

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A 2-ES TÍPUSÚ DIABETES MELLITUS MIKROVASZKULÁRIS HATÁSAI

Dr. Erdei Nóra



**DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
KARDIOLÓGIAI INTÉZET
KLINIKAI FIZIOLÓGIAI TANSZÉK**

Debrecen

2007

1. BEVEZETÉS

1.1. Szívérrendszeri megbetegedések és a mikroerek vazomotor működészavara 2-es típusú diabetes mellitusban

A szívérrendszeri megbetegedések (magasvérnyomás, iszkémiás szívbetegség, perifériás érbetegségek) komoly népegészségügyi problémát jelentenek, mivel a legtöbb fejlett országban, így hazánkban is, ezen betegségcsoport okozza a megbetegedések és halálozások legnagyobb hányadát. A 2-es típusú diabetes mellitus (2-DM) gyakorisága rohamos léptékben növekszik Magyarországon. A 2-DM jelentős mértékben fokozza a szívérrendszeri megbetegedések kialakulásának kockázatát. Megdöbbentő statisztikai adat, hogy DM-ban a szívinfarktus kialakulásának kockázata a már korábban egyéb okból szívinfarktuson átesett betegek rizikófokozódásával egyenlő nagyságú. Jól ismert, hogy a hosszú ideig fennálló 2-DM-ban a nagyerekben atherosclerosis alakul ki, amely nagymértékben hozzájárul a kardiovaszkuláris mortalitás növekedéséhez. Újabb vizsgálatokban felvetették, hogy 2-DM-ban már a nagy erek atherosclerosis előtt elváltozások jelennek meg a mikroerek szintjében. 2-DM-ban a kis ereket érintő microangiopathia talaján kialakuló nephropathia, neuropathia, retinopathia, cerebrális-, kardiális, és alsó végtagi mikrokeringési zavarok nagymértékben hozzájárulnak az ezen betegségben szenvedők fokozott morbiditási és mortalitási rizikójához. 2-DM-ban mind a makrovaszkuláris, mind a mikrovaszkuláris funkciózavar és érszövődmények kialakulásában jelentős szerepet tulajdonítanak a vaszkuláris endothel és simaizom funkcionális károsodásának. A mikroerek vazomotor működésének zavara a rezisztencia erek szintjében a lokális szöveti vérátáramlás szabályozó, adaptációs folyamatainak beszűküléséhez, valamint a perifériás ellenállás megváltozásához, ezáltal magasvérnyomás betegség kialakulásához vezethet. 2-DM-ban a megváltozott mikroér működés természete és a háttérben álló pontos kórélettani mechanizmusok azonban nem kellően ismertek, ezért a

szöveti keringést fenntartó, illetve az azt javító terápiás lehetőségek, valamint a 2-DM-hoz társult magasvérnyomás gyógyszeres kezelési elvei még nem kellő mértékben kidolgozottak.

1.2. Endothel diszfunkció 2-es típusú diabetes mellitusban

Az elmúlt évek kutatásai bebizonyították, hogy a vaszkuláris endothel nemcsak egy az ereket bélelő passzív barrier. Kis tömegéhez (~110 gramm) képest óriási felületet képez, (~ 350 m²) és aktívan részt vesz a kardiovaszkuláris rendszer homeosztázisának fenntartásában. Fontos élettani feladata a vérkeringés lokális szabályozása, részt vesz az ion és folyadékcsereben, kontrollálja a véralvadási mechanizmusokat, a vérlemezke és leukocita adhézió folyamatát, az érfalban zajló lokális gyulladásos folyamatokat, az arteriogenezist és az angiogenezist. Az endothel különböző fiziológiás stimulusokra értágító és érszűkítő anyagok szintézisével és felszabadításával válaszol, ezáltal szabályozva az adott érterület vérellátását, a szöveti perfúziót. Az endothel által termelt legfontosabb vazodilatátor anyagok a nitrogén-monoxid-szintáz (NOS) által termelt nitrogén-monoxid (NO), a ciklooxygenáz izoenzimek (COX-1 és COX-2) termelte prosztaciklin (PGI₂) és a mai napig tisztázatlan természetű endothel-dependens hiperpolarizáló faktor (EDHF). Az egyes vazodilatátorok a különböző érterületeken eltérő mértékben járulnak hozzá a vazodilatáció kialakításához. Az endothel azonban nem csak dilatátor természetű, hanem konstriktor anyagokat is termel. Ilyen anyag az endothelin, az angiotenzin II, valamint a COX izoenzimek által termelt konstriktor prosztaglandin, a prosztaglandin H₂/tromboxán A₂ (PGH₂/TXA₂) is.

Az endothel rendkívül összetett, egymással párhuzamosan működő és kölcsönhatásban álló élettani folyamatainak megbomlott egyensúlya bizonyos kórélettani körülmények között az endothel kóros működéséhez, endothel diszfunkcióhoz vezethet. Az endothel diszfunkció esetén többek között megbomlik a vazodilatátor (NO, PGI₂, EDHF) és vazokonstriktor (endothelin-1,

angiotenzin II, vazokonstriktor prosztaglandinok) tényezők közötti egyensúlyi állapot.

Újabb kutatások alapján úgy tűnik, hogy 2-es típusú DM-ban a rezisztencia erek endothel-függő vazodilatátor mechanizmusainak sérülése már a betegség korai szakaszában kialakul, ami a mikroerek vazodilatátor adaptációs folyamainak beszűküléséhez és vazospazmus kialakulásához vezethet.

1.3. A miogén tónus változása 2-es típusú diabetes mellitusban

A vaszkuláris rezisztencia kialakításában szerepet játszó másik fontos szabályozó mechanizmus a miogén válasz, amely elsősorban a mikroerek szintjében működik. A szisztémás vérnyomás emelkedése a mikroerek simaizom általi vazokonstrikciónak eredményezi, ezt a jelenséget miogén tónusnak nevezzük. Az érfalban termelődő, vagy a környezetben felszabaduló vazokonstriktor anyagok hatására az értónus fokozódhat, míg ha az endothelből vazodilatátor természetű anyagok szabadulnak fel, akkor a tónus mértéke csökken. A bazális miogén tónus a szöveti vérátáramlás gyors és hatékony szabályozását teszi lehetővé. Kevés és részben ellentmondásos irodalmi adat áll rendelkezésre a mikroerek miogén válaszána elváltozására vonatkozóan, elsősorban 1-es típusú diabetes mellitusban. Humán és állatkísérletes vizsgálatok szerint diabetes mellitus korai szakaszában csökken a mikroerek miogén tónusának mértéke. Más tanulmányok ugyanakkor azt találták, hogy a diabetes mellitus előrehaladottabb stádiumában fokozódik a mikroerek nyomásemelkedés-indukálta, simaizom-által közvetített miogén konstrikcióna. Tehát úgy tűnik, hogy diabetes mellitusban a miogén válasz feltehetőleg a betegség stádiumától is függő megváltozott működése alakul ki, melynek pontos mechanizmusa még nem tisztázott.

1.4. Vazomotor diszfunkció és oxidatív stressz 2-es típusú diabetes mellitusban

A sejtek működése során normálisan kis mennyiségben termelődnek reaktív oxigén szabadgyökök (ROS), melyeknek fontos szerepe van a szignáltranszdukciós folyamatok szabályozásában. Kóros körülmények között azonban a ROS fokozott mértékben termelődhetnek, amely meghaladja az antioxidáns rendszerek kapacitását, és a különböző makromolekulák (DNS, proteinek, szénhidrátok, lipidek) oxidációja jöhet létre, ami a sejtek funkcionális és morfológiai károsodásához vezethet. Ezt a jelenséget oxidatív stressznek nevezzük.

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy bizonyos kórállapotokban az érfalban jelentős mennyiségben termelődhet ROS. Az érfali ROS termelésében három fő enzim, a NAD(P)H-oxidáz, a xantin-oxidáz (XO) és a NOS vesz részt. Az érfalban terelődő ROS számos mechanizmus révén hozhat létre vazomotor diszfunkciót, egyaránt károsítva a vaszkuláris endothel és simaizomsejtek működését. Ismert, hogy a fokozottan termelődő érfali ROS könnyen inaktiválja a NO-t, így csökken a NO biológiai hozzáférhetősége. A ROS fontos szerepet játszik az érfali simaizomsejtek (VSMC) megváltozott működésében is, VSMC migrációt aktiválva, valamint a celluláris apoptózist indukálva hozzájárul a vaszkuláris remodelling létrejöttéhez is.

A humán és az állatkísérletes, elsősorban nagyereken végzett vizsgálatok eredményei felvetik azt a hipotézist, hogy a 2-es típusú DM-ban oxidatív stresszállapot alakul ki. Az oxidatív stressz talaján kialakuló károsodott endothel és simaizom működés pontos mechanizmusa azonban még nem pontosan ismert.

1.5. Prostaglandin szintézis eltérései 2-es típusú diabetes mellitusban

Ismert, hogy egyes kardiovaszkuláris megbetegedésekhez krónikus, alacsony szintű szöveti gyulladás társul. A ciklooxigenáz (COX) enzimek és az általuk termelt prosztoglandinok jelentősége a krónikus gyulladásban

megalapozottnak látszik. Sok egyéb faktor mellett a prosztaglandinok jelentős mediátorai a gyulladással járó folyamatoknak, és számos prosztaglandin származék fontos szerepet tölt be a vazoregulációban, ezen belül az arteriolák átmérőjének szabályozásában. Emlős sejtekben az COX enzim két izoformája ismert, a konstitutív módon expresszálandó COX-1, és a gyulladással, mitogén és egyéb élettani hatásokra gyorsan felszaporodó COX-2. Feltételezések szerint a krónikus gyulladással járó állapotokban az érfa prosztaglandin szintézis megváltozása a módosult COX-2-expresszióval tudható be. Azonban 2-DM-ban a COX-2 expressziója, illetve a COX-2 expresszió következtében kialakuló funkcionális mikroér elváltozások nem ismertek. Legújabb kutatásokban pedig azt feltételezik, hogy a krónikus érfa gyulladás kialakulásában, annak indukciójában szerepe lehet az oxidatív stressznek is. Az oxidatív stressz és a megváltozott prosztaglandin szintézis kapcsolata azonban teljesen feltáratlan 2-es típusú DM-ban.

1.6. A levosimendan metabolit OR-1896 hemodinamikai és vazomotor hatásai

A levosimendan egy a szívelégtelenség kezelésében alkalmazott új gyógyszer-család, a Ca^{2+} -érzékenyítők csoportjába tartozó szer. Felmerült, hogy a levosimendan kedvező hemodinamikai hatásait nem csupán a szívműködés kontraktilitási paramétereinek kedvező befolyásolása, hanem a perifériás keringésre gyakorolt hatásai révén éri el. Egyszeri levosimendan adás után a kedvező hemodinamikai hatások 7-9 napig fennállnak és mivel a levosimendan féléletideje igen rövid (csupán 1 óra), feltételezhető, hogy a levosimendan hemodinamikai hatásainak kialakításában a szervezetben keletkező hosszú féléletidejű metabolitja, az OR-1896 is fontos szerepet játszhat. A levosimendan különböző mechanizmusokon keresztül vazodilatátor hatással bír mind az artériák, mind a vénák oldalán. A levosimendan elsősorban bizonyos kálium

csatornák aktivációját eredményezi, amely folyamat a vaszkuláris simaizomsejtek hiperpolarizációjához és következményes érrelaxációhoz vezet.

A mikroerek átmérőjének szabályozásában kiemelkedően fontos egyes kálium csatornák aktivációja és az annak következtében kialakuló vazodilatáció. Nem ismert azonban, hogy a levosimendan milyen hatást gyakorol a mikroerek vazomotor működésére, illetve hogy a levosimendan hosszú féléletidejű metabolitja, az OR-1896 rendelkezik-e vazoaktív tulajdonságokkal és hatását milyen mechanizmusokon keresztül fejti ki mikroereken.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Mindezek alapján tudományos kutatásaimban az alábbi célkitűzéseket fogalmaztam meg:

1. A 2-DM állatkísérletes modelljeiben vizsgáljam a rezisztencia erek endothel-függő és simaizom által közvetített vazomotor működésében létrejövő elváltozásokat.
2. Feltárjam egyes a mikroerek vazomotor működészavarában szerepet játszó mechanizmusokat, különös tekintettel az oxidatív stressz és megváltozott prosztaglandin szintézis mikrovaszkuláris hatásaira.
3. Továbbá, hogy vizsgáljam olyan potenciálisan vazoaktív hatású vegyületek, mint például a levosimendan és metabolitja, az OR-1896 mikroér vazomotor működésre gyakorolt hatását, és annak pontos mechanizmusát, mely vegyületeknek szerepe lehet bizonyos kórállapotok, mint például az általunk 2-es típusú DM-ban megfigyelt károsodott mikroérműködés helyreállítását célzó terápiájában.

3. MÓDSZEREK

3.1. A 2-es típusú diabetes állatkísérletes modelljei

A 2-es típusú diabetes mellitus diétával indukált állatmodellje

A 2-es típusú diabetes mellitust hím Wistar patkányokban 10 hétig tartó magas (60%-os) zsírtartalmú diéta (HFD) alkalmazásával idéztük elő. Kontrollként a 10 hétig normál, laboratóriumi tápon tartott hím Wistar patkányokat használtunk.

A 2-es típusú diabetes mellitus genetikai állatmodellje

Kísérleteink második részében a 2-es típusú DM genetikai modelljét használtuk. Az ún. db/db egerekben (C57BL/KsJ-db^{-/-}/db^{-/-}) a 4-es kromozómán található mutáció meggátolja a leptin receptor expresszióját. A működőképes leptin receptor hiányában a táplálkozási idő megnyúlik a homozigóta (db/db) egerekben, amelyek következtében a 2-es típusú DM-ra jellemző elváltozások már 8 hetes életkorban kifejlődnek, és az elváltozások progrediálnak az állat 12-14 hetes koráig, amely életkorban a kísérleteinket végeztük.

3.2. Szisztémás hemodinamikai mérések

Artériás vérnyomásmérés

A nátrium-pentobarbitállal altatott patkányok bal carotis artériáját kiperaráltuk, kanüláltuk, majd nyomás transzducer segítségével mértük az artériás középnyomást.

A db/db egerek esetében éber állatokban mértük a vérnyomást ún. „tail cuff” módszer segítségével, valamint meghatároztuk az állatok szívfrekvenciáját is.

Echocardiográfia

A db/db és kontroll egerek esetében éber állatokban végzett echocardiográfias vizsgálattal a bal kamrai falvastagságot, az end diastoles

átmérőt (LVEDD), az end systoles átmérőt (LVESD), a bal kamrai diastoles areat (LVDA), és a bal kamrai end sistoles areat (LVSA) mértük. Az így nyert adatokból meghatároztuk az ejekciós frakciót, a perctérfogatot, valamint az arteriás középnyomás figyelembe vételével a teljes perifériás ellenállást is kiszámítottuk.

3.3. Vérvémi meghatározások/analitikai módszerek

Az állatok szérumból összkoleszterin, glükóz és inzulin meghatározás történt.

3.4. Izolált mikroértechnika

Izolált mikroér kísérleteinket patkány, valamint egér gracilis vázizomból izolált arteriolákon (patkány: ~160 μm ; egér: ~90 μm) végeztük. Altatott állatokból eltávolítottuk a musculus gracilis vázizmot, majd a gracilis arteriola 1-2 mm-es szakaszát izoláltuk, kanüláltuk, és egy állandó hőmérsékletű ($T=37^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7.4$), oxigenizált Krebs oldatot tartalmazó ($T=37^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7.4$; O_2 : 10%, CO_2 : 5%, N_2 : 85%) szervfürdőbe helyeztük. Az intraluminális nyomást hidrosztatikus rezervoárok segítségével lassan 80 Hgmm-re emeltük és ~60 percig azon tartottuk, amíg az ér állapota stabilizálódott. A belső érátmérő változását egy videómikroszkóphoz rögzített kamerával detektáltuk és számítógépes program segítségével mértük.

3.5. Kísérleti protokollok izolált mikroereken

Arterioláris dilatáció vizsgálata vazoaktív szerekkel patkány izolált vázizom ereken

Kísérleteinkben az izolált vázizom arteriolák dilatációs válaszait ismert hatásmechanizmusú receptor-mediálta vagy receptor-független vazoaktív farmakonokkal teszteltük. Az izolált arteriolákban az endothel-függő dilatációt acetilkolin (ACh) és hisztamin alkalmazásával vizsgáltuk. Az endotheltől

függetlenül, a vaszkuláris simaizomra ható direkt NO donorként a nitroprusszid-nátrium (SNP) dóziszfüggő hatásait figyeltük meg. A NO-szintáz gátlására N^ω-nitro-L-arginin-metil-észtert (L-NAME) használtunk. A feltételezetten jelenlevő szuperoxid anion eliminálása céljából az ereket szabadgyökfogó tulajdonságú Tironnal inkubáltuk. A szabadgyökök lehetséges forrásának tisztázásához az arteriolákat a specifikus NAD(P)H-oxidáz inhibitor apocynin, vagy a specifikus xantin-oxidáz inhibitor allopurinol jelenlétében is inkubáltuk, majd ismételtén megmértük az agonista szerek növekvő dózisainak hatására kialakuló átmérőváltozásokat.

A nyomás indukálta arterioláris miogén tónus vizsgálata db/db egerekben

Az egerből izolált gracilis arteriolák spontán kifejlődő tónusának vizsgálata során az arteriolákban 20 Hgmm-es kezdőnyomásról kiindulva az intraluminális nyomást 20 Hgmm-enként emeltük egészen 120 Hgmm-ig. Minden egyes nyomásértéken megvártuk a spontán miogén tónus kifejlődését, majd az így kialakuló érátmérőt megmértük kalcium tartalmú (aktív átmérő) és kalciummentes (passzív átmérő) Krebs oldatban. A kalcium tartalmú Krebs oldatban meghatározott normalizált arterioláris átmérőt az adott nyomásértéken mért aktív és passzív átmérő hányadosaként határoztuk meg. A nyomás-indukálta érválaszokat kataláz, PGH₂/TXA₂ receptor antagonistá SQ-29548, szelektív ciklooxygenáz (COX)-1 gátló SC-560, valamint szelektív COX-2 gátló NS-398 jelenlétében is meghatároztuk.

A hidrogén-peroxid vazoaktív hatásának vizsgálata

A egerből izolált gracilis arteriolák esetében a H₂O₂ vazoaktív hatását a H₂O₂ növekvő dózisainak hatására kialakuló érátmérő változások mérésével vizsgáltuk, majd PGH₂/TXA₂ receptor antagonistá SQ-29548 jelenlétében is meghatároztuk ugyanezen érválaszokat. Ezután a tromboxán receptor agonista U-46619 érátmérőre gyakorolt hatását mértük a PGH₂/TXA₂ receptor

antagonista SQ-29548 jelenlétében, illetve hiányában. Endothel eltávolítást követően is megvizsgáltuk a H₂O₂ növekvő dózisainak hatására kialakuló átmérőváltozásokat.

A levosimendan és OR-1896 vasoaktív hatásainak vizsgálata

Kísérleteinkben a levosimendan és OR-1896 növekvő dózisa hatására kialakuló érátmérőváltozásokat mértük patkányból izolált gracilis mikroerekben. A K⁺ csatornák szerepének tisztázására az OR-1896 hatására kialakuló érátmérőváltozásokat a nem-specifikus K⁺ csatorna blokkoló, a tetraetilammónium (TEA), az ATP-függő K⁺ csatorna inhibitor glibenclamid, a Ca²⁺-aktivált K⁺ csatorna gátló iberiotoxin (IBTX), valamint a feszültségfüggő K⁺ csatorna (K_v) inhibitor 4-aminopiridin jelenlétében is mértük.

3.6. Reaktív oxigén szabadgyök származékok kimutatása

Szuperoxid anion kimutatása lucigenin chemiluminescencia segítségével

A patkányokból izolált carotis erekben az érfalban termelődött szuperoxid mennyiségét lucigenin chemilumineszcencia segítségével vizsgáltuk. A szuperoxid mennyiségét Tironnal történő inkubációt követően szintén meghatároztuk. A NAD(P)H-oxidáz, és a xantin-oxidáz által termelt szuperoxid mennyiségét az enzimiek szubsztrátjainak hozzáadását követően meghatározott beütésszám segítségével becsültük.

Hidrogén peroxid kimutatása DCHF fluoreszcencia segítségével

Az egerek izolált carotis ereiben termelődő H₂O₂ mennyiségét dichlorodihydroflorescein (DCHF) segítségével határoztuk meg.

3.7. Immunhisztokémia

A patkányokból származó *m. gracilis*-ből beágyazást követően 10 µm-es konszekutív metszeteket készítettünk, majd acetonos fixálás után a metszeteket monoklonális xantin-oxidáz ellenes antitesttel jelöltük.

3.8. Western immunoblot

Egerekből származó aorta mintákban a COX-1 és COX-2 fehérje expresszióját vizsgáltunk.

3.9. Statisztika

A statisztikai analízishez egy utas ANOVA-t és azt követő Tukey post hoc tesztet használtunk. Az értékeket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha a $p < 0,05$ volt.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A 2-es típusú diabetes mellitus diétával indukált modellje

Metabolikus és egyéb mért paraméterek

A magas zsírtartalmú táppal etetett (HFD) patkányok testtömege, szérum inzulin, glükóz és összkoleszterin szintjük, valamint az atrériás középnyomás értékük is szignifikánsan magasabb volt a kontrollokénál.

A vázizom arteriolák vazomotor működésének vizsgálata

A HFD állatok izolált *m. gracilis* arterioláinak sem a Ca^{2+} -mentes közegben mért passzív, sem a Ca^{2+} -ot tartalmazó Krebs oldatban mért aktív érátmérője nem különbözött a kontrollokéhoz viszonyítva. A HFD arteriolákban az endothel-függő vazodilatátor acetilkolin, valamint a hisztamin növekvő dózisainak hatására kialakuló vazodilatáció szignifikánsan csökkent a kontrollokéhoz viszonyítva, míg az endothel-független vazodilatátor, az SNP hatására kialakuló vazodilatáció nem különbözött a két csoportban. A NO-

szintáz gátló L-NAME kontroll állatokból izolált arteriolákban csökkentette az acetilkolin és a hisztamin-kiváltotta vazodilatációt, míg a HFD arteriolák érválaszát az L-NAME nem befolyásolta. A szabadgyökfógó tulajdonságú Tiron a hisztamin-indukált vazodilatációt fokozta a HFD gracilis erekben, míg nem befolyásolta az acetilkolin-dilatáció mértékét, valamint a kontroll erek érválaszait. A kontroll állatokból izolált arteriolákban sem a NAD(P)H-oxidáz gátló apocynin, sem a xantin-oxidáz inhibitor allopurinol nem befolyásolta az acetilkolin- és a hisztamin-kiváltotta vazodilatáció mértékét. Azonban a HFD állatok izolált mikroereiben az allopurinol jelenlétében a hisztamin növekvő dózisainak hatására kialakuló vazodilatáció fokozódott, míg az apocynin nem befolyásolta ugyanezen érválaszokat.

Szuperoxid anion kimutatása lucigenin chemiluminescencia segítségével

A HFD állatok carotis ereiben a szuperoxid mennyisége szignifikánsan magasabb volt, majd a szabadgyökfógó Tiron hozzáadása után a kontroll erekhez hasonló szintre csökkent. A NAD(P)H-oxidáz által termelt szuperoxid mennyisége nem különbözött a két csoportban, azonban a xantin-oxidáz által termelt szuperoxid mennyisége szignifikánsan több volt a HFD állatok carotis ereiben.

Immunhisztokémia

Immunhisztokémia segítségével a HFD állatokból származó gracilis erekben a szubendotheliális rétegben fokozott mértékű xantin-oxidáz festődés volt kimutatható.

4.2. A 2-es típusú diabetes mellitus genetikai modellje

Metabolikus és szisztémás hemodinamikai paraméterek

Munkacsoportunk a korábbiakban már ismertette, hogy 12 hetes életkorban a db/db egerek testtömege, szérum glükóz, és inzulinszintje szignifikánsan magasabb a kontrollokénál. Az éber állapotban mért szisztolés és artériás középnyomás értékek, valamint a számított perifériás vaszkuláris rezisztencia

szignifikánsan magasabb volt a db/db egerekben a kontroll állatokhoz viszonyítva.

A vázizom arteriolák vazomotor működésének vizsgálata db/db egerekben

A db/db egerekből izolált vázizom arteriolák passzív érátmérője nem különbözött a kontrollokhoz viszonyítva, azonban a kalciumot tartalmazó Krebs oldatban kialakuló aktív érátmérő szignifikánsan kisebbnek bizonyult. Az intraluminális nyomás 20 Hgmm-ről 120 Hgmm-re történő lépcsőzetes emelésével a miogén tónus vizsgálatokor azt találtuk, hogy a db/db egerekből izolált gracilis arteriolákban minden nyomásértéken fokozottabb konstriktió alakult ki, mint a kontroll egerekből izolált erekben, azaz a db/db egerek vázizom ereiben nagyobb miogén tónus volt jellemző. Az endothel eltávolítása egyik csoportban sem befolyásolta a nyomás-átmérő görbéket. A kontroll egerekből izolált arteriolákban az egyes nyomásértékeken számított normalizált érátmérők 200 U/ml katalázzal történő inkubáció hatására nem változtak, azonban a db/db egerekből izolált erekben kataláz jelenlétében a miogén tónus a kontroll értékekhez hasonló szintre csökkent. A $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ receptor gátlószere, az SQ-29548 nem befolyásolta a kontroll erek nyomás-indukálta érválaszait, azonban a db/db egerek izolált vázizom ereiben a receptorblokkoló jelenlétében az adott nyomásértékeknél megfigyelt miogén tónus nagysága szignifikánsan csökkent. A konstriktor prosztaglandinok eredetének tisztázása végett a prosztaglandin termelésben kulcsszerepet játszó COX-1 és COX-2 enzimek szelektív gátlószereinek jelenlétében vizsgáltuk a nyomás indukálta érátmérő változásokat. Azt találtuk, hogy a COX-1 szelektív gátlószere, az SC-560 sem a kontroll, sem a db/db egerekből izolált erekben nem befolyásolta a miogén tónus mértékét. Azonban COX-2 szelektív gátlószere a db/db gracilis arteriolákban szignifikáns mértékben csökkentette a miogén tónust, míg a kontroll erek nyomás-indukálta érválaszaira nem volt hatással.

Western immunoblot

A db/db egerek aortájában fokozott COX-2 fehérje expressziót mutattunk ki Western immunoblot segítségével, míg a COX-1 expressziója nem különbözött szignifikánsan a két csoportban.

Hidrogén-peroxid kimutatása DCFH fluoreszcencia segítségével

A db/db egerek carotis artériáiban a DCFH-nel detektálható fluoreszcencia intenzitás fokozott volt, amely az érfalban nagyobb mennyiségben jelenlevő H₂O₂-ra utal. Kataláz kezelés hatására a db/db carotis erekben a fluoreszcencia intenzitás szignifikáns mértékben csökkent, azonban a kontroll erekben számottevő mértékben nem változott.

A hidrogén-peroxid vazóaktív hatásának vizsgálata

A H₂O₂ a kontroll állatokból izolált arteriolákban dózis-függő vazodilatációt okozott, azonban a db/db egerek vázizom arterioláiban dózis-függő vazokonstriktió alakult ki. Az endothel eltávolítás nem befolyásolta egyik csoportban sem a H₂O₂ növekvő dózisaik hatására kialakuló érválaszokat. A PGH₂/TXA₂ receptor gátlószere, az SQ-29548 nem befolyásolta a kontroll erekben a H₂O₂ hatására kialakuló vazodilatáció mértékét. Azonban a db/db egerek gracilis arterioláiban a vazokonstriktiót megszüntette, jelenlétében a H₂O₂ hatására vazodilatáció alakult ki. A PGH₂/TXA₂ receptor agonistája, az U-46619 mindkét csoportból izolált vázizom arteriolákban hasonló mértékű vazokonstriktiót okozott, melyet receptor gátlószere mindkét csoportban hasonló, szignifikáns mértékben csökkentett.

4.3. A levosimendan és az OR-1896 vazóaktív hatásai

Az OR-1896 növekvő dózisaik hatására vazodilatáció alakult ki a vázizom arteriolákban, amely hasonló mértékű volt a levosimendan növekvő dózisaik hatására kialakuló vazodilatációval. A nem szelektív K⁺ csatorna blokkoló tetraetilammónium jelenlétében az OR-1896 kiváltotta vazodilatáció ugyanakkor szignifikáns mértékben csökkent. Az ATP-függő K⁺ csatorna szelektív

gátlószere, a glibenclamid jelenlétében az OR-1896-kiváltotta vazodilatáció szignifikánsan csökkent. A nagy konduktanciájú Ca^{2+} -aktivált K^+ csatorna szelektív gátlószere, az iberiotoxin nem volt hatással az OR-1896 kiváltotta vazodilatációra, a feszültségfüggő K^+ csatorna gátló 4-aminopiridin azonban szignifikánsan csökkentette a dilatáció mértékét.

5. MEGBESZÉLÉS

A 2-es típusú diabetes mellitus (2-DM) megnövekedett kardiovaszkuláris morbiditással és mortalitással járó kór állapot. 2-DM-ban már a nagyerek atherosclerotikus elváltozásai és a mikroerek morfológiai eltérései előtt a rezisztencia erek endothel és simaizom által mediált vazomotor működése megváltozik, melynek fontos szerepet tulajdonítanak a megnövekedett kardiovaszkuláris rizikó kialakításában. Feltételezik, hogy 2-DM-ban a mikroerek vazomotor működésének zavara a lokális szöveti vérátáramlást szabályozó adaptációs folyamatainak beszűküléséhez vezet, valamint hozzájárul a perifériás érellenállás fokozódásához és következményesen kialakuló magasvérnyomás betegség kialakulásához. Azonban a mikroérrendszeri elváltozások pontos kórélettani mechanizmusai és a kialakulásukban szerepet játszó patológiai tényezők még ma sem teljesen tisztázottak. Tudományos kutatásaimban ezért célul tűztem ki, hogy tanulmányozzam a 2-DM-ban a rezisztencia erek vazomotor működésében létrejövő elváltozásokat. E cél érdekében a 2-DM két eltérő módon indukált állatkísérletes modelljében vizsgáltam az izolált vázizom arteriolák endothel-függő és simaizom által közvetített vazomotor működésének eltéréseit. Továbbá célul tűztem ki, hogy feltárjam az egyes mikroerek vazomotor működészavarában szerepet játszó lehetséges mechanizmusokat, különös tekintettel az oxidatív stressz és megváltozott prosztaglandin szintézis mikrovaszkuláris hatásaira.

5.1. 2-es típusú diabetes mellitus magas zsírtartalmú diétával előidézett állatmodellje

Kísérleteinkben elsőként 10 hetes magas zsírtartalmú diétával (HFD) idéztünk elő 2-DM-t hím Wistar patkányokban. A HFD állatok testtömege, a visceralis elhízás mértékét jellemző retroperitonealis zsírpárnák tömege, valamint az altatott állatokban meghatározott artériás középnyomás értékek magasabbnak bizonyultak a kontrollokéhoz viszonyítva. A magas zsírtartalmú diéta hatására a patkányok szérumában jelentősen emelkedett inzulin értékek mellett a vércukorszint kisebb mértékű, de szignifikáns emelkedését mértük, így a modell lehetőséget teremtett a 2-DM korai stádiumában kialakuló funkcionális mikroérelváltozások tanulmányozására. A magas zsírtartalmú diéta következtében létrejövő mikroér vazomotor működésének elváltozását HFD állatok *m.gracilis* izmából izolált arteriolákon vizsgáltuk (belső érátmérő ~ 160 μm). A 80 Hgmm-en meghatározott spontán kifejlődő aktív érátmérő és bazális értónus nagysága nem különbözött a HFD és kontroll állatok izolált mikroereiben. Továbbá nem volt különbség az izolált erek kalcium-mentes közegben mért passzív átmérőjében sem. Ebből arra következtettünk, hogy a HFD állatok izolált vázizom mikroereinek elsősorban simaizom sejtek által kialakított alaptónusa megtartott. Az endothel funkciójának vizsgálatakor azonban azt találtuk, a HFD állatokból izolált *gracilis* arteriolákban az endothel-függő vazodilatátorok, az acetilkolin és hisztamin hatására kialakuló vazodilatáció szignifikánsan kisebb volt a kontrollokéhoz viszonyítva. A simaizomsejtekre közvetlen ható vazodilatátor, a NO donor nitroprusszid-nátrium hatására kialakuló vazodilatáció mértéke nem különbözött a két csoportban. Úgy tűnik tehát, hogy a HFD állatok arterioláiban szelektíven károsodik az endothel-függő vazodilatáció, azaz endothel diszfunkció alakul ki. Ezen megfigyeléseink egybehangzanak az irodalomban leírt nagy ereken végzett vizsgálatok eredményeivel, melyekben a magas zsírtartalmú diéta hatására figyeltek meg csökkent mértékű endothel-függő vazodilatációt. A további

kísérleti protokollokban arra kerestünk választ, hogy mi állhat a HFD hatására kialakuló károsodott endothel működés hátterében. Korábban számos betegségben arról számoltak be, hogy az endothel-függő vazodilatáció csökkenésének hátterében a NO-mediált folyamatok károsodása áll. Ezért következőkben az agonista-kiváltotta érválaszokat megvizsgáltuk a NO-szintáz gátlószere jelenlétében is. Az NO-szintáz gátlása szignifikáns mértékben csökkentette mind az ACh, mind a hisztamin hatására kialakuló vazodilatáció mértékét kontroll állatokból izolált erekben, míg az a HFD állatokból izolált mikroerek érválaszait nem befolyásolta. Tehát a HFD állatok mikroereiben csökken az agonista szerek NO által közvetített dilatációja. A csökkent NO által közvetített érválaszok hátterében a NO csökkent mértékű szintézise vagy annak csökkent biológiai hozzáférhetősége állhat. Eredményeink az utóbbi hipotézist támogatják, mivel az antioxidáns Tiron alkalmazásával a HFD állatokból izolált erekben növekedett a hisztamin hatására kialakuló vazodilatáció mértéke, azaz feltehetőleg a HFD állatok izolált mikroereiben az oxidatív stressz következtében károsodik az agonista szerek által indukált, NO-közvetítette dilatáció. A HFD patkányok carotis ereiben a lucigenin chemilumineszcencia segítségével detektálható szuperoxid termelés fokozódott, amit a szabadgyökfogó Tiron a kontroll erekben mérhető szintre csökkentett. Korábbi vizsgálatok a vaszkuláris szabadgyök termelésben elsősorban a xantin-oxidáz és a NAD(P)H-oxidáz szerepét hangsúlyozták. HFD állatokból izolált arteriolákban az endothel-függő vazodilatáció fokozódott a xantin-oxidáz inhibitor allopurinol jelenlétében, míg a NAD(P)H-oxidáz inhibitor apocynin nem befolyásolta a vazodilatáció mértékét. Továbbá fokozott xantin-oxidáz immunfestődés tapasztaltunk a HFD állatok garcilis arterioláiban.

Összefoglalva elmondhatjuk tehát, hogy a 2-DM magas zsírtartalmú diétával indukált állatmodelljében a xantin-oxidáz eredetű szuperoxid termelés fokozódik, ami csökkenti a NO által közvetített endothel-függő vazodilatációt vázizom mikroerekben.

5.2. A 2-es típusú diabetes mellitus genetikai modellje

Az ún. db/db egerekben 12 hetes életkorra kialakul a jelentős testsúlygyarapodással, hiperinzulinémiával és hiperglikémiával jelentkező 2-DM. Ebben az állatmodellben már a kontrollhoz viszonyítva jóval magasabb, közel négyszeres vércukorszint emelkedés figyelhető meg, amely feltételezésünk szerint lehetővé teszi a 2-DM előrehaladottabb stádiumának tanulmányozását, melyben markánsabban és feltételezéseink szerint súlyosabb érintettséggel jelentkeznek mikrovaszkuláris és egyéb szisztémás elváltozások. 12 hetes életkorban az éber állatokban mért szisztolés vérnyomás és artériás középnyomás, valamint a számított perifériás ellenállás magasabb volt a db/db egerekben a kontrollhoz viszonyítva. A 2-DM következtében létrejövő mikroér vazomotor működés elváltozását db/db egerek *m.gracilis* izmából izolált arteriolákon tanulmányoztuk (belső érátmérő ~ 90 μm). A db/db egerekből izolált vázizom arteriolák 80 Hgmm-en mért aktív átmérője szignifikánsan kisebb volt, mint a kontroll állatok izolált ereiben mért átmérő, míg a kalciummentes közegben kialakult passzív érátmérő nem különbözött a két csoportban. Az intraluminális nyomás 20 Hgmm-ről 120 Hgmm-re történő lépcsőzetes emelése hatására a db/db egerekből izolált mikroerekben minden egyes nyomásértéknél szignifikánsan kisebb aktív érátmérő alakult ki, míg az adott nyomásértékeken Ca^{2+} -mentes közegben kialakuló passzív érátmérő nem különbözött a két csoportban. Tehát a db/db egerek izolált vázizom ereiben szignifikánsan nagyobb intraluminális nyomás-kiváltotta spontán miogén tónus alakul ki. Az endothel eltávolítása egyik csoportban sem befolyásolta a nyomás-érátmérő görbéket azt sugallva, hogy ezen kísérletes elrendezésben az izolált erek miogén tónusának kialakításában elsősorban simaizom eredetű folyamatok játszanak szerepet. Jelen kísérletes megfigyelések, valamint irodalmi adatok alapján feltételezhető, hogy a 2-DM-ban a rezisztencia erek fokozott miogén tónusa alakul ki, ami közvetlen hozzájárul a perifériás rezisztencia fokozódáshoz és következményes szisztémás vérnyomás emelkedés kialakításához. Az

arteriolák bazális tónusának szabályozásában számos dilatátor és konstriktor faktor játszik szerepet. Korábbi vizsgálatokban felvetették, hogy diabetesben a konstriktor prosztaglandinok érfali termelése fokozódik. Az egyik legismertebb konstriktor prosztaglandin a PGH_2/TXA_2 , amely számos patológias kórállapotban hozzájárul a mikroerek fokozott kontraktilitásához. Jelen kísérleteinkben azt találtuk, hogy a PGH_2/TXA_2 receptor blokkoló szignifikáns mértékben csökkentette a db/db egerek izolált mikroereinek miogén tónusát, míg a kontroll erekben nem változtatta meg a miogén tónus mértékét. Feltételezhető tehát, hogy a db/db egerek arterioláiban fokozódik az endogén konstriktor prosztaglandin, a PGH_2/TXA_2 szintézise. A prosztaglandinok arachidonsavból képződnek, termelésükért a konstitutívan expresszáldó COX-1 izoenzim, valamint a gyulladáshos, mitogén és különböző fizikai stimulusok hatására expresszáldó COX-2 izoenzim felelős. Az alacsony szintű lokális érfali gyulladáshos szerepét az utóbbi időben számos betegség, így az atherosclerosis, valamint a diabeteses érszövődmények kialakulásában is felvetették. Ezért következő lépésként megvizsgáltuk, hogy a COX izoenzimek specifikus farmakológiai gátlószerei jelenlétében hogyan változik az izolált vázizom mikroerek bazális tónusa. A COX-1 szelektív gátlása sem a kontroll, sem a db/db erekben nem befolyásolta a miogén tónus mértékét, azonban a COX-2 szelektív gátlása a db/db erekben szignifikáns mértékben csökkentette az arteriolás tónust, míg a kontroll erek nyomás-indukálta érválaszait nem befolyásolta. Funkcionális kísérleteinkkel párhuzamosan a db/db egerek aortájában Western blot segítségével fokozott mértékű COX-2 expressziót sikerült kimutatni, míg az erek COX-1 expressziója nem különbözött a 2 csoportban. Tehát kísérleti eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a simaizomsejtekben fokozódik a COX-2-eredetű konstriktor prosztaglandin, a PGH_2/TXA_2 szintézise, amely fokozott arteriolás tónus kialakulásához vezethet a db/db egerek vázizom arterioláiban.

Következőekben arra kerestünk választ, hogy mi vezethet el az érfalban fokozottan termelődő COX-2-eredetű konstriktor prosztaglandin, a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ termelődéshez. Kardiovaszkuláris megbetegedésben az érfali oxidatív stressz hatással lehet számos celluláris szabályozó mechanizmusra, melyeknek szerepe van a makro- és mikrovaszkuláris szövődmények kialakításában. Bár a H_2O_2 a szuperoxid anionnál kevésbé erős oxidáló tulajdonságú vegyület, azonban könnyen képes átdiffundálni a plazmamembránokon, és újabban számos kórállapotban felmerült vazomotor diszfunkcióban betöltött kóroki szerepe. Feltételeztük, hogy a 2-DM állatmodelljében fokozódik az érfali H_2O_2 mennyisége, aminek szerepe lehet az általunk megfigyelt megváltozott vazomotor működés kialakításában. A db/db egerek carotis ereiben a fluoreszcens módszerrel (DCHF fluoreszcencia) detektálható, kataláz-szenzitív H_2O_2 mennyisége szignifikánsan magasabb volt a kontroll erekhez viszonyítva.

További kísérleteinkben vizsgáltuk, hogy milyen közvetlen vazoaktív hatással rendelkezik a H_2O_2 . A kontroll állatokból izolált vázizom arteriolákban a H_2O_2 dózis-függő vazodilatációt okozott, azonban a db/db állatokból izolált erekben meglepő módon vazokonstriktiót figyeltünk meg. A H_2O_2 hatására kialakuló érválaszok nem változtak az endothel eltávolítása után jelezve, hogy a H_2O_2 közvetlenül a simaizom sejtekre hatva fejt ki vazoaktív hatását. Számos munkacsoport a H_2O_2 vazokonstriktor hatásának kialakításában a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ szerepét hangsúlyozza. Jelen kísérletünkben azt találtuk, hogy a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ receptor gátlása után a db/db erekben a H_2O_2 növekvő dózisa hatására vazokonstriktió helyett vazodilatáció alakult ki, míg a kontroll érválaszokat a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ receptor gátlása nem befolyásolta. Ugyanakkor a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ receptor agonista U-46619 mind a kontroll, mind a db/db egerekből izolált vázizom mikroerekben hasonló mértékű vazokonstriktiót okozott, melyet a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ receptor gátlás teljesen megszüntetett. Ebből arra következtettünk, hogy a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ receptor érzékenység nem különbözik a két csoportban, viszont a db/db erekben a fokozottan jelenlévő H_2O_2 elősegíti a konstriktor

prostaglandin, a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ szintézisét, amely a kontroll erekben megfigyelt vazodilatációs mechanizmusokon felülkerekedve vazokonstrikciónak vezet. Az endogénean termelődő H_2O_2 szint hozzájárulását a db/db állatokból izolált erek fokozott tónusának kialakításában végül azon kísérleteink igazolták, melyekben azt találtuk, hogy H_2O_2 szintet csökkentő kataláz jelenlétében a miogén tónus a kontroll értékekhez hasonló szintre csökkent.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a db/db egerek vázizom arterioláiban fokozódik H_2O_2 érfali szintje, ami elősegíti simaizomsejtekben a feltehetőleg COX-2-eredetű konstriktor prosztoglandin, a $\text{PGH}_2/\text{TXA}_2$ szintézisét, ezáltal fokozva a mikroerek nyugalmi tónusát.

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy az érfali oxidatív stressz kulcsszerepet játszik a 2-DM betegség korai és előrehaladottabb stádiumában kialakuló vazomotor diszfunkció kialakításában. Az érfali oxidatív stressz már a 2-DM korai szakaszában károsíthatja az endothel dilatátor működését, míg a simaizom által az értónus szabályozásában szerepet játszó mechanizmusok megtartottak maradhatnak.

A 2-DM előrehaladottabb stádiumában azonban az érfali oxidatív stressz már a simaizomsejtek által közvetített, a nyugalmi értónus kialakításában szerepet játszó átmérő szabályozó mechanizmusokat is károsítja, melyek végső soron a rezisztencia erek dilatátor kapacitásának beszűküléséhez és az arteriolás tónus fokozódásához vezet.

5.3. A levosimendan és az OR-1896 vazoaktív hatásai

A mikrocirkuláció és a következményesen létrejövő szisztémás hemodinamikai és keringésélettani paraméterek 2-DM megváltoznak, melyek jelentősen hozzájárulnak a szívérrendszeri morbiditás és mortalitás fokozódásához. Ezért kiemelkedően fontos az olyan terápiás megoldások kifejlesztése, amelyek a diabetes mellitusban kialakuló, a mikroereket érintő vazomotor működészavar helyreállítását tűzik ki célul.

Egy a szívelégtelenség kezelésében használatos szer, a levosimendan és annak hosszú élettartamú metabolitja, az OR-1896 kapcsán felmerült, hogy ezen szerek vazodilatátor hatással is bírnak. Korábban igazolták, hogy nagy konduktancia ereken a levosimendan bizonyos K^+ csatornák aktivációjával vaszkuláris simaizom membrán hiperpolarizációt vált ki és következményes vazodilatációt okoz. A levosimendan vazóaktív hatását csak nagy konduktancia ereken vizsgálták, és hosszú féléletidejű metabolitjának, az OR-1896-nak, egyáltalán nem voltak ismertek vazóaktív tulajdonságai. Jelen kísérletsorozatban spontán miogén tónussal rendelkező mikroereken tanulmányoztuk az anyavegyület, a levosimendan, valamint az OR-1896 mikroérműködésre gyakorolt hatását. Kísérleteinkben azt találtuk, hogy a patkány izolált gracilis arteriolákban mind a levosimendan, mind az OR-1896 dózis-függően és hasonló mértékben vazodilatációt okozott. A nem-szelektív kálium csatorna inhibitor, a TEA közel 50%-kal csökkentette az OR-1896 kiváltotta vazodilatáció mértékét jelezve, hogy az OR-1896 által kiváltott dilatáció részben kálium csatornák által mediált. Az ATP-függő kálium csatornák szelektív gátlószere, a glibenclamid jelenlétében az OR-1896 kiváltotta vazodilatáció szignifikáns mértékben csökkent, igazolva az ATP-függő kálium-csatorna OR-1896 általi aktivációjának szerepét. Ezután a nagy konduktanciájú kalcium-aktivált kálium csatornák, és a feszültségfüggő, 4-aminopiridin szenzitív kálium csatornák szerepét tanulmányoztuk a csatornák szelektív inhibitorainak segítségével. Ezen kísérletsorozatban fény derült arra, hogy a nagy konduktanciájú kalcium-aktivált kálium csatornák nem, míg a 4-aminopiridin szenzitív kálium csatornák aktivációja ugyan kis, de szignifikáns mértékben hozzájárul az OR-1896 vázizom arteriolákon megfigyelt vazodilatátor hatásának kialakításához.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy patkány vázizom erekben mind a levosimendan, mind metabolitja, az OR-1896 vazodilatátor hatással rendelkezik. Az OR-1896 vazodilatátor hatásáért elsősorban az ATP-függő kálium csatornák, és kisebb mértékben a 4-aminopiridin szenzitív kálium-csatornák aktivációja

tehető felelőssé. Kísérleteink alapján feltétezzük, hogy a levosimendan hosszú távú kedvező hemodinamikai hatásának kialakításához a szervezetben keletkező hosszú féléletidejű metabolitjának, az OR-1896-nak a vazodilatátor hatása is jelentős mértékben hozzájárul. Továbbá úgy gondoljuk, hogy bizonyos a kálium csatornák aktiválásán keresztül ható vegyületeknek, mint például a levosimendannak és OR-1896-nak jótékony hatása lehet egyes vazomotor működészavarral járó kórállapotok, mint a 2-es típusú DM kezelésében.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A 2-típusú diabetes mellitusban (2-DM) a rezisztencia erek vazomotor működése megváltozik, aminek természete és a háttérben álló pontos kórélettani mechanizmusok nem kellően ismertek. Kutatásainkban ezért célul tűztük ki, hogy a 2-DM állatkísérletes modelljeiben vizsgáljuk a rezisztencia erek endothel- és simaizom-függő vazomotor működésének elváltozásait. Továbbá vizsgáltuk az OR-1896 mikroér vazomotor működésre gyakorolt hatását, mely vegyületnek szerepe lehet 2-DM-ban megfigyelt károsodott mikroérműködés helyreállítását célzó terápiában. Kutatásaink során az alábbi új megállapításokat tettük. 1) A 2-DM magas zsírtartalmú diétával indukált állatmodelljében a xantin-oxidáz eredetű érfali szuperoxid termelés fokozódik, ami csökkenti a nitrogén-monoxid által közvetített endothel-függő vazodilatációt izolált vázizom arteriolákban. 2) A 2-DM genetikai modelljében (leptin gén receptor hiányos, ún. db/db egér) a vázizom arteriolákban fokozódik a hidrogén-peroxid érfali szintje, ami elősegíti a ciklooxygenáz-2 eredetű konstriktor prosztaglandinok termelését, ezáltal fokozza az arteriolák nyugalmi tónusát. 3) Továbbá patkány vázizom mikroerekben az OR-1896 vazodilatátor hatással rendelkezik, amiért elsősorban az ATP-függő, és kisebb mértékben a 4-aminopirdin szenzitív kálium csatornák aktivációja tehető felelőssé.

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy az érfali oxidatív stressz kulcsszerepet játszik a 2-DM betegség korai és előrehaladottabb stádiumában kialakuló vazomotor diszfunkció és következményes vaszkuláris ellenállás fokozódás kialakításában. Úgy gondoljuk, hogy az oxidatív stressz-rezisztens mechanizmusokon keresztül ható értágító szereknek, mint például a kálium csatorna aktiváló OR-1896-nak szerepe lehet a mikroerek vazomotor működészavara miatt kialakuló perifériás rezisztencia fokozódás és következményes szisztémás vérnyomás emelkedés terápiájában.

KÖZLEMÉNYEK:

Az értekezés alapjául szolgáló *in extenso* közlemények:

Erdei N, Toth A, Pasztor ET, Papp Z, Edes I, Koller A, Bagi Z. High-fat diet-induced reduction in nitric oxide-dependent arteriolar dilation in rats: role of xanthine oxidase-derived superoxide anion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(5):H2107-15. impakt faktor: 3,724

Erdei N, Bagi Z, Edes I, Kaley G, Koller A. H₂O₂ increases production of constrictor prostaglandins in smooth muscle leading to enhanced arteriolar tone in Type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 292(1):H649-56. 2007. impakt faktor: 3,724

Bagi Z, **Erdei N**, Toth A, Li W, Hintze TH, Koller A, Kaley G. Type 2 diabetic mice have increased arteriolar tone and blood pressure. Enhanced release of COX-2-derived constrictor prostaglandins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25(8):1590-5.2005. impakt faktor: 7,053

Erdei N, Papp Z, Pollesello P, Edes I, Bagi Z. The levosimendan metabolite OR-1896 elicits vasodilation by activating the K(ATP) and BK(Ca) channels in rat isolated arterioles. *Br J Pharmacol*. 2006;148(5):696-702. impakt faktor: 3,825

Bagi Z, **Erdei N**, Papp, Z, Edes I, Koller A. Up-regulation of vascular cyclooxygenase-2 in diabetes mellitus. *Pharmacol Rep*. 2006. 58 Suppl:52-6. impakt faktor: 0,764

További in extenso közlemények:

Szerafin T*, **Erdei N***, Fulop T, Pasztor ET, Edes I, Koller A, Bagi Z. Increased cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin-mediated dilation in coronary arterioles of patients with diabetes mellitus. Circ Res. 2006;99(5):e12-7. *társ elsőszerzős közlemény impakt faktor: 9,854

Fulop T, Jebelovszki E, **Erdei N**, Szerafin T, Forster T, Edes I, Koller A, Bagi Z. Adaptation of vasomotor function of human coronary arterioles to the simultaneous presence of obesity and hypertension. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007. 27(11):2348-54. impakt faktor: 6,883

Az in extenso közlemények összesített impakt faktora: 35,827

Idézhető absztraktok:

Erdei N, Bagi Z, Tóth A, Édes I, Kaley G, Koller A A szelektív COX-1 és COX-2 gátlás hatása a mikrovaszkuláris rezisztenciára 2-es típusú diabetes mellitusban. Cardiologia Hungarica, 35, A18, 2005.

Lizanecz E, **Erdei N**, Bagi Z, Édes I, Tóth A A TRPV1 szerepe az értónus szabályozásában. Cardiologia Hungarica, 35, A24, 2005.

Bagi Z, **Erdei N**, Tóth A, Édes I, Kaley G, Koller A Increased level of hydrogen peroxide enhances myogenic tone in arterioles of type 2 diabetic mice. J. Muscle Res. Cell. Motil. 26(1), 69. 2005.

Erdei N, Tóth A, Kaley G, Bagi Z, Koller 2-es típusú diabetes mellitusban a vaszkuláris hydrogen peroxide növeli a COX-2 érfali expresszióját és fokozza az arteriolák konstriktor prosztaglandin termelését. *Acta Physiol. Hung.* 2005.

Bagi Z, **Erdei N**, Papp Z, Pollesello P, Édes I A levosimendan és metabolitja, az OR-1896 vazodilatációt okoz patkány izolált arteriolákban. *Cardiologia Hungarica*, 36, A13, 2006.

Erdei N, Tóth A, Édes I, Koller Á, Bagi Z A xantin-oxidáz eredetű szuperoxid-anion csökkenti az endothel-függő arterioláris vazodilatációt magas zsírtartalmú diétán tartott patkányokban. *Cardiologia Hungarica*, 36, A17, 2006.

Szerafin T, **Erdei N**, Pásztorné Tóth E, Édes I, Koller Á, Bagi Z Bradikinin fokozott ciklooxygenáz-2-függő prosztaglandin mediálta dilatációt okoz diabéteszes betegek koronária mikroereiben. *Cardiologia Hungarica*, 36, A26, 2006.

Erdei N, Fehér A, Tóth A, Papp Z, Édes I, Koller Á, Bagi Z Az oxidative stressz szerepe az elhízás következtében kialakuló mikrovaszkuláris endothel diszfunkció kialakulásában. *Acta Physiol Hung.* 2006.

Bagi Z, **Erdei N**, Tóth A, Édes I, Koller Á Interaction between hydrogen peroxide and prostaglandin metabolism leads to microvascular dysfunction in type 2 diabetes. *J. Vasc. Res.* 43 (Suppl 1), 2006.

Erdei N, Tóth A, Pásztorné Tóth E, Papp Z, Édes I, Koller Á, Bagi Z Obesity-induced reduction in nitric oxide-dependent arteriolar dilation in rats. Role of xanthine oxidase-derived superoxide. *J. Vasc. Res.* 43 (Suppl 1), 2006.

Koller A, **Erdei N**, Tóth A, Édes I, Tóth J, Bagi Z High intraluminal pressure reduces tachyphylaxis to angiotensin II in isolated arterioles. *FASEB Journal*, 20(4), A 306, 2006.

Szerafin T, **Erdei N**, Édes I, Bagi Z Role of prostaglandin-mediated agonist-induced dilations of isolated human coronary arterioles obtained from patients with diabetes mellitus. *Eur. Surg.* 38 (Suppl 207), 2006.

Erdei N, Papp Z, Pollesello P, Édes I, Bagi Z The levosimendan metabolite OR-1896 elicits vasodilation by activating the KATP and BKCa channels in isolated arterioles of the rat. *Eur. J. Heart Failure* 5 (Suppl 1), 2006.

Erdei N, Fehér A, Beleznai T, Tóth A, Koller Á, Édes I, Bagi Z A koronária arteriolák megváltozott vasomotor működése a metabolikus szindróma állatkísérletes modelljében. *Cardiologia Hungarica*, 37, A15, 2007.

Bagi Z, **Erdei N**, Szerafin T, Edes I, Koller A. Multiple effects of diabetes mellitus on the vasomotor responses of human coronary arterioles. *FASEB JOURNAL* 21 (6): A1226-A1226 APR 2007

Koller A, **Erdei N**, Feher A, Edes I, Bagi Z. Increased soluble guanylate cyclase (sGC) activity may compensate for the high fat diet-induced reduction in NO bioavailability of rat coronary arterioles. *FASEB JOURNAL* 21 (6): A1226-A1226 APR 2007

Koller A, **Erdei N**, Edes I, Toth J, Bagi Z. High intraluminal pressure via increased release of hydrogen peroxide maintains arteriolar responsiveness to angiotensin II. *FASEB JOURNAL* 21 (6): A1248-A1248 APR 2007

Koller A., **Erdei N**, Feher A, Beleznai T, Edes I, Bagi Z. High fat diet leads to increased no sensitivity of rat coronary arterioles: role of soluble guanylate cyclase. *MICROCIRCULATION* 14: 4-5, 459. 2007

Koller A, **Erdei N**, Toth J, Bagi Z. High Intraluminal Pressure Reduces AT1 Receptor Internalization and Maintains Arteriolar Constrictions to Angiotensin II. *Circulation*, Oct 2007; 116: II_14.

Bagi Z, Fulop T, Jebelovszki E, **Erdei N**, Szerafin T, Forster T, Koller A, Edes I. Adaptation of Coronary Arteriolar Dilations to The Simultaneous Presence of Obesity and Hypertension: Role of Increased Nitric Oxide Sensitivity. *Circulation*, Oct 2007; 116: II_230.

Erdei N, Feher A, Beleznai T, Edes I, Koller A, Bagi Z. Abstract 244: Oxidative Stress via Activating Soluble Guanylate Cyclase Leads to Increased Nitric Oxide Sensitivity of Coronary Arterioles in High Fat Diet-induced Obesity. *Circulation*, Oct 2007; 116: II_28.