9,5

*A vastagon szedett értékek p<0,05 szinten szignifikánsan változtak az alap értékhez képest.*

### Megbeszélés

A lacidipin kezelés egyrészt, mint Ca<sup>++</sup> antagonistá, másrészt, mint antioxidáns fejt ki hatását az endothel funkcióra. A lacidipin antioxidáns hatását három kísérleti modellen is tanulmányozták:

- A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hatására a simaizomsejtekben bekövetkező Ca<sup>++</sup> koncentráció emelkedésre kifejtett hatás vizsgálata. [169].
- Az LDL koleszterin Cu<sup>++</sup> ion által indukált oxidációjára kifejtett hatás vizsgálata. [117].
- Membrán lipid peroxidációjára kifejtett hatás vizsgálata. [194].

Mindhárom modellen a lacidipin antioxidáns hatása a legnagyobb volt a Ca<sup>++</sup> antagonisták között. A lipofilitás miatt a membránban kifejtett antioxidáns hatás még kifejezettebben érvényesül. Ugyancsak igazolták, hogy a lacidipin gátolja az NFκB aktivációját és az adhéziós molekulás expresszióját. [37].

Napi 4 mg lacidipin adása mellett, a verapamilnál megfigyelhető tendenciával ellentétesen, az egy hetes kezelés után már szignifikáns volt az ÁFD növekedés mértéke. További nem szignifikáns növekedés volt a negyedik hétig, viszont a három hónapos értéknél nem

szignifikáns visszaesés észlelhető. A variancia analízis szerint az egy hetes lacidipin kezelés hatására bekövetkezett ÁFD javulás fennmaradt a harmadik hónap végéig. Ugyanez mondható el az ÁFD/NITRÁT arány vonatkozásában is. Az ÁFD növekedés mértéke nagyobb volt, mint azt a verapamil illetve amlodipin esetében láttuk. Egyelőre nem tudjuk, hogy ebben mennyi a lacidipin és a másik két szer  $Ca^{++}$  antagonistá hatásában lévő különbség, illetve az eltérő antioxidáns kapacitás szerepe. A lacidipin kifejezett antioxidáns kapacitásával kapcsolatosan utalok az antioxidáns terápia terén korábban leírt kételyekre.

Az eddigi vizsgálatok szerint mindhárom vizsgált  $Ca^{++}$  antagonistá szer szignifikáns mértékben növelte az ÁFD-t, ami csoport specifikus hatásnak tűnik. A közeljövőben várható az ELSA és PREVENT tanulmányok eredménye, melyek a harmadik generációs  $Ca^{++}$  antagonisták antiatherosclerotikus hatását vizsgálják.

## 8. Összefoglalás:

A dolgozatban 140 beteg összesen mintegy 400 ÁFD vizsgálata során szerzett tapasztalataimat foglaltam össze. Az irodalomban eddig kevésbé tisztázott kérdéseket próbáltam megközelíteni.

Főbb megállapításaim a következők:

- 1./ Az ÁFD vizsgálata egy olyan nem invazív módszer, mely könnyen hozzáférhető, kockázatmentes, viszonylag olcsó vizsgálat. A módszer csak az endothel funkció vazomotor tónust befolyásoló hatására informatív.
- 2./ Igazoltam, hogy módszertani szempontból az áramlási ingert képző nyírófeszültség nagyságának jellemzésére a centrális áramlási sebesség változása alkalmasabb mint az artérián átáramló vérmennyiség változása.
- 3./ Kimutattam, hogy a hematokrit és ezzel együtt a teljes vér viszkozitás szélsőséges változása sem befolyásolja az ÁFD értékét.
- 4./ Korábban kezeletlen hipertóniások endothel funkciója károsodott, de ezen károsodás mértéke egyénenként igen különböző. Így egy adott terápia endothel funkcióra kifejtett hatását azon betegcsoportnál érdemes vizsgálni, ahol a kiindulási endothel funkció káros
- 5./ Kimutattam, hogy az ACE gátló benazepril kezelés hatására a károsodott endothel funkciót jelző alacsony ÁFD érték már az első dózis után növekszik, mely javulás tartósan fennmarad a szer egy hónapos adása után is.
- 6./ Vizsgálataim szerint a  $Ca^{++}$  antagonisták in vivo javítják az ÁFD-t mely tulajdonság valószínűleg a csoport valamennyi tagjára jellemző, bár az egyes szerek illetően hatása között különbségek vannak. A kedvező hatás hetek alatt érvényesül.

- 7./ Kimutattam, hogy az ÁFD vizsgálata alkalmasnak látszik az antracyclin adás provokálta oxidatív stressz megítélésére és azon betegek kiválasztására, akiknél az antioxidáns kapacitás alacsony volta nagyobb veszélyt jelent a cardiomyopathia kialakulására.
- 8./ Eredményeim igazolták, hogy az ÁFD vizsgálata alkalmas az atherosclerosis korai szakaszának tanulmányozására és alkalmas egyes gyógyszerek endothel funkcióra kifejtett hatásának megítélésére.

## Köszönetnyilvánítás

Munkámhoz közeli és távolabbi munkatársaimtól sok segítséget kaptam, sajnos itt nincs mód mindenkit megemlíteni.

Nagy hálaival tartozom munkahelyi vezetőmnek, tanítómesteremnek, Dr. Tarján Jenő Tanár Úrnak, akiktől a klinikai kutatást elsajátítottam, aki munkámban mindvégig óriási szakmai és erkölcsi támogatást nyújtott.

Ugyancsak hálás köszönetet mondok Dr. Tóth Kálmán Tanár Úrnak, aki mint programvezető pótolhatatlan tudományos segítséget nyújtott, emellett baráti támogatását mindvégig élveztem, melyek nélkül munkám nem készülhetett volna el.

Szintén csak a hála és a tisztelet szavait kell említenem, mikor Prof. Dr. Róth Erzsébet Egyetemi Tanárnak segítségét megköszönöm, aki tiszta gondolkodásával, emellett lenyűgöző kedvességével mindvégig biztos támaszt jelentett számomra.

Köszönetet mondok közvetlen munkatársaimnak, kiknek segítsége nélkül a tudományos kutatás elképzelhetetlen lett volna.

Sok segítséget kaptam a Vas Megyei Markusovszky Kórház Hematológiai Osztályának és Központi Laboratóriumának, a POTE Kísérletes Sebészeti Tanszékének munkatársaitól egyaránt.



### Irodalom

- (1) Adams DJ, Barakeh J, Laskey R Van Breemen C. Ion channels and intracellular calcium in vascular endothelial cells. *FASEB J* 1989;3:2389-2400.
- (2) Adams MR, McCredie R, Jesup W, Robinson J, Sullivan D, Celermajer DS. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilatation and reduces monocyte adhesion to endothelial cells in young men with coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 1997; 129: 261-269.
- (3) Admiraal PJJ, Derx FHM, Danser J, et al. Metabolism and production of angiotensin I in different vascular beds in subjects with hypertension. *Hypertension*, 1991; 15: 44-45.
- (4) Alexander RW. Hypertension and pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective. *Hypertension*. 1995; 25: 155-163.
- (5) Anderson JT, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrande D, Lieberman EH, Ganz P, Yeung AC, Selwyn AP. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulation. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1235-41
- (6) Anderson TJ, Meredith IT, Jeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Eng J Med*. 1995; 332: 488-493.
- (7) Anderson TJ, Overhiser RW, Haber H, Charboneau F. A comparative study of four anti-hypertensive agents on endothelial function in patients with coronary disease. *J Am Coll Cardiol*. 1998; 31(2 Suppl A): 327A.
- (8) Andrews TC, Raby K, Barry J, et al. Effect of cholesterol reduction on myocardial ischaemia in patients with coronary disease *Circulation*. 1997; 95: 324-328.
- (9) Ångard IE. Nitric oxide: mediator, murderer and medicine. *Lancet* 1994;343: 1199-2006
- (10) Antony I, Lerebours G, Nitenberg A. Angiotensin-converting enzyme inhibition restores flow-dependent and cold pressor test-induced dilations in coronary arteries of hypertensive patients. *Circulation*. 1996; 94: 3115-3122.
- (11) Austin MA. Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arterioscler Thromb*. 1991; 11: 2-14.
- (12) Bank AJ, Rector Ts, Tschumperlin LK, Kreamer MD, Letorneau JG, Kubo SH. Endothelium-dependent vasodilatation of peripheral conduit arteries in patients with heart failure. *J Card Fail*. 1994;1:35-43.
- (13) Bassler RL, Green MD. Strategies for prevention of anthracyclin cardiotoxicity *Cancer Treatment Reviews* 1993;19:57-77

- (14) Berkenboom G, Langer I, Carpentier Y, Grosfils K, Fontaine J. Ramipril prevents endothelial dysfunction induced by oxidised low-density lipoproteins. *Hypertension*. 1997; 30: 371-376.
- (15) Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer L, Edwards PA et al. Arteriosclerosis: Basic mechanisms oxidation, inflammation and genetics. *Circulation* 1995;91: 2488-96
- (16) Bijlstra PJ, Smits O, Luttermann JA, Thien T. Effect of long-term angiotensin-converting enzyme inhibition on endothelial function in patients with the insulin-resistance syndrome. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995; 25: 658-664.
- (17) Boeghold MA. Heterogeneity of endothelial function within the circulation. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1998;7:71-78.
- (18) Bonadonna G, Zucali R, Monfardini S, DeLena M, Uslenghi S. Combination chemotherapy of Hoddgkin's disease with Adriamycin, Bleomycin, Vinblastine and Imidazole Carboxamide versus MOPP. *Cancer* 1975; 36: 252-262.
- (19) Breed JGS, Zimmerman ANE, Dormans JAMA, Pinedo HM: Failure of the antioxidant vitamin E to protect against adriamycin induced cardiotoxicity in the rabbit *Cancer Res* 1980;40:2033-2038.
- (20) Brisseau G, Dackiw A, Cheung P, Christie N, Rithstein O. Posttranscriptional regulation of macrophage tissue factor expression by antioxidant. *Blood* 1995; 85: 1025-1035.
- (21) Bristow MR, Lopez MB, Mason JW, Billingham M.E., Winchester M.A.: Efficacy and cost of cardiac monitoring in patients receiving doxorubicin. *Cancer* 1982;50:32-41.
- (22) Bristow MR., Thompson PD, Marin RP, Mason JW, Billingham, M.E. and Harrison, D.C., Early anthracycline cardiotoxicity. *Am. J. Med.* 1978; 65: 823-832.
- (23) Cambien F, Costerousse O, Tiret L et al. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction. *Circulation* 1994; 90: 669-676.
- (24) Cambien F, Poirier O, Lecerf L et al. Deletion polymorphism in the gene of angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644.
- (25) Catterall W, Striessing J, Receptor sites for Ca<sup>2+</sup> channel antagonists *Trends Pharmacol Sci* 1992;13:256-262.
- (26) Celermajer DS, Adam MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A, Deanfield JE. Passive smoking and impaired endothelium dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med* 1996;334:150-54.
- (27) Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M et al. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria, but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 854-858.

- (28) Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DS, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Ageing is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women *J Am Coll Cardiol* 1994;24:471-476
- (29) Celermajer, DS et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis *Lancet* 1992; 340:1111-15.
- (30) Celermajer, DS. et al Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilatation in healthy young adults *Circulation*. 1993; 88 (part1):2149-2155.
- (31) Celermajer,DS,et al. Endothelium-Dependent Dilatation in the Systemic Arteries of Asymptomatic Subjects Relates to Coronary Risk Factors and Their Interaction *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468-74
- (32) Chowienczyk PJ, Kneale BJ, Brett SE, Paganga G, Jenkins BS, Ritter JM. Lack of effect of vitamin E on L-arginine-responsive endothelial dysfunction in patients with mild hypercholesterolaemia and coronary artery disease. *Clin Sci* 1998;94:129-134.
- (33) Chowienczyk PJ, Watts GF, Cockcroft JR, Ritte JM, Impaired endothelium-dependent vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolaemia. *Lancet* 1992;340:1430-1432
- (34) Clarkson D, Adams MR, Powe A et al. Oral L-arginin improves endothelium dependent dilatation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 1996;97:1989-1994
- (35) Clarkson D, Montgomery H, Donald A, Powe A, Bull T, Dollery C, Jubb M, World M, Deanfield J. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol*. 1996; 27: 288A
- (36) Clarkson P, Celermayer DS, Donald AE, Sampson M, Sorensen KE, Adams M, Yue DK, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density cholesterol levels *J Am Coll Cardiol* 1996;28:573-579.
- (37) Cominacini L, Garbin U, Fratta Pasini A, Paulon T, Davoli A, Campagnola M, March E, Pastorino AM, Gaviraghi G, Lo Cascio V. Lacidipine inhibits the activation of the transcription factor NF-kappaB and expression of adhesion molecules induced by pro-oxidant signals on endothelial cells. *J Hypertens*. 1997;15:1633-1640.
- (38) Coretti MC et al. Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound *Am. J. Physiol*. 1995 268 H1397-H1404
- (39) Coretti MC, Plotnick GD, Vogel RA, Effect of treadmill exercise on flow mediated brachial artery vasoreactivity. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:130A.
- (40) Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME et al. Impaired vasodilatation o forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228-234.

- (41) Creager MA, Gallagher SJ, Giererd XJ, Coleman SM, Dzau VJ, Cooke JP. L-arginine improves endothelial dependent vasodilatation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest.* 1992; 90: 1248-1253.
- (42) Creager MA, Roddy M-A: Effect of Captopril and Enalapril on Endothelial Function in Hypertensive Patients. *Hypertension.* 1994; 24:499-505.
- (43) Darling GM, Johns GA, McCloud PI, Davis SR. Estrogen and progestin compared with simvastatin for hypercholesterolemia in postmenopausal women. *N Eng J Med.* 1997; 337: 595-601.
- (44) Davies FP Flow-Mediated Endothelial Mechanotransduction *Physiol. Rev* 1995;75:519-560.
- (45) DeMaio SJ, King SB III, Lembo NJ, Roubin GS, Hearn JA, Bhagavan HN, Sgoutas DS. Vitamin E supplementation, plasma lipids and incidence of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTC) *J Am Coll Nutr* 1992;11:68-73.
- (46) Dohi Y, Criscione L, Pfeiffer K Lüscher TF. Angiotensin blockade or calcium antagonists improve endothelial dysfunction in hypertension: Studies in perfused mesenteric resistance arteries *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24:372-379.
- (47) Dorr RT., Cytoprotective agents for anthracyclines Seminars in oncology 1996; 23, No 4, Suppl 8 (August), 23-24.
- (48) Dresdale AR, Barr LH, Bonow RO., et al. Prospective randomised study of the role of N-acetyl cysteine in reversing doxorubicine-induced cardiomyopathy. *Am.J.Clin. Oncol.* 1982; 5: 657-663.
- (49) Drexler H, Hayoz D, Münzel T et al. Endothelial function in chronic heart failure. *Am Heart J.* 1993; 126: 761-764.
- (50) Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients by L-arginine. *Lancet.* 1991, 338: 1546-1550.
- (51) Drexler H, Zeiher AM. Endothelial function in human coronary arteries in vivo: focus an hypercholesterolemia. *Hypertension.* 1991; 18(Suppl II): II 90 – II 99.
- (52) Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HGM-coenzyme-A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation.* 1997; 95: 1126-1131.
- (53) Dzau JV, Gibbson GH. Endothelium and growth factors in vascular remodelling of hypertension. *Hypertension.* 1991; 18 (Suppl III): III-115 – III-121.
- (54) Dzau VJ. Tissue renin-angiotensin system in myocardial hypertrophy and failure. *Arch Intern Med.* 1993; 153: 937-942.

- (55) Egashira K, Hirooka Y, Kai H et al. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia *Circulation* 1994;89:2519-2525.
- (56) Eisert A, Cordes A, Salameh A, Rösen R, Fricke U. Influence of nitrendipine, diltiazem and dotarazine on vascular tone. NO formation and endothelial calcium levels. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1996;353:R37
- (57) Elliott HL. Vascular reactivity: a measurement of calcium channel blockade. *J Hum Hypertens*. 1995; 9 (Suppl1): S29-S32.
- (58) El-Tamini H, Mansour M, Wargivich TJ et al. Constrictor and dilator responses to intracoronary acetylcholine in adjacent segments of the same coronary artery in patients with coronary artery disease: endothelial function revisited. *Circulation* 1994; 89: 45-51.
- (59) Fehér János. A szabad gyök reakciók szerepe különböző élettani folyamatokban, emberi megbetegedésekben. *Orvosi Hetilap* 1988;129: 2667-2672
- (60) Feron O, Salomone S, Godfraind T. Blood pressure-independent inhibition by lacidipine of endothelin-1-related cardiac hypertrophy in salt-loaded, stroke prone spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995; 26 (suppl 3): S459-S461.
- (61) Fink FM, Genser N, Fink C, Falk M, Mair J Mauer Dengg K, Hammerer I, Puschendorf B Cardiac troponin T and creatin kinase MB mass concentrations in children receiving antracycline chemotherapy *Med Pediatric Oncol* 1995; 25 (3): 185-189.
- (62) Freiman PC, Mitchell GC, Haistad DD, Armstrong ML, Harrison DG. Atherosclerosis impairs endothelium-dependent relaxation to achetylcholine and thrombin in primates *Circ Res*. 1986; 58: 783-789.
- (63) Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376
- (64) Ganz WI, Sridhar KS, Ganz SS, Gonzalez R, Chakko S, Serafini A. Review of tests for monitoring doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Oncology* 1996;53:461-470.
- (65) Gerhard MD, Creager SJ, Roddy M-A, Haley EA, Creager MA. Long term estradiol therapy improves endothelium-dependent vasodilatation of forearm resistance vessels in postmenopausal women. *Circulation*. 1997; 96(abst suppl):1-420 Abstract 2345.
- (66) Gibbson GH, Dzau VJ. The emerging concept of vascular remodelling *N Eng J Med* 1994, 330: 1431-1438.
- (67) Glenn N et al. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease *Circulation*. 1996;93:1107-1113.
- (68) Godfraind T, Salomone S. Ca antagonists and endothelial function: focus on nitric oxide and endothelin. *Cardiovasc Drugs Ther*. L996; 10: 439-446.

- (69) Goodfriend TL, Elliott ME, Catt KJ. Drug therapy- Angiotensin receptors and their antagonists. *N Eng J Med.* 1996; 334: 1649-1654.
- (70) Griendling KK, Lassegue B, Alexander RW. Angiotensin receptors and their therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1996; 36: 281-306
- (71) Griendling KK, Alexander RW. Oxidative stress and cardiovascular disease. *Circulation* 1997; 96: 3264-3265.
- (72) Griendling KK, Mineri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 1994; 74: 1141-1148.
- (73) Guenther J, Dhein S, Roesen R, Klaus W, Fricke U. Nitric oxide (EDRF) enhances the vasorelaxing effect of nitrendipine in various isolated arteries *Basic res Cardiol* 1992;87:452-60.
- (74) Hahn AW, Resink TJ, Scott-Burden T, Powel J, Dohi Y, Buhler FR. Simulation of endothelin mRNA and secretion in rat vascular smooth muscle cells: a novel autocrine function. *Cell Regul* 1990;1:649-659.
- (75) Haq MM, Legha SS, Choksi J, Hortobágyi GN, Benjamin RS, Ewer M, Ali A. Doxorubicin induced congestive heart failure *Cancer* 1985;56:1361-1365.
- (76) Harrison DG, Armstrong ML, Freiman PC, Heistad DD. Restoration of endothelium-dependent relaxation in dietary treatment of arteriosclerosis. *J Clin Invest.* 1987; 80: 1808-1811.
- (77) Harrison DG. Endothelial dysfunction in arteriosclerosis. *Basic Res Cardiol.* 1994; 89 (suppl 1):87-102.
- (78) Harrison DG. Endothelial function and oxidant stress. *Clin Cardiol.* 1997; 20 (Suppl II): II-11 - II-17.
- (79) Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kozaki K, Koba K, Sagara Y, Taketani Y, Orimo H, Ouchi Y. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995;92:3431-35.
- (80) Heinecke J, Baker L, Rosen H, Chait A. Superoxide-mediated modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1986; 77: 757-761.
- (81) Heizer T, Ylä-Herttua S Luoma J et al. Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia: role of oxidised LDL *Circulation.* 1996; 93: 1346-1353.
- (82) Hillis GS, Flapan AD. Cell adhesion molecules in cardiovascular disease: a clinical perspective. *Heart.* 1998; 79: 429-431.
- (83) Hirooka, Y, Imaizumi T, Masaki H, et al. Captopril improves impaired endothelium-dependent vasodilatation in hypertensive patients *Hypertension* 1992; 20: 175-180.

- (84) Hoeg JM. Can genes prevent atherosclerosis? *JAMA*. 1996; 276: 989-992.
- (85) Hornig B, Arakawa N, Kohler C, Drexler H. Vitamin C improves endothelial function of conduit arteries in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 1998;97:363-368.
- (86) Hornig B, Mayer V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 1996; 93: 210-214.
- (87) Houghton JL, Davison CA, Kuhner PA, Torosov MT, Strogatz DS, Carr AA. Heterogeneous vasomotor responses of coronary conduit and resistance vessels in hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:374-382.
- (88) Huang A; Sun D; Kaley G; Koller A. Superoxide released to high intra-arteriolar pressure reduces nitric oxide-mediated shear stress- and agonist-induced dilations. *Circ Res* 1998; 83(9):960-965.
- (89) Hudak ML, Jones MD, Popel AS, Koehler RC, Traysman RJ, Zeger S. Hemodilution causes size-dependent constriction of pial arterioles in the cat. *Am J Physiol* 1989;257(Heart Circ Physiol 26):H912-H917.
- (90) Hull SS, Kaiser L, Jaffe D Sparks HV, Endothelium-dependent flow induced dilatation of canine femoral and saphenous arteries *Blood Vessels* 1986;23: 183-198.
- (91) Hunyadi L, Balla T, Catt KJ. The ligand binding site of the angiotensin AT1 receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 1996;17: 135-140.
- (92) Hunyady László, Nagy Lajos: Az AT 1 angiotenzin receptor gátlás mint új terápiás lehetőség. *Orvosi Hetilap* 1997; 138: 2583-2590.
- (93) Hussain S, Andrews NP, Mulcahy D, Panza JA, Quyyumi AA. Aspirin improves endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 1998; 97:716-720.
- (94) Inoue N, Ohara Y, Fukai T, Harrison DG, Nishida K. Probucol improves endothelial-dependent relaxation and decreases vascular superoxide production in cholesterol-fed rabbits. *Am J Med Sci*. 1998;315:242-247.
- (95) Ito H, Miller SC, Billingham ME., Akimoto H, Torti SV, Wade R, Gahlmann R, Lyons G. Doxorubicine selectively inhibits muscle gene expression in cardiac muscle cells in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4275-4279.
- (96) Izzo MR, Feldman MD, Wu C, Jafar MZ, Jakobs K, Diwen W, Kropcho L, George J, Counihan PJ. Plasma homocysteine levels predict brachial artery vasoreactivity in patients with coronary artery disease *J Am Coll Cardiol* 1996;27:412A.
- (97) Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995;91:1314-19
- (98) Johnston CI. Angiotensin receptor antagonists: Focus on losartan. *Lancet*. 1995; 346: 1403-1407.

- (99) Jones SE, Grozen PN, Metz EN. Superiority of Adriamycin-containing combination chemotherapy in the treatment of diffuse lymphoma. *Cancer* 1979; 43: 417-426.
- (100) Kaley G, Huang A, Sun D, Kichuk MR, Marboe CC, Addonizio LJ, Michler RE, Koller A. Endothelium dependent regulation of human coronary arterioles. *FASEB J* 1995; Vol 9 no4: A 914.
- (101) Kiowski W, Linder L, Nuesch R, Martina B. Effects of cilazapril on vascular structure and function in essential hypertension. *Hypertension*. 1996, 27(Part I): 371-376.
- (102) Koller A, A mikrovaszkuláris endothel szerepe a perifériás ellenállás szabályozásában *Card. Hung* 1997; (Suppl 2): 21-29.
- (103) Koller A, Huang A. Shear stress induced dilatation is attenuated in skeletal muscle arterioles of hypertensive rats. *Hypertension* 1995;25 (part 2):758-763.
- (104) Koller A, Sun D, Kaley G. Role of shear stress and endothelial prostaglandins in flow- and viscosity-induced dilatation of arterioles in vitro *Circ. Res.* 1993; 72: 1276-1284.
- (105) Kovács I, Tarján J, Nagy L: ACE inhibitoro hatása az endothel functiora instabil anginában *Card Hung* 1997; Suppl 2:13-16
- (106) Kuo L, Davies MJ Chilian WM. Endothelium dependent flow-induced dilatation of isolated coronary arterioles *Am. J. Physiol* 1990; (Heart Circ Physiol 28): H1063-H1070.
- (107) Lan Q, Mercurius KO, Davies PF. Stimulation of transcription factors NFκB and API in endothelial cells subjected to shear stress. *Biochem. Biophys. Res Commun* 1994;201:950-956.
- (108) Lefrak EA, Pitha J, Rosenheim S. and Gottlieb JA. A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity. *Cancer* 1973; 32: 302-314
- (109) Legha SS, Wang YM, Mackay B. et al. Clinical and pharmacological investigation of the effects of alfa-tocopherol on Adriamycin cardiotoxicity. *Ann N Y Acad Sci.* 1982; 393:411-418.
- (110) Leung WH, Lau CP, Wong CK. Beneficial effect of cholesterol lowering therapy on coronary endothelium -dependent relaxation in hypercholesterolemic patients. *Lancet* 1993;341:1496-1500
- (111) Liao Y, Hussain A. The chymase-angiotensin system in humans: biochemistry, molecular biology and potential role in cardiovascular disease. *Can J Cardiol.* 1995; 11 (Suppl F): 13F-19F.
- (112) Libby P. Inflammatory and immune mechanisms in atherogenesis. In: Leaf A, Weber PC eds. *Atherosclerosis Reviews* 1990; 21: 79-89.
- (113) Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Walsh BW, Selwyn AP et al. Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilatation in postmenopausal women. *Ann Inter Med* 1994;121:936-941.



- (114) Lou X, Evrosky Y, Cole D Trines J, Benson LN, Lehotay DC. Doxorubicin induced acute changes in cytotoxic aldehydes, antioxidant status and cardiac function in rat *Biochem Biophys Acta* 1997; 1360 (1) :45-52.
- (115) Ludmer PL, Selwyn AP, Schok TL et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in arteriosclerotic coronary arteries. *N Eng J Med.* 1986; 315: 1046-1051.
- (116) Lundman P, Eriksson M, Schenck-Gustafsson K, Farpe F, Tornvall P. Transient triglyceridemia decreases vascular reactivity in young, healthy men without risk factors of coronary heart disease. *Circulation.* 1997;96:3266-3268.
- (117) Lupo E, Locher R, Weiser B, Vetter W. In vitro antioxidant activity of Ca antagonists against LDL oxidation compared with alfa-tocopherol. 1994; 203(3): 1803-1808.
- (118) Lüscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clin Card.* 1997; 20 (Suppl II): II-3 - II-10.
- (119) Lüscher TF, Boulanger CM, Dohi Y, Yang Z. Endothelium-derived contracting factors. *Hypertension.* 1992; 19: 117-130.
- (120) Lüscher TF. Angiotensin, ACE-inhibitors and endothelial control of vasomotor tone. *Basic Res Cardiol.* 1993; 88 (Suppl I): 15-24.
- (121) Lüscher TF. The endothelium and cardiovascular disease. A complex relation. *N Eng J Med.* 1994. 330: 1081-1083.
- (122) Lyons D, Webster J, Benjamin N. Effect of enalapril and quinapril on forearm vascular ACE in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1997; 51: 373-378.
- (123) Mancini GBJ, Henry GC, Macaya C, et al Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease: the TREND (Trial on Reversing Endothelial Dysfunction) study. *Circulation.* 1996;94:258-265.
- (124) Marui N, Offemann MK, Swerlic R, Kunsch C, Rosen CA, Ahmad M, Alexander RW, Medford RM. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 1866-1874.
- (125) Mason JW, Bristow MR, Billingham E, Daniels JR. Invasive and non-invasive methods of assessing adriamycin cardiotoxic effects in man, superiority of histopathologic assessments using endomyocardial biopsy. *Cancer Treat Rep.* 1978; 62: 857-864.
- (126) McCrohon JA, Adams MR, McCredit Rj, et al. Hormone replacement therapy is associated with improved arterial physiology in healthy postmenopausal women. *Clin Endocrinol.* 1996; 45: 435-441.
- (127) McGill JB, Schneider DJ, Arfken CL, Lucore CL, Sobel BE. Factors responsible for impaired fibrinolysis in obese subjects and NIDDM patients. *Diabetes* 1994; 43: 104-109.

- (128) Melkumyants AM, Balashov SA, Khayutin VM: Endothelium dependent control of arterial diameter by blood viscosity. *Cardiovasc Res* 1989;23:741-747
- (129) Messerli FH, Weber MA, Brunner HR. Angiotensin II receptor inhibition – A new therapeutic principle. *Arch. Intern. Med.* 1996; 156: 1957-1965.
- (130) Minor RL Jr., Myers PR, Guerra R Jr, Bates JN, Harrison DG. Diet-induced arteriosclerosis increases the release of nitrogen oxides from rabbit aorta. *J Clin Invest* 1990;86: 2109-2116.
- (131) Minow RA, Benjamin RS, Lee EF, and Gottlieb JA. Adriamycin cardiomyopathy - risk factors, *Cancer*, 1997; 39: 1397-1402.
- (132) Mombouli JV. ACE inhibition, endothelial function and coronary artery lesions. Role of kinins and nitric oxide. *Drugs* 1997;54(Suppl 5): S12-S22.
- (133) Motoyama T, Kawano H, Kugiyama K, Hirashima O, Ugushi M, Yoshimura M, Ogawa H, Yasue H. Endothelium-dependent vasodilatation in the brachial artery is impaired in smokers: effect of vitamin C. *Am J Physiol.* 1997;273:1644-1650.
- (134) Mott MG. Anthracycline cardiotoxicity and its prevention. *Ann N Y Acad Sci* 220-228.
- (135) Müller-Estrl W. Kininogen, kinins and kinships. *Thromb Haemostat.* 1989; 61: 2-6.
- (136) Nagy L, Tarján J, Sámoczi M et al Kezeletlen hypertoniás betegek endothel functionjának vizsgálata terapiája *Card Hung.* 1997; Suppl 2:9-12.
- (137) Nagy L, Tarján J, Sámoczi M, Kovács I, Takács J. Effect of benazepril on endothelial function in previously untreated hypertensive patients. *American Journal of Therapeutics.* 1998. 5: 233-236.
- (138) Nagy Lajos, Tarján Jenő, Németh László, Tóth Kálmán, Róth Erzsébet. Krónikus anémia hatása az artéria brachialis áramlásfüggő dilatációjára. *Orvosi Hetilap* 1998. 139 (52): 3125-3128.
- (139) Lajos Nagy, Kálmán Tóth, Erzsébeth Róth, Jenő Tarján. Effect of transfusion on the endothelium dependent dilatation of brachial artery in patients with chronic anaemia *Clin Hemorrhoeol* (accepted for publication)
- (140) Noll G, Tschudi M, Nava E Lüscher TF. Endothelium and high blood pressure. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1997;17(5):273-279.
- (141) Nunes GL, Robinson K, Kalynych A, King SB III, Sgoutas DS, Berk BC. Vitamin C and E inhibit O<sub>2</sub><sup>-</sup> production in the pig coronary artery *Circulation* 1997;96:3593-3601.
- (142) Nunes GL, Sgoutas DS, Redden RA, Sigman SR, Gravanis MB, King SB III, Berk BC. Combination of vitamin C and E alters the response to coronary balloon injury in pigs *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 156-165.
- (143) Ohakawa HN, Okishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Analyt. Biochem* 1979; 95: 351-358.

- (144) Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolaemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest.* 1993; 91: 2546-2551.
- (145) Painter LB. Inhibition of DNA replication initiation by 4-nitroquinoline 1 oxide adriamycin and ethileneimine. *Cancer Res.* 1978; 38: 4445-4449.
- (146) Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-526
- (147) Panasenko O, Vollnova T, Azizova O, Vladimirov Y. Free radical modification of lipoproteins and cholesterol accumulation in cells upon arteriosclerosis. *Free Radical Biol Med.* 1991; 10: 137-148.
- (148) Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation.* 1993; 87: 1468-1474.
- (149) Panza JA, Quyyumi AA, Callahan TS, Epstein SE. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension *J Am Coll Cardiol.* 1993;21:1145-1151.
- (150) Panza,JA, et al . Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension *N Eng J Med* 1990; 323: 22-27.
- (151) Paoletti R, Bernini F, Corsini A Soma MR. The antiatherosclerotic effects of Ca antagonists. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995; 25 (suppl 3): S6-S10.
- (152) Pepine CJ, Pitt B, Bertrand ME, Timmis A. Emerging role of ACE inhibitors in vascular protection. *J Myocard Ischaemia* 1995;7(suppl 1):50-58.
- (153) Pfeifer MA, Braunwald E, Moyé LA, et al. Effect of captopril on ischaemic events: results of Survival and Ventricular Enlargement Trial. *Circulation.* 1994; 90: 1731-1738.
- (154) Pignoli, O. et al Intimal plus medial thickness of arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging *Circulation* 1986; 74 No 6: 1399-1406.
- (155) Pitt B, Segal R, Martinez FA, et al. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure (Evaluation of Losartan in the Elderly Study, ELITE) *Lancet*; 1997: 349: 747-752.
- (156) Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC: Estimation of product of lipid peroxidation (malondialdehyde) in biochemical systems. *Analyt Biochem* 1996; 16: 359-364.
- (157) Plotnick GD, Coretti MC, Vogel RA, Transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a fatty meal. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27:287A.
- (158) Plotnick GD, Coretti MC, Vogel RA. Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following single high-fat meal. *JAMA.* 1997;278:1682-1686.

- (159) Powis G. Free radical formation by antitumor quinones. *Free Radic Biol Med.* 1989; 6: 63-101.
- (160) Prasad A, Hussain S, Mincemoyer R, Panza A, Cannon RO, Quyyumi AA. Coronary endothelial dysfunction in humans improves with angiotensin converting enzyme inhibition. *Circulation.* 1996; 94(Suppl 1): I-61 A.
- (161) Radl R, Beckman JW, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite induced membrane lipid peroxidation: The cytotoxic potential of superoxid and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys.* 1991; 288:481-487
- (162) Rao GN, Berk BC. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogen expression. *Circ Res.* 1992; 70: 593-599.
- (163) Rapola JM, Virtamo J, Ripetti S et al. Randomised trial of  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infarction. *Lancet* 1997; 349: 1715-1720.
- (164) Rapola JM. Should we prescribe antioxidants to patients with coronary heart disease? *Eur Heart J* 1998; 19: 530-532.
- (165) Roesen R, Bertsch A, Eisert A, Berkels R Fricke U. Endothelium dependent relaxation by Ca antagonist correlates with NO formation *Eur J Clin Inv* 1996;26(Suppl 1): A 44
- (166) Roque M, Heras M, Roig E, Masotti M, Rigol M, Betriu A, Balasch J, Sanz G. Short-term effects of transdermal oestrogen replacement therapy on coronary vascular reactivity in postmenopausal women with angina pectoris and normal result on coronary angiograms. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31:139-143.
- (167) Rosenblum WI, Effects of blood pressure and blood viscosity on fluorescein transit time in cerebral microcirculation in the mouse *Circ. Res* 1970;27:825-833.
- (168) Rosendorff C. The renin-angiotensin system and vascular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol.* 1996;28: 803-812.
- (169) Roveri A, Coassin MG, Maiorino M et al. Effect of hydrogen peroxide on calcium homeostasis in smooth muscle cells. *Arch biochem Biophys.* 1992;297: 265-270
- (170) Röth E, Nemes J, Kapronczay P, Varga G, Jaberansari M, Borsitzky B. Free radical reaction and endogenous antioxidant systems is essential hypertension. *Eur J Intern Med.* 1998; 9: 263-270.
- (171) Rubanyi GM, The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and disease. *J Cardiovascular Pharmacol.* 1993; 22 (Suppl 4): S1-S14.
- (172) Salameh A, Schomecker G, Breitkopf K, Dhein S, Klaus W. The effect of calcium antagonist nitrendipine on intracellular Ca concentration in endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 1899-1904.
- (173) Schultz J, Kaminker K. Myeloperoxidase of the lymphocyte of normal human blood. *Meth. Enzymol.* 1986; 132: 265-267.

- (174) Soma MR, Donetti E, Parolini C, Barberi R, Paoletti R, Fumagalli R, Catapano AL. Effect of lacidipine on the carotid intimal hyperplasia induced by cuff injury. *J Cardiovas Pharmacol* 1994; 23(Suppl 5): S71-S74.
- (175) Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC et al. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease: ten years follow up from Nurses Health Study. *N Eng J Med*. 1991; 325: 756-762.
- (176) Stampfer MJ, Willett WC, Colditz GA, Rosner R, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of postmenopausal estrogen therapy and coronary heart disease. *N Eng J Med*. 1985; 313: 1044-1049.
- (177) Steinhertz LJ., Steinhert PG., Tan CTC, Heller G, Murphy L, Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing antiracycline therapy. *J. Am. Med. Assoc.* 1991; 266: 1672-1677
- (178) Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ, Randomised control trial of vitamin E in patients with coronary artery disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) *Lancet* 1996;347:781-786.
- (179) Stout RW. Insulin and atheroma: 20-yr perspective. *Diabetes Care*. 1990; 13: 631-654.
- (180) Stroess ESG, Kastelein JJ, Cosentino F, Erkelens DW, Wever R, Koomans HA, Lüscher TF, Rabelink TJ. Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in hypercholesterolemia *J Clin Invest*. 1997; 99: 41-46
- (181) Stroess ESG, Koomans HA, De Bruin TWA, Rabelink TJ. Vascular function in the forearm of hypercholesterolaemic patients off and on lipid-lowering medication. *Lancet* 1995;346:467-471.
- (182) Sun D, Huang A, Xu X, Hintze TH, Koller A, Kaley G: Impaired nitric oxide-mediated flow-induced dilatation in coronary arterioles after pacing induced heart failure in dogs. *Circulation* 1995;928 (Suppl 1):768
- (183) Sung BH, Izzo JL Jr, Wilson MF. Effect of cholesterol reduction on blood pressure response to mental stress in patients with high cholesterol. *Am J Hypertens*. 1997; 10: 592-599.
- (184) Tarján J. Az endothel dysfunctio diagnóza és therapiája *Card Hung*. 1997; Suppl 2:3-8
- (185) Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilatation in humans *Circulation*. 1997; 95: 1119-1121.
- (186) The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. *Lancet*. 1993; 342: 821-828.
- (187) The SOLVD investigators. Effect of enalapril on survival of patients with reduced left ventricular ejection fraction and congestive heart failure. *N Eng J Med*. 1991;325: 293-302.

- (188) Thomson L, Trujillo M, Telleri R, Radi R: Kinetics of cytochrom C2+ oxidation by peroxinitrite: Implications for superoxide measurements in nitric oxid-producing biological systems. *Arch Biochem Biophys* 1995; 319:491-497.
- (189) Török B, Róth E, Tigyí A, Zsoldos T, Matkóvics B, Szabo L: Membrane perturbation in myocardium: Oxygen radicals mediated injuries in experiments. *Acta Chir Hung* 1984; 25: 185.
- (190) Tracy RE, Newman WP, Wattigney WA, Srinivasan SR, Strong JP, Berenson GS. Histologic features of arteriosclerosis and hypertension from autopsies of young individuals in a defined geographic population: the Bogalusa Heart Study. *Arteriosclerosis* 1995; 116: 163-79
- (191) Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, et al. Beneficial effects of cholesterol lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995;322:481-487.
- (192) Tsao PS, McEvoy LM, Drexler H, Butcher EC, Cooke JP. Enhanced endothelial adhesivness in hypercholesterolaemia is attenuated by L-arginine. *Circulation*. 1994; 89: 2176-2182.
- (193) Uehata AMD, Gerhard IT, Meredith EI et al. Close relationship of endothelial dysfunction in coronary and brachial artery (Abstract) *Circulation* 88: 1-619, 1983
- (194) Van Amsterdam FTM, Ratti E, Zumerle A, et al. In vitro antioxidant profile of lacidipine. *Eur J Pharmacol* 1990;183:325.
- (195) van Boven AJ, Jukema JW, Zwinderman AH, Crijns HJGM, Lie KI, Brusckhe AVG on behalf of REGRESS Study Group. Reduction of transient myocardial ischaemia with parvastatin in addition to the conventional treatment in patients with angina pectoris *Circulation*. 1996; 94: 1503-1505.
- (196) van der Wal AC, Becker AE, van der Los CM, Das PK, Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterised by an inflammatory process irrespective of dominant plaque morphology. *Circulation*. 1994; 89: 36-44.
- (197) Van Zwieten PA. Endothelial dysfunction in hypertension. A critical evaluation. *Blood Press Suppl*. 1997;2:67-70.
- (198) Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Eng J Med* 1990;323: 27-36.
- (199) Vaughan DE, Rouleau JL, Ridker PM et al. Effects of ramipril on plasma fibrinolytic balance in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 1997; 96: 442-447.
- (200) Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, et al. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1989; 79:287-291.

- (201) Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish DR, Jeung AC et al Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1990;81: 491-497
- (202) Vogel RA, Coretti MC, Plotnick GD. Effect of single high-fat meal on endothelial function in healthy men. *Am J Cardiol* 1997; 79: 350-354.
- (203) Vogel RA, Coretti MC, Plotnick GD. Lowering "desirable" cholesterol levels improves flow-mediated vasoreactivity in healthy, middle-aged men. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:165A-166A Abstract
- (204) Von der Leider HE, Gibbons GH, Morishita R, et al. Gene therapy inhibiting neointimal vascular lesion: in vivo transfer of endothelial cell nitric oxide synthase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1137-1141.
- (205) Wang YK, Madanat FF, Kimball JC, Gleiser CA, Ali MK, Kaufmann MW, Eys J. Effect of vitamin E to protect against adriamycin-induced toxicity in rabbits *Cancer Res* 1980;40:1022-1027.
- (206) Weidinger, F et al. Flow-mediated vasodilatation of the brachial artery does not correlate with coronary acetylcholine responses in patient with angina pectoris. *Eur H. Journal* 1995; 16 suppl 89. Abstract:563
- (207) Wennmalm A. Endothelial nitric oxide and cardiovascular disease. *J Intern Med.* 1994;235:317-327.
- (208) Wever RMF, van Dam T, van Rijn HJ, de Groot F, Rabelink TJ. Tetrahydrobiopterin regulates superoxide and nitric oxide generation by recombinant nitric oxide synthase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 237: 340-344.
- (209) Wiemer G, Schokens BA, Becker RH, Busse R. Ramiprilat enhances endothelial autocoid formation by inhibiting breakdown of endothelial derived bradykinin. *Hypertension* 1991; 18: 558-563.
- (210) Williams JK, Adams MR, Herrington DM, Clarkson TB. Short term administration of estrogen and vascular responses of atherosclerotic coronary arteries. *J Am Coll Cardiol.* 1992; 20: 452-457.
- (211) Wolf A, Zalpour C, Theilmeier G. et al. Dietary L-arginine supplementation normalises platelet aggregation in hypercholesterolemic humans *J Am Coll Cardiol.* 1997; 29: 479-485.
- (212) Woo KS, Choock P, Lolin YI, Cheung AS, Chang LT, Sun YY, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation.* 1997;96:2542-2544.
- (213) Woo KS, Choock P, Lolin YI, et al. Folic acid supplementation improves arterial endothelial function in hyperhomocysteinemic subjects. *Circulation.* 1997; 96(abst suppl): I-165 Abstract 912.

- (214) Yamashita J, Ogawa M, Shirakusa T. Plasma endothelin-1 as a marker for doxorubicin cardiotoxicity *Int J Cancer* 1995;62(5):542-547.
- (215) Yoshikawa T, Yoshida N, Manabe H, Terasawa Y, Takemura T, Kondo M. Alpha-Tocopherol protects against expression of adhesion molecules on neutrophils an endothelial cells. *Biofactors*. 1998;7:15-19.
- (216) Zeiher AM, Drexler H, Saurier B, Just H. Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans: effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia and hypertension. *J Clin Invest* 1993; 92: 652-662.



**A témában megjelent saját közlemények:**

- 1./ Nagy L, Tarján J, Sámoczi M, Kovács I. Hypertoniás betegek endothel funkciója. Card Hung. 1997; Suppl 97/2: 9-12.
- 2./ Kovács I, Tarján J, Nagy L, Toldy E, Poór Ferenc Bors József Kovács L.G. ACE inhibitio hatása az endothel functionra instabil anginában. Card. Hung. 1997; Suppl 97/2: 13-16.
- 3./ Nagy L, Tarján J, Sámoczi M, Kovács I, Takács J. Effect of benazepril on endothelial function in previously untreated hypertensive patients. American Journal of Therapeutics 1998; 5: 233-236.
- 4./ Nagy L, Tarján J. Coverex (perindopril) hatása krónikus szívelégtelenségben. Card Hung 1997; (suppl.6): 20-26
- 5./ Hunyady L, Nagy L. Az AT 1 angiotenzin receptor gátlás mint új terápiás lehetőség. Orvosi Hetilap 1997; 138: 2583-2590.
- 6./ Nagy L, Tarján J, Németh L, Tóth K, Róth E. Krónikus anémia hatása az artéria brachialis áramlásfüggő dilatációjára. Orvosi Hetilap 1998. 139 (52): 3125-3128.
- 7./ Nagy L, Tóth K, Róth E, Tarján J. Effect of transfusion on the endothelium dependent dilatation of brachial artery in patients with chronic anemia Clin Hemorheol (accepted for publication)
- 8./ Tarján J, Nagy L, Kovács I. Az AT1 receptor antagonisták hatása a vascularis dysfunctióra. Magyar Belorvosi Archivum ( publikációra elfogadva)
- 9./ Nagy L, Tarján J, Szabó F, Iványi J, Németh L, Kovács LG, Róth E. Oxidatív stressz és endothel funkció. Magyar Belorvosi Archivum (publikációra elfogadva)
- 10./ Nagy L, Szabó F, Iványi J, Németh L, Kovács LG, Palatka J, Tarján J, Tóth K, Róth E. A method for the detection of doxorubicin-induced cardiotoxicity: flow-mediated vasodilatation of the brachial artery. Clin Card (under publication)

**A témában megjelent idézhető abstractok:**

- 1./ Nagy L, Tarján J, Sámoczi M, Kovács I, Takács J. Endothel funkció vizsgálata kezeletlen hypertoniában . Card Hung 1997; (suppl.3): 83.
- 2./ Kovács I, Tarján J, Nagy L, Kovács L. G, Toldy E, Poór F, Bors J. ACE inhibitor hatása az endothel functionra instabil anginában. Card Hung 1997; (suppl 3): 90.

- 3./ Nagy L, Tarján J, Sámoczi M. Endothel function in previously untreated hypertensive patients. *J Kardiol. Special Edition 2/1997* : 26.
- 4./ Szabó F, Nagy L, Palatka J, Toldy E, Németh L, Kovács LG, Iványi J, Tarján J. Doxorubicin okozta cardiotoxicitás. *Magyar Belov Arch. 1998; Suppl 1* : 28.
- 5./ Nagy L, Tarján J, Szabó F, Iványi J, Németh L, Kovács L G, Róth E. Oxidatív stressz és endothel funkció. *Magyar Belorvosi Archivum 1998; Suppl 1* : 28.
- 6./ Szabó F, Nagy L, Palatka J, Kovács LG, Róth E, Németh L, Iványi J, Palatka J. A new method in detection doxorubicine induced cardiotoxicity: Flow-dependent dilatation measurement. *Br. J Haemathol. 1998; 102*: 334.
- 7./ Nagy L, Tóth K, Róth E, Tarján J. Effect of transfusion on flow mediated dilatation of brachial artery in patients with chronic anemia. *Biorheol. 1999; (in press)*

#### **A témával kapcsolatos saját közlemények:**

- 1./ Tarján J, Nagy L, Gasztonyi F, Farkas A, Sipos E. Uszóprogram a szív betegek rehabilitációjában. *Card Hung 1994. 23. 13-18.*
- 2./ Tarján J, Nagy L, Farkas A, Sipos E. Holter ECG during swimming after myocardial infarction Non-invasiv cardiovascular function *Med Razgledi 1991. pp 1-5*
- 3./ Nagy L, Sámoczi M, Tarján J, Garzuly F. Transesophagealis echocardiographia stroke után. *Clin Neurosci. Ideggy. Szle. 1996; (9-10): 310-314.*
- 4./ Tarján J, Nagy L, Liziczai I, Junger É. The arrhythmic effect of intermittent dobutamine therapy in chronic heart failure. *American Journal of Therapeutics 1998. 5: 405-411.*
- 5./ CORE study. Effects os RheorhRx on Mortality, Morbidity, Left ventricular Function, and Infarct Size in patients With Acute Myocardial Infarction. *Circulation, 1997; 96:192-201*