

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**Kardiovaszkuláris eltérések és rosuvastatin kezelés hatásainak vizsgálata
szisztémás sclerosisban**

Dr. Timár Orsolya

Témavezető: Dr. Szűcs Gabriella, az MTA doktora



DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2014

**Kardiovaszkuláris eltérések és rosuvastatin kezelés hatásainak vizsgálata
szisztémás sclerosisban**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Timár Orsolya

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája
"Mozgásszervi betegségek" programja keretében

Témavezető: Dr. Szűcs Gabriella, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Maródi László, az MTA doktora
tagok: Dr. Kovács László, PhD
Dr. Szabó Zoltán, PhD

A doktori szigorlat időpontja és helyszíne:

Debreceni Egyetem ÁOK, Infektológiai és Gyermekeimmunológiai Tanszék
2014. december 1. 11 óra

Az értekezés bírálói: Dr. Komócsi András, az MTA doktora
Dr. Tarr Tünde, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Maródi László, az MTA doktora
tagok: Dr. Komócsi András, az MTA doktora
Dr. Kovács László, PhD
Dr. Szabó Zoltán, PhD
Dr. Tarr Tünde, PhD

Az értekezés védésének időpontja és helyszíne:

Debreceni Egyetem ÁOK, Augusztai Központ, központi tanterem
2014. december 1. 14 óra

BEVEZETÉS

1.1. A szisztémás sclerosis

A szisztémás sclerosis (SSc) egy, a bőr és a belső szervek funkcionális és morfológiai vaszkuláris károsodásával és fibróziséval jellemezhető szisztémás autoimmun kórkép. A SSc diagnosztikus kritériumait 1980-ban állította fel az Amerikai Reumatológusok Kollégiuma (American College of Rheumatology, ACR), majd 2013-ban az ACR és EULAR (European League Against Rheumatism) közösen módosította a jelenleg is érvényben lévő klasszifikációs kritériumokat, növelve a diagnózis szenzitivitását. Prevalenciája napjainkban Magyarországon 9 % körül van. Annak ellenére, hogy a kórképet egyre korábban ismerjük fel és a terápiás lehetőségek is bővültek az utóbbi évek során, az SSc még ma is a legsúlyosabb prognózisú a kötőszöveti betegségek között, 10 éves túlélési rátája 65% körül mozog. A halálozás oka az alapbetegséggel összefüggő kardiális (szívelégtelenség, arrythmiák) pulmonális (intersticiális tüdőbetegség, pulmonális arteriás hipertenzió - PAH) és renális érintettség mellett újabban közel 50%-ban valamilyen SSc-től független kórkép: kardiovaszkuláris megbetegedés, malignus alapfolyamat vagy infekció. A szív-érrendszer érintettsége (még a PAH kizárásával is) az esetek harmadában áll halálokként a háttérben, emiatt kiemelkedő rizikót jelent a SSc-s betegek számára.

1.2. Az SSc-vasculopathia patofiziológiája és klinikai jellegzetességei

Jóllehet bizonyos genetikai hajlamosító tényezők és környezeti hatások trigger szerepe bizonyított, az SSc pontos patomechanizmusa mindmáig ismeretlen. A betegséget kezdettől fogva funkcionális eltérések (pl. endoteliális diszfunkció, hibás angiogenesis) valamint érfalszerkezeti változások (pl. az endotélsejtek, periciták, a bazális membrán elektromikroszkópos és szövettani eltérései) jellemzik.

A vaszkuláris endotélium az érfal homeosztázisának és permeabilitásának fontos regulátora, többek között a nitrogén oxid (NO), prosztaciklin (PGI₂), endotelin-1 (ET-1) kibocsátásának valamint a vaszkuláris angiotenzin-II (ATII) aktivitásának szabályozásával alacsonyban tartja az érfali simaizomtónust, illetve védi az eret az oxidatív stressztől. Az “endotél-aktiváció”, “endotéldiszfunkció” kifejezések az endotélium homeosztázisában bekövetkező változásokra utalnak: ilyenkor rendszerint valamely ártalmas inger hatására a sejtheadhéziós molekulák (cellular adhesion molecules, CAM) overexpressziója, gyulladással citokinek vagy protrombotikus vegyületek termelődése, fokozott vazokonstriktív, megnövekedett oxidatív stressz figyelhető meg. Ezek a patofiziológiai változások különböző

funkcionális képpalkotó eljárásokkal klinikai körülmények között is kimutathatók, pl. az a. brachialis áramlás-mediált vazodilatációjának vizsgálatával.

SSc-re jellemző az érújdonképződés folyamatának károsodása is. Az angiogenezist serkentő faktorok szérumszintje (vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (vascular endothelial growth factor, VEGF), vérlemezke eredetű (platelet-derived growth factor, PDGF), placentális, (placental growth factor, PlGF) és fibroblaszt növekedési faktor (fibroblast growth factor, FGF-2) mind megemelkedhet SSc-s betegekben. Egyidejűleg azonban az angiosztatikus molekulák fokozott termelődését is leírták (pl. angiosztatin, CXC chemokin ligand-4 (CXCL4), thrombospondin és interleukin-4 (IL-4). Az angiogenezis szabályozói közötti finom egyensúly felborulása, az epiteliális sejtek fokozott gamma-interferon (IFN- γ) szignalizációja és az SSc-s fibroblasztok angiogenezist gátló hatása mind a csökkent neovaszkularizáció irányában hat SSc-ben, ami bőrfekélyekhez és egyéb pathológias jelenségek kialakulásához vezet.

Az SSc-ben észlelt kóros sejtszintű, ill. szerkezeti eltérések közül kiemelendő a vérlemezkék fokozott aktivációja, mely mind a fibrózissal mind az immunológiai aktivációval szorosan összefügg. A vérlemezkék aktivációja a thromboxán A₂ (TXA₂) és más vasoaktív mediátorok termelődéséhez vezet, fokozva a vazokonstriktiót és a microvascularis trombozishajlamot. A szöveti fibrózis az I-es típusú kollagénen keresztül további thrombocyt-aktivációhoz vezet, míg a vérlemezkék a fibrózt segítik szerotonin (5-HT), PDGF, transforming growth factor β (TGF- β) és lizofoszfolipid termelésükön keresztül. A szerotonin kiemelkedő jelentőségű SSc-ben, nemrégiben bizonyították az 5-HT I. típusú kollagéntermelést aktiváló hatását a 5-HT_{2B} receptoron keresztül fibroblasztokon.

Az SSc-ben megfigyelhető vasculopathia mind hisztopatológiai szempontból, mind lokalizációjában, mind a celluláris-molekuláris háttér tekintetében eltér a szisztémás lupus erythematosusban (SLE) vagy rheumatoid arthritisben (RA) észlelt akcelerált atherosclerosistól. A kóros, SSc által érintett ereket szubintimális proliferáció és fibrózis, megtartott média és az érfal leukocytás infiltrációja jellemzi. A betegség limitált formája (limited cutaneous SSc, lcSSc) inkább perifériás vaszkuláris érintettségre hajlamosít, míg a diffúz formára (diffuse cutaneous SSc, dcSSc) korábbi és súlyosabb belső szervi érintettség (pl. PAH, veseérintettség, kardiális, gasztrointesztinális manifesztációk) a jellemző. A funkcionális perifériás vasculopathia első jelenként leggyakrabban a kezujjak kapillárisain jelentkező Raynaud-szindrómát (RS) észleljük. Ennek során három fázisban az ujjak akrális részének sápadtsága, zsibbadása, fájdalma, majd cianózisa, később hiperémiája jelentkezik, melyet a termoregulációs kis- és közepes perifériás erek hidegre vagy emocionális stresszre

adott aránytalan válaszreakciója okoz. A RS évekkkel megelőzheti a SSc kialakulását és SSc-s betegek 95%-ában jelen van. A betegek 25-39%-ánál ujjbegyfekélyek és hegesedés is megfigyelhető. A mikrovaszkuláris diszfunkció mellett a kis- és közepes méretű verőerek arteriopathiája is kialakulhat, obliteratív vasculopathiát okozva pl. a pulmonális arteriolákban, a vesék interlobuláris és arcuata artériáiban, a retina vagy akár a genitáliák ereiben. A nagy elasztikus artériák arteriosclerosis és vasculopathiája (pl. a. carotis, a. subclavia, a. pulmonalis) szokatlan SSc-ben, hacsak nem klasszikus kardiovaszkuláris rizikófaktorokkal társul. Az SSc-s kardiális érintettség is jobbra vasculopathiával magyarázható. Primér kardiális érintettség jeleit mutathatja az ingervezető rendszer, a myocardium (fibrosis, ritkábban carditis), a pericardium, valamint a coronariák (obstruktív arteriopathia, csökkent coronaria rezerv kapacitás.) A szívbillentyű-érintettség kisebb jelentőségű SSc-ben. A PAH, intersticiális tüdőbetegség vagy renális érintettség okozta kardiális elváltozások, az essentialis hypertensio következményei szintén kifejlődhetnek SSc-ben azonban ezeket nem tekintjük az SSc primer kardiális manifesztációinak.

1.3. Az SSc-vasculopathia kezelésének lehetőségei: a statinok szerepe

Az Európai Reuma Ellenes Liga (European League Against Rheumatism, EULAR) szakmai ajánlása szerint a SSc kezelése három területre irányul, az immunszuppresszív hatású szerek az immunológiai alapfolyamatot, az antifibrotikus kezelés a fibrózist, a vaszkuloprotektív szerek az értüneteket célozzák meg. Immunszuppresszívumokat csak súlyos, rapidan progrediáló, diffúz SScben, általában intersticiális tüdőbetegség esetén alkalmaznak. A vaszkuloprotektív szerek csoportjához tartoznak a dihidropiridin típusú Ca-csatorna blokkolók, az iv. prosztaciklin (az ujjak vascularis tünetei, ill. fekélyek esetén), az ET-1 receptor antagonisták (bosentan, macitentan), PDE5-gátlók (sildenafil, tadalafil) és a PAH terápiájában használt prosztanoid, az epoprosterenol. Az ACE-gátlókat vesevédő hatásuk miatt tartalmazzák az ajánlások SSc-ben. Az olyan reumatológiai betegségek esetében, mint pl. az RA vagy spondylarthritis, ahol jelentősen fokozott ateroszklerózis-rizikót figyeltek meg, az EULAR ajánlásai a statin terápiát is tartalmazzák, a kardiovaszkuláris kockázat csökkentésére. SSc-re azonban ezidáig nem létezik hasonló irányelv.

Az eredetileg lipidcsökkentő gyógyszerként bevezetett statinok (HMG-coA reduktáz gátlók) sokrétű antiatherogén tulajdonságait az 1990-es évek óta összegyűlt tudományos eredmények támasztják alá. A statinok csökkentik az artériás stiffnesst, az endoteliális NO szintézis upregulációja révén javíthatják az endotélfunkciót, ugyanakkor a NADPH oxidáz

gátlásán keresztül antioxidáns, gyulladáscsökkentő, illetve bizonyos mértékig immunmoduláns hatással is bírnak. Nem-lipid hatásaikhoz tartozik az atheroscleroticus plakk stabilizációja, a vasculáris simaizomsejtek migrációját és proliferációját gátló, valamint thrombocytá-aggregáció gátló hatásuk. Molekuláris szinten a CRP, IL-6, TNF- α és NF- κ B szinteket csökkentik, emellett anticoaguláns hatással bírnak és a központi idegrendszerben normalizálják a szimpatikus kiáramlást. A statinok hatásmechanizmusa csak részben kötődik a HMG-coA enzimet is tartalmazó mevalonát útvonalhoz, egy regulatorikus integrin kötőhelyhez kapcsolódva például gátolják a fehérvérsejtek adhézióját és kostimulációját.

Számos klinikai tanulmány, mely a statinok, köztük a rosuvastatin lehetséges hatásait vizsgálta az artériás stiffnessre, a szubklinikus atherosclerosisra vagy a verőerek kalcifikációjára, kedvező kardiovaszkuláris (CV) kimenetelről számolt be az átlagpopulációban illetve több, az érrendszert érintő kórképben. Az elmúlt évtizedekben szisztémás sclerosisban is több tanulmány kutatta a különböző statinok hatásait SSc-ben, azonban a rosuvastatin klinikai vizsgálata ebben a betegcsoportban ezidáig nem történt meg. Lévén, hogy egy rendkívül hatékony statin molekuláról van szó, melynek CV rizikó szempontjából kedvező hatását fokozott, illetve közepes kardiovaszkuláris rizikójú, tünetmentes egyéneken már igazolták, célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a rosuvastatin kardiovaszkuláris hatásait egy SSc-s betegcsoportban is.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Első célunk az endotélfunkciót jelző a. brachialis áramlás mediálta vazodilatációjának (flow-mediated vasodilation, FMD) és nitrát-mediált vazodilatációjának (NMD) vizsgálata, valamint a szubklinikus atherosclerosis indikátorának, az a. carotis communis intima-media vastagságának (intima-media thickness, ccIMT) meghatározása volt SSc-s betegekben, egészséges kontrollokhoz viszonyítva.
2. Összefüggést kerestünk a fenti paraméterek és a kor, betegségstartam, belső szervi érintettség valamint autoantitest-pozitivitás között.
3. Oszcillometriás pulzushullám-terjedési sebesség (pulse wave velocity, PWV) és augmentációs index (AIx) meghatározással vizsgálni kívántuk SSc-s betegek artériás stiffness paramétereit egészséges kontrollcsoporthoz képest.
4. Össze kívántuk hasonlítani a limitált és diffúz SSc betegcsoport PWV és AIx eredményeit és megvizsgáltuk az artériás stiffness paraméterek korfüggését, valamint betegségstartammal való összefüggését SSc-ben.
5. Célul tűztük ki hathónapos rosuvastatin kezelés hatásainak vizsgálatát különböző makrovaszkuláris paraméterekre: az endotélfunkcióra (FMD), az artériás stiffnessre (PWV), a boka-kar indexre (ankle-brachial index, ABI) és a generalizált atherosclerosis indikátorára, a ccIMT-re SSc-ben. Emellett vizsgálni kívántuk 6-hónapos rosuvastatin kezelés hatását a bőr mikrocirkulációjára SSc-ben, amelyet az alkar bőrének lézer Doppler vizsgálatával határoztunk meg.
6. Követni kívántuk a rosuvastatin hatását SSc-ben a szérumban mérhető gyulladási markerekre (CRP, We), a von Willebrand faktor-antigén szintre (vWF), a komplement-, valamint immunkomplex szintekre (C3, C4, IC), valamint az alapvető laborkémiai paraméterekre (szérum lipidszintek, vese- és májfunkciós paraméterek, teljes vérkép) 6 hónapos rosuvastatin kezelés előtt és után.
7. Fel kívántuk mérni a kardiális érintettség jeleit SSc-ben standard nyugalmi és 24 órás Holter EKG monitorozás, nyugalmi konvencionális echocardiographia és szöveti Doppler vizsgálatok segítségével. Kiinduláskor és 6-hónapos rosuvastatin kezelés után követni kívántuk a bal kamrai ejekciós frakció (EF), diasztolés funkció (E/A, DT), jobb kamra funkció (tricuspid annular plane systolic excursion, TAPSE, TEI-index) szisztolés jobb kamrai nyomás (JKP) változásait. Összefüggéseket kerestünk az arrhythmiák, EKG eltérések valamint az echocardiographiás paraméterek között, ezen kívül 6-perces járásteszt

segítségével felmértük a betegek fizikai teljesítőképességének változását 6 hónapos rosuvastatin kezelés előtt és azt követően.

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Betegek és vizsgálati protokollok

3.1.1. Endoteliális funkció és ccIMT SSc-ben

Az első tanulmányba 29, véletlenszerűen kiválasztott SSc-s beteget (női:ffi arány=25:4; átlagéletkoruk \pm S.D.=51.8 \pm 10 év, limitált:diffúz forma aránya=19:10) és 29 egészséges kontrollt vontunk be (életkoruk 49.3 \pm 6 év). A SSc diagnózisát mindhárom vizsgálatban az 1980-ban bevezetett ACR kritériumok alapján állítottuk fel. Az átlagos betegségstartam 9.43 \pm 3.78 év volt, mely közepes betegségfennállási időnek tekinthető. Mind a betegeknél, mind a kontrollok esetében meghatároztuk a klasszikus kardiovaszkuláris rizikófaktorokat, úgymint az életkort, testtömeg indexet (body mass index, BMI), szérumszinteket, a szisztolés és diasztolés vérnyomásértékeket. A betegeket egy-egy kontroll egyénnel párosítottuk életkoruk és rizikóstátuszuk alapján. Mivel az atherosclerosis szubklinikus markereit és az endotéliális funkciókat kívántuk vizsgálni, kizárási kritériumot jelentett az anamnesisben szereplő kardiovaszkuláris megbetegedés, cukorbetegség, dohányzás, valamint a BMI \geq 30, vasculitis, akut vagy krónikus fertőzés jelenléte illetve veselégtelenség (ezt 117 μ mol/l-nél magasabb se creatinin érték esetén véleményeztünk). A vizsgálatok előtt az evést, alkoholfogyasztást, antioxidáns és vazóaktív hatású gyógyszereket 24 óráig felfüggesztettük. A vizsgálat napján reggel, éhgyomorral meghatároztuk a betegek és kontrollok a. brachialis FMD, NMD és a carotis communis IMT értékét.

3.1.2. AIx és PWV SSc-ben

A második vizsgálatba 46, soron következő kontrollra érkező sclerodermás beteg szűrését követően 40 beteget vontunk be (női:ffi=36:4, átlagéletkoruk 58.0 \pm 12.3 év (33-81), döntően limitált SSc-vel gondozottak (31/40 beteg). Összehasonlításképp 35, korban és nemben illesztett egészséges kontroll egyént vizsgáltunk (női:ffi arány=32:3, átlagéletkoruk 53 \pm 10.5, (30-77 év). Az SSc-csoport átlagos betegségstartama 12.5 \pm 6.7 (1-27) év volt. A vizsgálat résztvevőinél a vizsgálat napján reggel, éhgyomorral elvégzett fizikális vizsgálatot és vérvételt követően augmentációs index és pulzushullám terjedési sebesség meghatározást végeztünk standard körülmények között.

3.1.3. Rosuvastatin hatása a kardiovaszkuláris paraméterekre és biomarkerekre SSc-ben

A klinikán gondozott, kontrollra érkező SSc betegek közül, az alább részletezett beválasztási és kizárási kritériumok alapján alkalmas betegek közül véletlenszerűen kiválasztott 28 beteget vontunk be a vizsgálatba. Betegeink átlagéletkora 60.4 ± 11 év (34-83) volt, a női: ffi arány=25:3, 75%-uk limitált, 25%-uk diffúz SSc-ben szenvedett. Többségüknek közepesen hosszú betegségstartama volt a vizsgálat időpontjában (átlagosan 13.6 ± 7.7 év (2-30)). A betegek klinikai tünetei csökkenő gyakorisági sorrendben a következők voltak: Raynaud-szindróma (96%), pulmonális érintettség, beleértve az intersticiális tüdőbetegséget (63%) és enyhe PAH-t (7%), disztális bőr érintettség, sclerosis vagy fekély (68%), gastrointestinális érintettség (54%), proximális bőrtünetek (32%), ismert kardiális érintettség (25%), sicca szindróma (10%), veseérintettség (4%). 6 betegnél (22%) valamely más autoimmun kórképpel, dermatomyositis-szel (2 beteg), SLE-vel (1 beteg) vagy RA-val (3 beteg) való átfedést, overlap szindrómát észleltünk. A betegek között nem volt dohányos, átlagos BMI-jük 23.1 ± 4.1 kg/m² volt.

A beválasztás feltételei a mikrovaszkuláris tünetek voltak, úgymint újonnan (<4 hete) kialakult ujjbegyfekélyek, kezelés mellett is aktív Raynaud-tünetek, valamint a betegek beleegyezése a vizsgálatba. A kizárási kritériumok között hyperglycaemia, dohányzás, akut szisztémás fertőzés, nem kontrollált hypertensio, carotis sinus hyperesthesia, permanens pitvarfibrillatio, ismert szisztolés bal kamra funkció csökkenés (EF EF<50% korábbi echocardiographia alapján), súlyos PAH, a tervezett mérési pontokon lévő ulcus, vazóaktív kezelés (prostanoid, lipidcsökkentő szer) a megelőző 6 hónapban, ill. gyakori terápiamódosítást igénylő betegek szerepeltek. Minden alább részletezett vizsgálatot két alkalommal végeztünk el, közvetlenül kezelés előtt, valamint 6 hónapos 20 mg/die rosuvastatin kezelést követően. A gyógyszert minden beteg jól tolerálta. A vaszkuláris mérések napján a reggel 7-8 óra között, 8 órás éhezési periódust követően a betegektől vérmintát vettünk, melyet szobahőn tároltunk, s az értékelést 2 órán belül elvégeztettük. A vWF antigén-mintákat jégen tároltuk a vizsgálat időpontjáig. Az alkohol-, koffeinfogyasztást, vazóaktív és antioxidáns hatású gyógyszereket a vizsgálat előtt 24 óráig felfüggesztettük. A vizsgálatokat standard körülmények között, 22 ± 1 °C fokon, 10-perces pihenést követően végeztük, a vaszkuláris vizsgálatokra egy sötét, csöndes vizsgálóhelyiségben került sor, s mindegyik vizsgálatot egyazon személy végezte (TO.) A betegeknél a. brachialis FMD, a. carotis communis IMT, carotis-femoralis és aorto-femoralis pulzushullám-terjedési sebesség mérést, boka-kar index mérést, echocardiographiás vizsgálatot, bal alkar lézer Doppler

áramlásmérést, nyugalmi 12-elvezetéses és 24 órás 3-csatornás EKG-monitorozást, valamint 6-perces járatesztet végeztünk kiinduláskor és 6 hónappal később.

3.2. Vaszkuláris vizsgálatok

3.2.1. A. brachialis FMD és NMD

Az a. brachialis áramlás- (FMD) és nitrát mediált vazodilatációját (NMD) az Amerikai Kardiológusok Kollégiuma 2002-es irányelvei szerint határoztuk meg, standard körülmények között, a fossa cubitalistól 4-7 cm-re proximalisan. Megmértük az a. brachialis nyugalmi átmérőjét (BAD_{basal} , HP Sonos 5500 UH készülék, 10 MHz lineáris transducer, 5 mérési pont átlaga), majd az alkaron létrehozott, 4.5 perces pangatást követően megmértük a maximális a. brachialis átmérőt (BAD_{max}). Az FMD értéket a kiindulási átmérő százalékos arányában adtuk meg. $(BAD_{\text{max}} - BAD_{\text{basal}}) / BAD_{\text{basal}} \times 100$. Az NMD méréseket 15 perces pihenő után hasonló módon, pangatás helyett 400 μ g sublingualis nitroglycerin adása után, 4 percen belül hajtottuk végre.

3.1.2. ccIMT

A ccIMT mérések során mindkét oldali a. carotis communist és bulbusokat ábrázoltuk az előző mérésben is használt Duplex UH eszközzel. EKG-kapuzással, R-szinkron módon hosszanti metszeteket vettünk fel az a. carotis communisről, majd a bulbustól 1 cm-re proximálisan, a távoli falon megmértük az első (intima-lumen) és második (media-adventitia határ) echogén vonal közti távolságot. A ccIMT meghatározáshoz 10 mérést átlagoltunk és az eredményt mm-ben fejeztük ki.

3.2.3. Az AIx és PWV vizsgálata

A bal kamrából systolében kiinduló artériás nyomáshullám alakját az aorta és proximális ágainak rugalmassága és disztenzibilitása, valamint az anatómiai elágazódási pontokról történő visszaverődés és a perifériás vaszkuláris rezisztencia befolyásolja. Jelen vizsgálat során két paramétert, a centrális elasztikus artériákban terjedő pulzushullám sebességét (pulse wave velocity, PWV) valamint az augmentációs indexet (AIx) határoztuk meg. Az AIx alatt a bal kamra systolés contractiója által keltett korai systolés pulzushullám nyomáscsúcs (P1) valamint a pulzushullám-visszaverődés által okozott késői (P2) nyomáscsúcs különbségének arányát értjük a pulzusnyomáshoz (systolés-diaistolés vérnyomás különbsége) viszonyítva, százalékban kifejezve:

$$AIx \% = (P2 - P1) / (SBP - DBP) \times 100.$$

Egészséges, rugalmas érrendszerű egyéneken a P2 visszavert hullám diastolében érkezik az első pulzushullámhoz vissza, amikor az alacsonyabb diastolés nyomás miatt P2-P1, így AIx sokszor negatív, vagy alacsony pozitív értéket ad. Merev érrendszerben azonban a visszaverődés (P2 csúcs) a systole idejére esik, s az előre haladó nyomásra rakódva, azt megnöveli, augmentálja, az afterloadot növeli, s P2-P1, így AIx értéke ilyenkor pozitív lesz.

Méréseinket az első vizsgálat során az oszcillometriás módszeren alapuló, automata Arteriograph rendszerrel (Tensiomed™ Kft., Budapest) végeztük, a készülék validációját korábbi tanulmányok mind a standard SphygmoCor és Complior rendszerekkel, mind invazív stiffness meghatározással összehasonlítva elvégezték.

A mérés során elsőként egy automata vérnyomásmérés történt a jobb felkaron, majd a készülék 35 Hgmm-es suprasystolés nyomást alkalmazva ugyanazon mandzsettával rögzítette az a. brachialis feletti artériás nyomáshullámot. Az így nyert görbe automatikus analízisével a készülék kiszámította a brachialis és centrális AIx-t és PWV-t. A PWV-t a készülék a fossa jugularis-symphysis távolság – mely az aorta descendens hosszának nagyjából megfelel a truncustól a bifurcatióig - és a reflexiós idő (RT S35) hányadosaként definiálta. A mérést a konszenzus ajánlásoknak megfelelően konstans szobahőmérsékleten, 10-perces pihenést követően, min. 10 órás dohányzási és koffeinfogyasztási tilalom után végeztük.

Az aorto-femoralis és carotis-femoralis PWV-t (a-f PWV, c-f PWV) a rosuvastatin-vizsgálat során egy HP Sonos 5500 ultrahangkészülékkel mértük meg. Az aortáról, 2-4 MHz phased array szektor transducerrel suprasternalis irányból felvett pulzatilis Doppler jelet és az a. femoralis communisről az inguinalis szalag magasságában (5-10 MHz lineáris transzducerrel) nyert pulzatilis Doppler jelet rögzítettük egyidejű EKG-kapuzás (R hullám szinkronizálás) mellett. A pulzatilis Doppler jelet 5 mm-es mintavételi ponttal, 150 mm/s sweep sebesség mellett rögzítettük az aorta descendens kezdeti szakaszán és az a. femoralis communis felett két légzési cikluson (10-12 szív cikluson) át. A suprasternalis csomó és az aorta mérési pont közötti távolságot (d_1) valamint a suprasternalis csomó-femoralis mérési pont távolságát (d_2) megmértük, az időeltolódást (pulzus tranzitidő) az EKG-kapuzott aorta és femoralis jelek talpánál (foot-to foot-method) mértük az R hullámhoz képest. Az aorto-femoralis PWV-t $(d_2-d_1)/(t_2-t_1)$ képlettel határoztuk meg és m/s-ban fejeztük ki. A c-fPWV méréseket hasonlóképpen, minimális módosítással végeztük: ebben az esetben a két mérési pont a bal a. carotis communis volt, a bulbustól 1 cm-re proximalisan, valamint a jobb a. femoralis communis, a lig. inguinale szintjében. A pulzus tranzitidőt ismét az EKG jelhez képest mértük meg a foot-to foot módszerrel és a két mérési pont távolságát úgy adtuk meg,

mint a jugularis csomó-carotis mérési pont valamint a jugularis csomó-femoralis távolság különbsége. A c-fPWV-t ismét a távolság és tranzitidő hányadosaként definiáltuk.

3.2.4. A boka-kar index meghatározása

A boka-kar indexet (ankle-brachial index, ABI) a nemzetközi konszenzus irányelveknek megfelelően, kézi folyamatos hullámú Doppler készülék (Vasodop 8 MHz, MediCAD Kft, Miskolc) segítségével határoztuk meg. Az ABI értékhez az alsó végtagi a. tibialis posterior ill. a. dorsalis pedis vérnyomásértékek közül a magasabb értéket osztottuk a systolés a. brachialis nyomással.

3.2.5. Lézer Doppler perfúzió monitorozás

A bőr mikrovaszkuláris perfúzióját (post-occlusive reactive hyperemia, PORH) provokációs teszt segítségével határoztuk meg lézer Doppler perfúzió monitorozással (LDPM), Periflux PF 4001 LD áramlásmérő készüléken (Perimed AB, Järfällä, Sweden) A vizsgálathoz standard mérőfejet (PF 408, hullámhossz:780 nm, bőr penetráció 1-1.5 mm) használtunk, melyet egy egyenes fejrögztítőben fixáltunk (PH 08). A méréseket fekvő helyzetben kiviteleztük, az alkar középső szakaszán. 8 perc alapáramlási görbe felvételét követően 3 perces felkarobstructiót hoztunk létre (a vérnyomásmérő mandzsettát 50 Hgmm-es suprasystolés nyomásra pumpálva, közel nulla, azaz biológiai zéró áramlás), majd a mandzsettát hirtelen leeresztettük (csúcsáramlás) és az alkar bőráramlását további 5 percig rögzítettük, mialatt az áramlás visszatért a kiindulási értékre. A véráramlást (melyet perfúziós egységben, arbitrary perfusion units, PU fejeztünk ki), a kiindulási áramlási értékekkel is összevetettük, egyúttal kiértékeljük a PORH válasz kinetikai jellemzőit is, mivel ezek mutatnak leginkább összefüggést az endotélfunkció paramétereivel.

3.3. Kardiológiai vizsgálatok

3.3.1. Standard echocardiographia és szöveti Doppler vizsgálat

A szívultrahangos vizsgálatot echocardiographiában jártas szakember végezte kardiológus szakorvosi felügyelettel, rosuvastatin kezelés előtt és után, az Andrea és mtsai által leírt módszerrel egyezően. A mérések HP Sonos 5500 ultrahang készüléken történtek. Kétdimenziós parasternalis hossz- és rövid tengelyi metszeteket, valamint csúcsi 3 és négyüregű metszeteket vettünk fel, a v. portae ábrázolásával kiegészítve. M-mód és Doppler vizsgálatok segítségével bal oldalfekvésben meghatároztuk az alap echocardiographiás

adatokat. A 2-4 MHz-es phased array transzdúccerrel nyert képeket 3 szív cikluson keresztül elemeztük és ezen méréseket átlagoltuk. A septum és laterális fal vastagságát végdiasztolében határoztuk meg a parasternalis rövidtengelyű metszeten. A balkamra tömegét (left ventricular mass, LVM) és testfelszínre vetített indexét Devereux szerint az alábbi képlet alapján számítottuk: $LVM=0.8 \times [1.04 ((LVID+PWT+IVST)^3 - LVID^3)] + 0.6$,

(ahol LVID: bal kamrai belső átmérő, IVST: interventricularis septum vastagsága, PWT: hátsó fal vastagság, 1.04 a szívizomzat fajsúlya, 0.8 egy korrekciós faktor.) A méréseket R-szinkron végeztük, végdiasztolében, és cm-ben fejeztük ki. A bal kamrai ejekciós frakciót (EF), aszinkron falmozgás vagy regionális falmozgászavar hiányában a Teicholz-képlet alapján adtuk meg. A jobb kamrai végdiasztolés átmérőt a csúcsi 4-üregű metszeten mértük a középső szintben. A globális jobb kamra szisztolés funkciót a TAPSE értékkel becsültük (tricuspid annular plane systolic excursion), mely a háromhegyű billentyű M-mód képen mért végszisztolés és végdiasztolés kitérés közötti különbséget jelenti, mm-ben kifejezve.

A mitrális beáramlás beáramlás konvencionális Doppler vizsgálata során a mintavételi pontot a mitrális billentyűk hegye közé helyeztük a csúcsi négyüregű képen. A globális diasztolés bal kamra funkció megítéléséhez rögzítettük az E és A hullám csúcssebességét (m/s), az E/A arányt, az E hullámhoz tartozó decelerációs időt (DT), Ho és mtsai szerint. Emellett az izovolumetriás relaxációs idő (IVRT, a végszisztolés kiáramlás és a transmitrális E hullám kezdete közt eltelt idő, melyet a kiáramlási pálya és mitrális billentyű közé helyezett mintavételi ponttal mértünk) és IVCT (izovolumetriás kontrakciós idő) összegét is meghatároztuk (x-e, ahol x a mitralis beáramlás A hullám vége és E hullám eleje között eltelt időintervallum, míg e a bal kamrai ejekciós idő) és kiszámítottuk a bal kamrai TEI indexet ($TEI=(x-e)/e$.)

A jobb kamrai diasztolés indexet a csúcsi négyüregű metszetből mértük a mintavételi pontot a tricuspidalis billentyűk hegyei közé helyezve. Meghatároztuk a tricuspidalis jobb kamrai E és A hullám csúcssebességét (m/s) és azok arányát (E/A). A jobb kamrai telődést a tricuspidalis diasztolés hullámokon túl az E hullám decelerációs idejével (DT) jellemeztük. A jobb kamrai TEI indexet szintén az $(x-e)/e$ képlettel számoltuk ki ahol x a tricuspidalis beáramlás A hullámának vége és az E hullám eleje közt eltelt idő, e pedig a jobb kamrai ejekciós idő, melynek méréséhez a parasternalis rövid metszetet használtuk az aorta-billentyű szintjében.

Az a. pulmonalis systolés nyomását minden betegnél a tricuspidalis regurgitáció folyamatos hullámú Doppler vizsgálat eredménye alapján számoltuk a módosított Bernoulli-egyenlet alapján: $p_2 - p_1 = 4x(v_2^2 - v_1^2)$. Az a. pulmonalis systolés nyomását a tricuspidalis jet

csúcsebessége négyzetének négyszerese és a jobb pitvari nyomás összegeként számoltuk ki. A v. cava inferior átmérőjét és belégzésben észlelt átmérőcsökkenést subcostalis metszetből határoztuk meg. A myocardium szöveti Doppler méréseit Andrea és mtsai méréséhez hasonlóan végeztük, spektrális pulzatis Doppler szignál szűrők alkalmazásával. A mitrális annulus systolés sebességét (Sa), a diastolés korai (Ea) és pitvari (Aa) sebességeket, valamint a tricuspídalis annulus systolés csúcsebességét megmértük és cm/s-ban fejeztük ki. A myocardium szöveti Doppler vizsgálatához egy jó minőségű csúcsi négyüregű metszetet vettünk fel s az 5mm-es pulzatis Doppler mintavételi pontot a jobb, majd bal kamra laterális falára, a bázisára, közepére vagy csúcsára helyeztük. Meghatároztuk a myocardium systolés hullámát (Sm, m/s) a korai diasztolés Em, és pitvari (Am) hullámot. A jobb kamra systolés csúcsebességét (basalis, középső, csúcsi szegmentum Sm) rögzítettük és kiértékeljük.

3.3.2. EKG monitorozás

A betegeknél nyugalmi, 12-elvezetéses és 24 órás 3-elvezetéses EKG monitorozást végeztünk (Cardiospy, Software Ver 4.1, Labtech Kft., Debrecen) az intézeti standard gyakorlat szerint. Az EKG alapján a beteget normális EKG és kóros EKG csoportba osztottuk. Kórosnak tekintettük az EKG-t, ha a nyugalmi és/vagy 24 órás EKG-n nem sinus alapritmus (pacemakerritmus-PM, pitvarfibrillatio vagy flutter-PF) ábrázolódott, ha a 24 órás EKG-n kapcsolt (minimum 2 tagból álló) kamrai extrasystolék: VES- vagy salve vagy kamrai tachycardia (VT, 4 ütésnél hosszabb) volt látható, vagy 3-nál hosszabb tagból álló SV futam vagy pitvarfibrillatiós paroxysmus lépett fel, vagy aktív időszakban, gyógyszerhatással nem magyarázható sinus bradycardiát (1500 msec feletti pauzával vagy anélkül) észleltünk, illetve ha 12 elvezetéses EKG-n AV-blokk (I.fokú AV blokk, Mobitz I., Mobitz II. típusú AV blokk), szárblokk (BTSZB, JTSZB), fasciculus blokk, kamrai hypertrophia (BKH, JKH), vagy ST-szakasz eltérés ábrázolódott negatív T hullámmal min. 2, összetartozó elvezetésben.

3.3.3. A fizikai állóképesség vizsgálata

A 6-perces járástesztet rosuvastatin kezelés előtt és után az Amerikai Mellkassebész Társaság (ATS) ajánlásai alapján végeztük.

3.4. Laboratóriumi vizsgálatok

A szérumbiológiai markerek és a hsCRP (nagy érzékenységű, high-sensitivity CRP) mérése Modular P-800 mérőkészüléken történt (Roche Kft, Mannheim, Germany). A szérumbiológiai koleszterin, triglicerid és húgysavmeghatározások enzimátikus kolorimetriás módszerrel

történtek, a HDL-, LDL-koleszterinértékeket homogén enzimatis tesztel zajlott. A szérumban a glucose, ill. ureaszinteket enzimkinetikus UV tesztel, a szérumban a kreatininszinteket kompenzált Jaffe-kinetikus módszerrel határoztuk meg. A szérumban a kreatininszintből számított GFR értéket az MDRD 175 képlet alapján adtuk meg (Modification of Diet in Renal Disease study group). A hsCRP-t immunturbidimetriával határoztuk meg, eredményét > 5 mg/l felett tekintettük emelkedettnek. A keringő plazma vWF antigénszinteket STA Liatest immunturbidimetriával határoztuk meg poliklonális nyúl antihumán vWF antitestekkel borított microlatex gyöngyök segítségével (Diagnostica Stago, Asnieres, Franciaország). A reagens és plazma összekeverését követően az agglutináció szintjét határoztuk meg, mely arányos a mintában jelen levő vWF Ag mennyiségével. Referenciatartomány: 50-160%.

A vérképparamétereket (haemoglobin, fehérvérsejtszám, vérlemezkeszám) automata haematológiai mérőkészüléken határoztuk meg (Sysmex XE-2100D, Sysmex Vállalat, Kobe, Japán). A vörösvérsejt-süllyedést a Westergren módszerrel olvastuk le. A fenti mérések a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében történtek.

A szérumban a immunkomplex szinteket (IC) poliethylén-glikol precipitációs módszerrel detektáltuk. A szérumban a C3 és C4 szinteket nefelometriás módszerrel határoztuk meg egy Siemens-Dade-Behring BN-II nefelométeren. Az anti-ENA és anti-Scl-70 autoantitesteket immunfluoreszcens festéssel és ELISA-val azonosítottuk. Az immunológiai mérések a Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet Regionális Immunológiai Laboratóriumában történtek.

3.5. Statisztikai elemzés

Eredményeinket átlag \pm S.D. értékeként fejeztük ki normáloszlás esetén. A statisztikai elemzést az SPSS 11.0 software-rel végeztük, a normális eloszlás vizsgálatára a Kolmogorov-Smirnov tesztet használtuk. Normáloszlás esetén Student-féle párosított t-próbát alkalmaztunk, a szignifikancia-küszöb $p < 0.05$ volt. A nemparametrikus eloszlást Mann-Whitney tesztel elemeztük, a $p < 0.05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak.

Két adatsor közötti korreláció vizsgálatára normáloszlás esetén a Pearson-féle korrelációs koefficiens (r érték) határoztuk meg, az r értéket a $p < 0.05$ szinten tekintettük szignifikánsnak. Nem normáloszlás esetén a Spearman-tesztet használtuk a korreláció kimutatására. Korreláció fennállása esetén a független változókat egy koordináta-rendszerben ábrázoltuk és jellemeztük a korreláció típusát. Lineáris korreláció esetén a függvény egyenletét és meredekségét, valamint a regressziós koefficiens (R) és a szignifikancia szintjét (p) határoztuk meg.

EREDMÉNYEK

4.1. Endotélfunkció és ccIMT SSc-ben

A vizsgálatban részt vevő betegek átlagéletkora 51.8 ± 10 , a kontrolloké 49.3 ± 6 év volt. Az SSc-s betegek FMD értéke szignifikánsan alacsonyabb volt ($4.82 \pm 3.76\%$ vs. kontroll: $8.86 \pm 3.56\%$, $p < 0.01$), míg NMD értéke nem különbözött a kontrollcsoportétól. A ccIMT vonatkozásában nem volt szignifikáns különbség az SSc-s (0.67 ± 0.26 mm) és kontroll egyének közt (0.57 ± 0.09 mm, $p = 0.067$.) Az FMD, NMD és ccIMT a betegség limitált és diffúz formájában nem különbözött szignifikánsan.

4.2. Az FMD, NMD, ccIMT összefüggése az életkorral és klinikai adatokkal

SSc-ben a ccIMT az életkorral ($r = 0.470$; $p = 0.013$) és a betegségtartammal ($r = 0.472$, $p = 0.011$) mutatott szignifikáns korrelációt. Az NMD az életkorral fordított arányosságban állt ($r = 0.492$; $p = 0.012$), míg az FMD sem a korral, sem a betegségtartammal nem korrelált SSc-ben. Érdekes módon az FMD, NMD és ccIMT sem egymással, sem a szervi manifesztációkkal (RP:100%, GI:72%, tüdő:66%, cardiális:66%, ujjbegyfelekélyek: 45%, vese: 10%, autoantitestek pozitivitása: anti-Scl-70: 44.8%, anti-centromér At: 10%) nem mutatott összefüggést.

A kontrollcsoportban a ccIMT a korral mutatott összefüggést ($r = 0.61$; $P = 0.003$), míg az FMD és NMD nem korrelált (FMD: $r = 0.264$, $P = 0.082$, NMD: $r = 0.032$, $P = 0.870$) az életkorral.

4.3. PWV és AIx, artériás stiffness paraméterek SSc-ben

Mind a pulzushullám terjedési sebesség (PWV, 9.67 ± 2.08 m/s ill. 8.00 ± 1.46 m/s, $p = 0.00017$), mind az Arteriograph eszközzel mért augmentációs index, AIx (SSc-s átlag: 9.02 ± 30.32 SSc, kontroll: $-41.15 \pm 22.5\%$, $p < 0.0001$) számottevően magasabbak voltak SSc-ben a kontrollcsoport értékeihez képest.

4.4. Az artériás stiffness és a klinikai adatok (betegség altípus, kor, betegségtartam) kapcsolata

A limitált (lcSSc, $n = 9$) és diffúz (dcSSc, $n = 31$) betegségformákat összehasonlítva, lcSSc-ben szignifikánsan emelkedett PWV-t észleltünk (10.04 ± 2.01 m/s ill. 8.39 ± 1.87 m/s, $p = 0.034$). Az AIx értékeiben nem volt szignifikáns a különbség a két alcsoport között. A lc

és diffúz formában szenvedő betegek lipidprofil, ill. betegségstartam tekintetében hasonlóak voltak egymáshoz, azonban a lcSSc csoport életkora magasabb volt (61.7 ± 10.6 vs. 45.2 ± 8.73 év, $p < 0.005$.) Az AIx és PWV egymással ($r = 0.32$, $p = 0.045$), valamint az életkorral is korreláltak SSc-ben ($r = 0.31$, $p = 0.048$ and $r = 0.36$, $p = 0.021$.) A betegségstartam növekedésével is magasabb PWV-t észleltünk SSc-ben ($R = 0.40$, $p = 0.011$).

4.5. A rosuvastatin hatásai a mikrocirkulációra és makrovaszkuláris paraméterekre SSc-ben

Az a . brachialis FMD 6 hónapos rosuvastatin kezelés után $2.3\% \pm 3.3\%$ -ról $5.7\% \pm 3.9\%$ -re javult ($P = 0.0002$). Az átlag PWV értékek csökkentek, azonban ez nem érte el a szignifikáns mértéket (a-f PWV: 8.8 ± 2.2 m/s ill. 8.3 ± 2.1 m/s, $p = 0.15$; c-f PWV: 8.7 ± 2.6 m/s ill. 8.1 ± 1.9 m/s, $p = 0.1$). A c-fPWV a kezelés előtti 11/28 arányról a kezelés utánra 5/28-ra csökkent (17.9%) az európai korban, nemben, lipidprofilban illesztett referenciaértékekhez képest.

A perifériás érbetegség indikátoraként használatos boka-kar index (ankle-brachial index, ABI) mindkét alsó végtagon 1.1 ± 0.2 volt és nem mutatott változást rosuvastatin kezelés után. A carotis communisok ultrahangos vizsgálata alapján a ccIMT 0.68 ± 0.14 mm (jobb), ill. 0.72 ± 0.17 mm (bal o.) volt kiinduláskor. Emellett 6/28 betegnél (21.4%), stenosis nem okozó, vagy nem szignifikáns stenosis okozó plakkokat figyeltünk meg. Rosuvastatin kezelés után a ccIMT értékek 0.68 ± 0.14 mm ($p = 0.38$) ill. 0.70 ± 0.17 mm ($p = 0.3$) voltak: a statin kezelés nem járt sem a ccIMT értékek, sem a plakkok méretének csökkenésével. A kóros carotis plakkot vagy ABI-t mutató betegek aránya együttesen 8/28 volt (28.6%).

Az alkar bőrének lézer Doppler perfúzióját posztokklúziós reaktív hyperaemia (PORH) provokáció során vizsgáltuk. A bazális- és csúcsáramlást, a biológiai zéró áramlást, a hyperaemiás areát vagy az időbeli kinetikai jellemzőket (TM, TH1, TH2) vizsgálva nem volt különbség rosuvastatin kezelés után a kiindulási értékekhez képest. Az occlusio utáni akcelerációs szakasz meredeksége: 14.6 ± 14.8 ról 10.0 ± 10.3 U/s-ra, $p = 0.081$, a decelerációs szakasz meredeksége : -1.13 ± 0.92 U/s-ról -0.64 ± 1.09 U/s-ra csökkent, $p = 0.021$.

4.6. Rosuvastatin hatása a laborparaméterekre SSc-s betegcsoportban

Antinukleáris antitest pozitivitást (ANA) 26/28 betegnél észleltünk (93%), 12/28 betegnek volt ENA elleni antitestje (extractable nuclear antigen), 1/28 (4%) betegnek volt

nukleáris riboprotein (RNP) ellenes autoantitestje, Smith antigén elleni antitest (Sm) nem fordult elő, 3/28 beteg (11%) volt anti SS-A (Ro) pozitív, míg anti SS-B (La) pozitivitást nem észleltünk. 12/28 betegnél (43%) tudtunk topoisomerase I (Scl-70) elleni antitestet, 2 betegnél (7%) hisztidil-tRNS szintetáz ellenes antitestet kimutatni (Jo1).

A szérum immunkomplex (IC) szintek kezdetben emelkedettek voltak, majd rosuvastatin kezelést követően visszatértek a normáltartományba (extinkció: 183.6 ill. 135.5, $p=0.007$), míg a komplement 3 szintek (C3, 1.81 ill. 1.62 g/l) és C4 szintek (0.33 ill. 0.27 g/l) a referenciatartományon belül mutattak szignifikáns csökkenést rosuvastatin kezelést követően ($p=0.001$). A keringő von-Willebrand-faktor elleni antitestek kórosan emelkedettek voltak kiinduláskor a betegek 63%-ában és nem változtak rosuvastatin kezelés hatására SSc-ben ($209 \pm 90\%$ ill. $193 \pm 76\%$, $p=0.09$).

A kiindulási szérum lipidszintek alapján a betegek 10%-ánál észleltünk hypertrigliceridémiát (TG >2.3 mmol/L), 50%-nál emelkedett összkoleszterinszintet (>5.2 mmol/l) és 32%-nál magasabb HDL-C szinteket (>3.4 mmol/l). A vizsgálat kezdetén 11/28 betegnek volt alacsony HDL-C szintje (női referenciaszint <1.2 , ffi <1.0 mmol/l). A referenciatartományt az európai SCORE táblázat ajánlása alapján, közepes kardiovaszkuláris rizikójú betegekre vonatkozóan határoztuk meg. Mind az összkoleszterinszint, mind az LDL-C és trigliceridszintek, csakúgy, mint az atherogén indexek, szignifikánsan csökkentek rosuvastatin kezelést követően. A non-HDL koleszterinszintek szintén alacsonyabbak voltak statin kezelést követően (3.8 ± 1.5 ill. 2.5 ± 1.3 mmol/l, $p=0.0003$). Az akut fázis fehérjék között a hsCRP szintje 5.1 ± 5.2 mg/l-ről 3.4 ± 2.7 mg/l-re csökkent ($p=0.01$). A vérsüllyedés, a vesefunkció és a teljes vérkép paraméterei nem mutattak jelentős változást statin terápia után a kiindulási értékekhez viszonyítva.

4.7. A rosuvastatin kardiális hatásai SSc-ben

4.7.1. Echocardiographiás paraméterek

Standard echocardiographiával normális bal kamrai átmérőt és az ejekciós frakció (EF: 60.5 ill. 61.7%) alapján megtartott szisztolés bal kamra funkciót észleltünk mind rosuvastatin kezelés előtt, mind utána. A betegek 25%-ánál észleltünk enyhe emelkedést a szisztolés jobb kamrai nyomásban (37 Hgmm). A jobb kamrai tágasságát normálisnak találtuk (26.7 ± 4.5 ill. 28.4 ± 5.4 Hgmm, $p=0.023$).

A súlyos billentyűhibák előfordulása ritka volt a vizsgált betegcsoportban. Mindösszesen 5/28 betegnek volt mitralis billentyű prolapsusa, 18/28 betegnek volt mitrális insuffitentiája (MI), az esetek többségében enye, vagy mérsékelt fokú (<II. fok). 18 betegből 2-nek volt II.

fokú MI-je, 3/28 betegnek volt enyhe fokú aorta insuffitentiája, egy betegnek nem szignifikáns aorta stenosisa.

Bal kamra diasztolés diszfunkciót a betegek 81%-ánál észleltünk kiinduláskor, leggyakrabban (17/28 beteg) relaxációs zavart ($E/A < 1$, $DT > 240$ msec), 3/28 betegnél mérsékelt diasztolés diszfunkciót ($E/A = 1-1.5$, $DT = 160-200$ msec), 2/28 betegnél súlyos diasztolés diszfunkciót, restriktív mintázatot ($E/A > 1.5$, $DT < 160$ msec) észleltünk. A diasztolés funkcióban nem volt szignifikáns különbség a kezelés előtt ill. után SSc-ben.

4.7.2. Arrhythmiai, vezetési zavarok SSc- ben és rosuvastatin hatása az EKG eltérésekre

Míg az egyes EKG eltérések ritkák voltak a vizsgált SSc-s betegekben, ezeket összevonva vezetési zavar 23%-ban, kóros alapritmust vagy major arrhythmiát 42%-ban, kóros szívfrekvencia-variabilitást (HRV, heart rate variability, mely autonóm funkciózavarra utal) 23% -ban (6/26 beteg) észleltünk. Major arrhythmiát az alábbi rendellenességek valamelyike esetén véleményeztünk: szupraventricularis futam vagy tachycardia, kapcsolt kamrai extrasystolia, kamrai futam vagy tachycardia, 1500 msec-nál hosszabb pauza, vagy aktív időszakban 60/min alatti szívfrekvencia. Rosuvastatin előtt ill. után nem találtunk különbséget a betegek EKG eltéréseiben.

4.7.3. A kóros EKG-k és vaszkuláris, labor- ill. echocardiographiás paraméterek összefüggései

Eredményeink alapján a fizikai terhelhetőség és normális EKG között szignifikáns összefüggés áll fenn. A normális EKG-jú betegek 6-perces járásteszt során 388 ± 82 m -t, míg a kóros EKG-jú betegek 284 ± 103 métert teljesítettek ($p < 0.05$). A kóros EKG csoportban az FMD értékek is alacsonyabbak voltak, de ez nem érte el a szignifikáns mértéket ($FMD_{norm} = 3.9 \pm 3.1\%$, $FMD_{kóros} = 1.7 \pm 3.2\%$, $p = 0.06$). A kóros EKG-jú betegek PWV-je is magasabb volt, a különbség rosuvastatin kezelés után vált szignifikánssá (c-fPWV: 8.6 ± 1.7 m/s, ill. 6.7 ± 1.6 m/s, $p = 0.012$). A csökkent szívfrekvencia-variabilitás szignifikáns összefüggést mutatott a manifeszt carotis plakk jelenlétével (6/28 beteg, $p = 0.044$, OR 8.5, CI: 1.13-63.87.)

A vizsgált laborparaméterek közül a We, CRP és vWF-szintek, illetve az atherogén indexek nem álltak szignifikáns összefüggésben az EKG eltérésekkel SSc-ben.

A jobb kamrai echocardiographiás paraméterek közül a szupraventricularis ritmuszavarok jelenléte esetén a TAPSE-t alacsonyabbnak találtuk (24.68 ± 4.4 vs. 21.02 ± 3.6 mm, $p = 0.031$), a tricuspídalis E hullám és a jobb kamrai E/A arányt csökkentnek észleltük (JK E/A:

1.23±0.27 vs. 0.89±0.29, p=0.004), míg a bal pitvar hosszanti átmérője magasabb volt a supraventricularis ritmuszavar nélküli betegekhez képest (52±10.5 , ill. 41.5±4.5mm).

4.7.4. A fizikai terhelhetőség vizsgálata

Eredményeink alapján fél éves rosuvastatin (20 mg/nap) kezelés nem befolyásolta szignifikánsan a fizikai teljesítőképességet SSc-ben. A 6-perces járásteszt eredmények átlaga kezelés előtt 311±108 utána 316±118 méter volt (p=0.11).

MEGBESZÉLÉS

A szisztémás autoimmun betegségek jelentős hányadára, pl. RA-ra, SLE-re vagy polymyositisre, akcelerált atherosclerosis és korai kardiovaszkuláris megbetegedések jellemzők (pl. endotéliális diszfunkció, szubklinikus atherosclerosis, fokozott artériás stiffness, stb.), melyek jelentősen befolyásolják a morbiditást és mortalitást.

Amikor 2007-ben elvégeztük keresztmetszeti vizsgálatunkban az FMD és ccIMT felmérését SSc-ben, még igen kevés információnk állt rendelkezésre az SSc-ben észlelhető endoteliális diszfunkcióról, annak ellenére, hogy egyre több közlemény foglalkozott a sclerodermás vaszkuláris érintettséggel. A kontrollcsoporthoz képest csökkent FMD eredmények SSc-ben az endotélium korai funkcionális károsodását jelzik, mely a carotis atherosclerosis megelőzi. Az életkor előrehaladtával, amint azt az NMD inverz korrelációja, illetve a ccIMT pozitív korrelációja alapján láthatjuk, romló endotél-independens vazodilatáció és fokozatosan progrediáló atherosclerosis észlelhető SSc-ben. A ccIMT összefüggése a betegség tartammal elméletileg az idősebb életkorral is magyarázható volna, hisz az életkor és betegség tartam is összefügghetnek. Az általunk vizsgált betegcsoportban azonban az életkor és betegség tartam független változók voltak, ami alapján a ccIMT növekedését az alapbetegséggel hozhatjuk összefüggésbe.

A csökkent endotéldependens vazodilatáció mellett megtartott nitrát-mediálta vazodilatáció jelentősége egyrészt klinikai: alátámasztja a NO-donorok alkalmazásának létjogosultságát ezen betegek vaszkuláris tüneteinek enyhítése, akár kardiovaszkuláris rizikójának csökkentése céljából. Másfelől, a megtartott endotélium-independens vazodilatáció arra utal, hogy a szerkezeti átépüléssel (érfal-rendellenességek, fibrózis, obliteratív vasculopathia) szemben a vazoaktív regulátor molekulák szerepe a meghatározó az SSc kórlefolásának első éveiben, máskülönben a vazodilatáció külső NO donorok jelenlétében is károsodott volna.

A gyorsult PWV, a Framingham tanulmány post hoc analízise alapján, a klasszikus rizikófaktoroktól független legjobb indikátora a fokozott kardiovaszkuláris rizikónak. Az szisztémás autoimmun betegségek közül SLE-ban és RA-ban is egyértelmű korreláció áll fenn a megnövekedett artériás stiffness érték és a betegség tartam között. Munkacsoportunk elsők között vizsgálta a szisztémás arteriális stiffness indikátorait SSc-ben és elsőként számoltunk be emelkedett PWV-ről egészséges kontrollokhoz képest, ami a microvascularis tünetek mellett a nagyerek érintettségére utal SSc-ben. A PWV és SSc betegség időtartama között fennálló korreláció alapján a vaszkuláris szűrővizsgálatok tervét a betegség tartamot figyelembe véve kell SSc-ben felállítani. Emellett a limitált csoportban emelkedett PWV értékek alapján itt súlyosabb macrovascularis érintettségre számíthatunk, mint diffúz SSc-ben.

Az elmúlt évtizedekben egyre több tanulmány vizsgálta a különböző statin molekulák hatását SSc-ben illetve a rosuvastatin kardiovaszkuláris rizikót csökkentő hatását az átlagpopulációban. Saját vizsgálataink eredményei (az endotél diszfunkció, megnövekedett artériás stiffness vagy a PWV összefüggése a betegség tartammal SSc-ben) arra sarkalltak minket, hogy megvizsgáljuk rosuvastatin lehetséges hatásait a kardiovaszkuláris és laboratóriumi paraméterekre SSc-ben. A 6-hónapos rosuvastatin kezelés mellett észlelt szignifikáns endotél funkció-javulás új eredmény, melyet korábban nem mutattak ki SSc-ben. A szérum CRP és komplement szintek szignifikáns, referenciatartományon belüli csökkenése pedig csökkent betegség aktivitásra vagy a kardiovaszkuláris rizikó csökkenésére utalhatnak. Az immunkomplex-szintek normalizálódásának a betegség patogenezise szempontjából lehet jelentősége.

A kezelés előtti és utáni atherogén indexek és FMD között nem volt összefüggés, ami arra utal, hogy egyrészt a megnövekedett FMD érték a lipidszintektől független jelenség SSc-ben, másrészt az FMD javulást feltehetőleg nem-lipid statin hatások magyarázhatják. Ilyen hatások pl. az endoteliális NO szintáz aktivitás normalizálódása, csökkenő ADMA szintek, megnövekedett adiponektin-kiáramlás, az endotél sejtek IFN- γ indukált MHC-II-expressziójának csökkentése (ezáltal az MHC-II-mediált T-sejt aktiváció csökkentése) vagy akár a rosuvastatin Rho-kináz útvonalat gátló hatása, melynek a bőr vaszkuláris tónusának szabályozásában van fontos szerepe.

A csökkent FMD eredményekkel szemben, ABI, ccIMT vagy PWV értékek nem voltak kórosak az európai referenciaértékekkel összehasonlítva. Az utóbbi három paraméter ráadásul nem változott szignifikánsan a rosuvastatin kezelés ellenére. Valamelyest meglepő, hogy a kardiovaszkuláris rizikó prediktorának tekintett PWV változatlan maradt rosuvastatin kezelés mellett, azonban több lehetséges magyarázat is szóba jön, így pl. a betegek jelentős

betegségtartama (átlagosan kb. 10 év) vagy a rosuvastatin kezelés hossza (lehetséges, hogy 6 hónap nem elég hosszú idő).

Az SSc-s kardiális érintettség vizsgálata során kapott eredményeinkből számos következtetést vonhatunk le. Míg a betegeknek szisztolés bal kamra funkciója mind megtartott volt, a BK diasztolés funkciója, a kardiális érintettség jeleként, a betegek 81.5%-ában károsodott volt. Az EKG elemzések azt mutatták, hogy jóllehet egy-egy ritmuszavarból csak néhány esetet észleltünk, ezeket összeadva már szignifikáns gyakoriságú az elektrokardiális kóros eltérések aránya, s ezeket a rosuvastatin kezelés nem befolyásolta. A rosuvastatin kezelés mellett a legfontosabb bal kamrai szisztolés és diastolés funkciók paraméterek, valamint a jobb kamra funkció indikátorai (EF, TAPSE, mitralis és tricuspidalis beáramlás) változatlanok maradtak. A rosuvastatin kezelés után észlelt minimális, noha statisztikailag szignifikáns bal kamrai szisztolés átmérő csökkenés, hátsó fal vastagság növekedés vagy megnövekedett jobb kamrai végdiastolés átmérő klinikai jelentősége csekély.

A tüdőfibrózis, vagy supraventricularis arrhythmiák jelenléte korrelált a jobb kamrai diszfunkció markereivel (alacsonyabb TAPSE érték, alacsonyabb E/A arány SV arrhythmiák esetén) és a bal pitvar megnagyobbodással SSc-ben. Ezen rendellenességek közös hátterében valószínűleg a megnövekedett pulmonáris rezisztencia következtében kialakult jobb kamrai systolés és diasztolés terhelés állhat. A carotis atherosclerosis és csökkent szívfrekvencia variabilitás kapcsolatát a glomus caroticum artériáján vagy annak eredésénél (pl. a. carotis externán) kialakult atherosclerosis magyarázhatja, mely a szív autonóm reflexeinek szenzoros afferensei működését befolyásolhatja.

ÖSSZEFOGLALÁS, ÚJ EREDMÉNYEK

SSc-s betegek kardiovaszkuláris eltéréseinek vizsgálata és rosuvastatin kezelés hatásainak felmérése során a következő új eredményeket kaptuk:

1. Az FMD szignifikánsan csökkent a magyar PSS-es betegekben, egészséges kontrollokhöz viszonyítva.
2. Az FMD, NMD, a. carotis IMT nem korrelál sem belső szervi eltérésekkel sem autoantitest pozitivitással PSS-ben.
3. A pulzushullám-terjedési sebesség és augmentációs index szignifikánsan magasabb, az arteriás stiffness paraméterek emelkedettek PSS-es betegekben.
4. A pulzushullám-terjedési sebesség korrelál a betegség fennállási idővel és szignifikánsan magasabb a limitált cutan formában.
5. A rosuvastatin javítja az FMD-t, csökkenti a hsCRP-t, komplement szinteket és az immunkomplex produkciót, emiatt hatása van a betegség aktivitásra és csökkenti a cardiovascularis rizikót.
6. A rosuvastatin kezelés során észlelhető endothel funkció javulás, figyelembe véve az atherogén indexet, nem a lipidcsökkentő hatásából adódik.
7. SSc-ben fél éves rosuvastatin kezelés nincs hatással a perifériás artériás betegségek gyakoriságára vagy súlyosságára és a következő angiológiai paraméterekre: boka-kar index, carotis communis IMT, lézer Dopplerrel mért alkar bőr blood flow.



Iktatószám: DEENKÉTK/176/2014.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. Publikációs Lista

Jelölt: Tímár Orsolya
Neptun kód: FQCJFF
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Tímár, O.**, Szekanez, Z., Kerekes, G., Végh, J., Oláh, A.V., Nagy, G., Csiki, Z., Dankó, K., Szamosi, S., Németh, Á., Soltész, P., Szűcs, G.: Rosuvastatin improves impaired endothelial function, lowers high sensitivity C-reactive protein, complement and immunocomplex production in patients with systemic sclerosis: A prospective case-series study. *Arthritis Res. Ther.* 15 (5), R105-, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/ar4285>
IF:4.302 (2012)
2. **Tímár, O.**, Soltész, P., Szamosi, S., Dér, H., Szántó, S., Szekanez, Z., Szűcs, G.: Increased arterial stiffness as the marker of vascular involvement in systemic sclerosis. *J. Rheumatol.* 35 (7), 1329-1333, 2008.
IF:3.282
3. Szűcs, G.* **Tímár, O.***, Szekanez, Z., Dér, H., Kerekes, G., Szamosi, S., Shoenfeld, Y., Szegedi, G., Soltész, P.: Endothelial dysfunction precedes atherosclerosis in systemic sclerosis - relevance for prevention of vascular complications. *Rheumatology.* 46 (5), 759-762, 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/kel426>
IF:4.045

* Szűcs Gabriella és Tímár Orsolya megosztott első szerzők.





További Közlemények

4. Soltész, P., Kerekes, G., Dér, H., Szűcs, G., Szántó, S., Kiss, E., Bodolay, E., Zeher, M., **Tímár, O.**, Szodoray, P., Szegedi, G., Szekanez, Z.: Comparative assessment of vascular function in autoimmune rheumatic diseases: Consideration of prevention and treatment. *Autoimmun. Rev.* 10 (7), 416-425, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2011.01.004>
IF:6.624
5. **Tímár O.**, Soltész P.: Az artériás stiffness patofiziológiája, mérési lehetőségei és prognosztikai szerepe. *Hyperton. Nephrol.* 14 (1), 29-40, 2010.
6. Szekanez Z., Soltész P., Kerekes G., Szűcs G., Szántó S., **Tímár O.**, Dér H., Bodolay E., Kiss E., Zeher M., Bodnár N., Szamosi S., Szabó Z., Váncsa A., Szegedi G.: Akcelerált atherosclerosis és vasculopathiák reumatológiai betegségben. *Immunol. Szle.* 2 (2), 4-14, 2010.
7. Soltész, P., Veres, K., Laczik, R., Dér, H., Csipő, I., **Tímár, O.**, Szomják, E., Szegedi, G., Szodoray, P.: Evaluation of antibodies to oxidized low-density lipoprotein and assessment of C-reactive protein in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease. *Thromb. Haemost.* 98 (2), 413-419, 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1160/TH06-10-0561>
IF:3.501
8. Szodoray, P.* **Tímár, O.***, Veres, K., Dér, H., Szomják, E., Lakos, G., Aleksza, M., Nakken, B., Szegedi, G., Soltész, P.: TH1/TH2 imbalance, measured by circulating and intracytoplasmic inflammatory cytokines - immunological alterations in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease. *Scand. J. Immunol.* 64 (3), 336-344, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2006.01816.x>
IF:2.09

*Szodoray Péter és Tímár Orsolya megosztott első szerzők.





DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR
PUBLIKÁCIÓK



A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 23.844

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
11.629**

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2014.07.18.



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 45. □ Tel.: (52) 518-600
E-mail publikaciok@lib.unideb.hu □ Honlap: lib.unideb.hu

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsőként köszönöm témavezetőmnek, Szűcs Gabriellának az irányítását és segítőkészségét amelyet mindvégig élveztem a tudományos munkám során. Itt szeretném az elismerésemet kifejezni azért a kitartással és odaadással végzett munkáért, ami a több száz szisztémás szklerózisos beteg kezelésével és követésével együtt jár.

Köszönöm Soltész Pálnak, hogy csatlakozhattam a munkacsoportjához az Angiológiai és Intenzív osztályon, hogy a figyelmemet a vaszkuláris eltérésekre irányította és hogy tudományos tevékenységemet, a PhD évek jelentős részében társtémavezetőként, mindvégig támogatta.

Hálás vagyok Szekanez Zoltánnak a támogató figyelméért, amellyel a kutatómunkát végigkísérte, valamint az eredmények szintézisekor tett számos értékes észrevételéért.

Köszönettel tartozom Zeher Margit orvosszakmai igazgatónak, hogy lehetővé tette számomra mind a klinikai, mind a tudományos munkát a Belgyógyászati Intézetben, valamint hogy szakképzésemet és klinikai tevékenységemet szakmailag felügyelte.

Hálás vagyok Szegedi Gyula akadémikus úrnak, a III. sz. Belgyógyászati Klinika egykori igazgatójának, akinek a Regionális Immunológiai Laboratórium létrehozását és a magas szintű immunológiai tudományos kutatómunka alapjainak és hagyományainak megteremtését köszönhetjük.

Külön köszönetet szeretnék mondani három kollégának, akik kardiológiai ill. kardio-vaszkuláris képző eljárásokban szerzett szakmai tapasztalatukat osztották meg velem: Kerekes Györgynek, Tizedes Franciskának és Végh Juditnak. Mind szakmailag, mind magánemberként sokat tanultam tőlük.

Nagyráértkelem a Belgyógyászati Klinika nővéreinek, munkatársainak munkáját, köszönöm az Angiológiai és Intenzív osztály és a Reumatológiai Tanszék nővérei segítségét a vérminták levételében és a betegirányításban. Köszönet illeti Dér Henriettát, Laczik Renátát, Pappné Farkas Ildikót, Sipos Andreát, akik a vaszkuláris vizsgálatokban voltak segítségemre. Hodosi Katalinnak a statisztikai elemzésekben, ábrák elkészítésében, technikai kérdésekben nyújtott segítségével és támogatásáért mondok köszönetet.

Köszönöm Oláh Zsuzsa, Domján Andrea és Márton Anita segítőkészségét, amellyel maximálisan megkönnyítették számomra az adminisztratív teendőket.

Köszönöm Sipka Sándor, Nagy Gábor és az Immunológiai Laboratórium munkatársainak a vizsgálatok elvégzésében és a minták tárolásában, valamint a KBMPI munkatársainak a laboratóriumi mérések elvégzésében nyújtott segítségét.

Hálás vagyok társszerzőimnek, jelenlegi és egykori kollégáimnak a Belgyógyászati Klinikán, akik mindig kísértettek, ha a kutatás és betegellátás feladatait nehéz volt összeegyeztetni.

Köszönöm a vizsgálatokban résztvevő betegeknek és kontroll egyéneknek a türelmét és a részvételhez adott hozzájárulásukat.

Végezetül szeretném megköszönni férjemnek, családomnak a szerető támogatását és türelmét, amellyel viselték a tudományos munkával járó távollétet. Köszönet gyermekeimért, akik szeretetükkel és vidámságukkal rövid idő alatt feledtetnek minden nehézséget.