

Az endogén ouabain szintje összefügg a hipertóniás betegek kardiovaszkuláris állapotával

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Nagy Gábor

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar
II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrológiai Centrum

A Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel

Programvezető: Prof. Dr. Wittmann István

Témavezető: Prof. Dr. Wittmann István

Prof. Dr. Winkler Gábor

Pécs, 2012.

Tartalomjegyzék

1.	RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
2.	ÖSSZEFOGLALÁS	6
2.1.	Magyar nyelvű összefoglalás	6
2.1.1.	Bevezetés, célkitűzések.....	6
2.1.2.	Betegek és módszerek.....	8
2.1.3.	Eredmények	8
2.1.4.	Megbeszélés	10
2.2.	Angol nyelvű összefoglalás	11
2.2.1.	Introduction, aims	11
2.2.2.	Patients and methods.....	12
2.2.3.	Results.....	13
2.2.4.	Discussion	14
3.	BEVEZETÉS	16
3.1.	A Na ⁺ /K ⁺ -ATP-áz szerkezete.....	16
3.2.	FYXD proteinek.....	17
3.3.	Adducin.....	18
3.4.	Na ⁺ /K ⁺ -ATP-áz működése.....	19
3.5.	Endogén digitálisszerű anyagok	21
3.5.1.	EO termelődése	22
3.5.2.	Az EO szerepe a Na ⁺ -homeosztázisban.....	23
3.5.3.	Az EO és a szív-, valamint érrendszer kapcsolata	24
3.5.4.	Endogén digitálisok szerepe egyéb betegségekben.....	26
3.5.4.1.	Az endogén digitálisok és a diabétesz mellitusz	26
3.5.4.2.	Az endogén digitálisok és az alvási apnoe szindróma	26
3.5.5.	Az EO és az oxidatív stressz markerek kapcsolata	27
3.5.5.1.	Az orto- és meta-tirozin képződése.....	28
3.6.	Endogén digitális, mint új támadáspont az antihipertenzív terápiában..	29
3.7.	A RAS gátlás hatása az EO szintjére és a vizeletalbumin különböző formáira	29
3.7.1.	Vizelet-albuminok.....	32

3.7.2.	Az albuminuria kialakulása.....	32
3.7.3.	Vizelet-albuminok kimutatása	32
3.7.4.	A nem immunreaktív vizeletalbumin.....	33
4.	CÉLKITŰZÉSEK	34
4.1.	Kardiovaszkuláris paraméterek és az EO	34
4.2.	Orto-tirozin és az EO	34
4.3.	MONO és DUAL RAS-blokád és az EO.....	34
5.	ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	36
5.1.	Vizsgált csoportok	36
5.2.	Vizsgáló módszerek	38
6.	EREDMÉNYEK	45
6.1.	Kardiovaszkuláris paraméterek és az EO	45
6.2.	Orto-tirozin és az EO	59
6.3.	Kombinációs (DUAL) és nem kombinációs (MONO) RAS-blokád és az EO	61
7.	MEGBESZÉLÉS	67
7.1.	Az EO kapcsolata a vérnyomással, az érfali merevséggel és a diasztolés diszfunkcióval	67
7.2.	Oxidatív stressz markerek és az EO kapcsolata.....	71
7.3.	Kombinációs és nem kombinációs RAS-gátlás hatása az EO-termelésre, valamint a vizeletalbumin különböző formáira.....	72
8.	TÉZISEK	76
9.	A dolgozat alapjául szolgáló közlemények és előadások	77
10.	Irodalomjegyzék	86

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ABPM - vérnyomás-monitorizálás

ACE - angiotenzin-konvertáló-enzim

ACTH- adrenokortikotrop hormon

ADH - anti-diuretikus hormon

Aix - augmentációs index

ANP - átriális-nátriuretikus-peptid

ARB – angiotenzin-receptor-blokkoló

AT II - angiotenzin II

BMI – testtömeg-index

BNP - brain type natriuretic peptid

CHIF - corticosteroid hormon indukált factor

CRP - C-reaktív protein

DLF - digitalis like factor

DLIS - digitalis-like immunoreactive substance

E/A - a korai és a késői áramlási csúcssebesség hányadosa

ECHO - echokardiográfia

EGFR - epidermális növekedési faktor receptor

EKG - elektrokardiográf

ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay; enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálatok

EO - endogén ouabain

ERK - extracellular signal-regulated kinase

GFR - glomeruláris filtráció ráta

HbA_{1c} – Hemoglobin A_{1c}

HPLC - nagy teljesítményű folyadék kromatográfia

IMT - intima-média vastagság

IN – immun-nefelometria

IT – immun-turbidimetria

kD - kiloDalton

LVEDD - bal kamrai végdiasztolés átmérő

LVEDV - bal kamrai végszisztolés térfogat

LVEDVI - bal kamrai végszisztolés térfogat-index
LVESD - bal kamrai végszisztolés átmérő
LVESV - bal kamrai végszisztolés térfogat
LVMI - bal kamra tömeg-index
MALDI-TOF - matrix-assisted laser desorption/ionization- time-of-flight mass spectrometer
MAP - artériás középnyomás
MBG - marinobufagenin
MEK - mitogén aktivált kináz
NO - nitrogén-monoxid
OLC - ouabain like compound
OLF - ouabain like faktor
OSAS - obstructive sleep apnoe syndrome
PAGE - polyakrilamid gél elektroforézis
PKA- protein kináz A
PKC - protein kináz C
PLC - foszfolipáz C
PWV - pulzushullám terjedési sebesség
RAS - renin-angiotenzin-rendszer
RIA - radioimmuno-assay
ROS - reaktív oxigéntermékek
Src - sarcoma rövidítése, egy proto-onkogén tirozin kináz fehérje
SV - stroke volumen
TMD - transmitralis Doppler

2. ÖSSZEFOGLALÁS

2.1. Magyar nyelvű összefoglalás

2.1.1. Bevezetés, célkitűzések

Az endogén ouabain (EO) közel két évtizede ismert fiziológiai gátlója a Na^+/K^+ -ATP-áznak. A gátlás hatására nő az intracelluláris Na^+ -koncentrációja, ami aktiválja a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ cseretranszporter működését, amely végül a sejteken belüli kalciumszint növekedéséhez vezet. Ezen folyamat végeredményeként a szívizomzatban fokozott összehúzódás, az erekben vazokonstriktió jön létre. Ezen régóta ismert hatás mellett azonban felfedezték, hogy az EO Na^+/K^+ -ATP-ázhoz való kötődése számos jelátviteli út serkentése révén is képes simaizom- és fibroblasztsejteket aktiválni, amely így hozzájárul a szívizomzat és az erek átépüléséhez, a hipertónia kialakulásához. Emellett továbbra sem ismert teljesen, hogy a diabéteszben és vesebetegekben gyakran megtalálható kardiovaszkuláris eltérések hátterében milyen folyamatok játszanak szerepet és felmerült az EO lehetséges szerepe ezen eltérések kialakulásában.

A mellékvesekéregben képződő EO elválasztási ingerének az adrenokortikotrop hormon (ACTH) és az angiotenzin II (AT II) emelkedését, a szimpatikus idegrendszer aktiválódását, valamint a só-függő krónikus volumenterhelést tartják. Emellett ismeretes, hogy fizikai terhelésre mind kutyákban, mind emberben az EO szintje rövid időre, többszörösére emelkedik, amely emelkedés gátolható előzetes β -blokkoló és angiotenzin-konvertáló-enzim-gátló (ACE-gátló) adásával. Ez alapján feltételezik a szimpatikus idegrendszer és a renin-angiotenzin-rendszer (RAS) szerepét az EO-elválasztás fokozódásának létrejöttében. Az ACE-gátló-kezelés hatása, valamint az AT II-receptor blokkolásának additív hatása az EO-termelés csökkentésére eddig humán vizsgálatokból nem ismert. Az EO szintjét humán vizsgálatokban szignifikánsan magasabbnak találták kezeletlen hipertóniás betegekben és olyan normotenzív egyéneknél, akik családi anamnézisében hipertónia volt ismert. Továbbá emelkedett szintjét észlelték többek között primer hiperaldoszteronizmusban, Cushing kórban, krónikus veseelégtelenségben, pangásos szívelégtelenségben is. Kevés humán vizsgálatot találtunk azonban a különböző kezelt hipertóniás betegcsoportokban mért plazma- és vizelet-EO szintjéről és annak

komplex, kardiovaszkuláris paraméterekkel mutatott összefüggéseiről. Emellett nem találtunk humán vizsgálatból származó irodalmi adatot az EO-szintek és a korai érrendszeri elváltozások markerei (artériás stiffness markerek) között, annak ellenére, hogy a kettő közötti kapcsolatot kísérletes adatok alátámasztják.

Az EO által serkentett jelátviteli utak közül az ERK1/2 út oxidatív stressz-el való kapcsolata jól ismert, amely a vaszkuláris rendszert károsítva ateroszklerózist, magas vérnyomást eredményezhet. Mivel a hipertónia, a diabétesz és a vesebetegségek szövődményeinek progressziójában a fokozott szabadgyök-képződés szerepe jelentős, így ennek mérése különösen fontos a szövődmények kialakulása szempontjából. Az oxidatív folyamatok, különösen a hidroxil szabad gyök hatására képződő specifikus markerek (orto- és meta-tirozin) elfogadott jelzői ennek a folyamatnak. Az EO által elindított oxidatív jelátviteli utak ugyan ismertek, azonban nem található adat arra vonatkozólag, hogy az EO-termelés és az oxidatív stressz markerek között összefüggés lenne emberben is.

Célkitűzések

Vizsgálatunk célja az volt, hogy csak hipertónia, illetve hipertóniás és egyéb társbetegség (2-es típusú diabétesz mellitusz, krónikus vesebetegség) egyidejű fennállása esetén meghatározzuk az endogén ouabain szintjét mind a plazmában, mind a vizeletben, illetve megvizsgáljuk, hogy a mért EO-szintek a fent említett betegségekben gyakran észlelhető diasztolés funkció zavarral, valamint az erek rugalmasságával milyen kapcsolatot mutatnak.

Továbbá vizsgáltuk a vizeletben és plazmában mért orto-tirozin – amelyek a hidroxil szabadgyök-képződés egyik megbízható markere – és az EO kapcsolatát a fent említett állapotokban.

Egy másik vizsgálatban vizsgálni kívántuk, hogy az EO-termelés - az ACE-gátlók ismert EO- csökkentő hatása mellett - kettős RAS blokáddal (ACE-gátló + angiotenzin receptor blokkoló (ARB) szedésével) jobban csökken-e, és ennek megfelelőek-e a betegek a kardiovaszkuláris paraméterei is.

2.1.2. Betegek és módszerek

Első vizsgálatunk lebonyolításához 2007. október és 2008. március között 41 kezelt, hipertóniás, felnőtt beteget vontunk be, akik közül 10 csak hipertóniában (HT), 11 hipertóniában és 2-es típusú diabétesz mellituszban (HT+DM), 10 hipertóniában, 2-es típusú diabétesz mellituszban és vesebetegségben (HT+DM+VE), valamint 10 hipertóniában és vesebetegségben (HT+VE) szenvedett. *A betegek vérnyomása célértékre volt kezelve.*

Második vizsgálatunkban 35 ismert és gondozott (medián 2,6 év) hipertóniás, vesebeteg vett részt, akiket két csoportra osztottunk aszerint, hogy csak ACE-gátló (MONO-csoport, n=20), illetve ACE-gátló és ARB kezelésben (DUAL-csoport, n=15) is részesültek.

A plazma- és vizelet-EO meghatározását radioimmuno-assay (RIA) módszerrel végeztük Ouabain ¹²⁵I RIA kit segítségével.

A kardiovaszkuláris állapot felmérésére intima-média-vastagság, echokardiográfia, artéria karotison mért érfali merevség (e-tracking) (ALOKA SSD 500, illetve 550), illetve 24 órás vérnyomás monitorozás meghatározás történt. Emellett nagy teljesítményű folyadék kromatográfia (HPLC) segítségével határoztuk meg a vizelet- és plazma-orto-tirozin szintjét, valamint a vizelet albumintartalmát (totál albumin). Az immunreaktív albumin meghatározása rutin immun-turbidimetria segítségével történt. A pro-BNP szintjének megállapításához automatizált ElecsysTM rendszert (Roche Diagnostics), a vizelet katekolamin meghatározáshoz elektrokémiai detektorral felszerelt HPLC-t (BIO-RAD Clinical HPLC System) használtunk. A betegek vér- és vizeletmintáinak egyéb vizsgálatát (ionok, vérkép, májfunkció, gyulladásos paraméter, vizelet általános és üledék) rutin módszerekkel mértük.

2.1.3. Eredmények

Első vizsgálatunkban a legmagasabb plazma-EO-szintet ($19,7 \pm 9,5$ pmol/l) a HT+DM+VE csoportban találtuk, amely szignifikánsan nagyobb volt, mint a HT+VE csoportban. A többi csoport plazma-EO-, valamint a vizelet-EO szintje között nem találtunk szignifikáns különbséget.

A plazma-EO számos szignifikáns korrelációt mutatott, főként az éjszakai vérnyomás paraméterekkel, a kettő közötti kapcsolat feltehetően az emelkedett éjszakai/hajnali szimpatikus tónusból adódhat, mivel a vizelet-katekolamin és EO-szintek korreláltak. Az éjszakai artériás középnyomás független prediktorának a plazma-EO, a karotisz artéria β -stiffness prediktorának pedig a vizelet-EO bizonyult. Az endogén ouabain frakcionált exkréciója a vesebeteg csoportokban magasabb volt és értéke korrelációt mutatott az éjszakai artériás középnyomással, valamint a szív végszisztolés és végdiasztolés átmérőjével.

Az összes beteg adatait együtt vizsgálva szignifikáns kapcsolatot találtunk a vizelet-EO szintje és karotiszon mért pulzushullám terjedési sebesség (PWV), valamint a β -stiffness között.

Az EO frakcionált exkréciója is szoros összefüggést mutatott a karotisz PWV, valamint a β -stiffness értékével a HT+DM csoportban.

A plazma o-tyr szintje nem mutatott jelentős összefüggést az EO-plazmaszintekkel sem az összpopulációban, sem a csoportokban. Az o-tyr a vizsgált kardiovaszkuláris paraméterekkel nem mutatott összefüggést.

Második vizsgálatunkban azt találtuk, hogy a hosszan alkalmazott kettős RAS-blokád nem csökkenti jobban a plazma- és vizelet-EO szintjét, mint önmagában az ACE-gátló-kezelés. A betegek kardiovaszkuláris paraméterei néhány echokardiográfiai paraméter kivételével nem különböztek a két csoportban. A plazma-EO szintje korrelált számos éjszakai vérnyomás paraméterrel, mint a szisztolés vérnyomás vagy az artériás középnyomás a MONO-csoportban. Szintén csak a MONO-csoportban a vizelet-EO a karotiszon mért pulzushullám terjedési sebességgel és a β -stiffness értékével mutatott szignifikáns összefüggést. A DUAL-csoportban ezeket a korrelációkat nem találtuk meg.

A vizelet albuminok vizsgálata során azt találtuk, hogy a nem immunreaktív albumin szoros összefüggést mutatott a szív diasztolés diszfunkciójával, a diasztolés diurnális index-el a MONO-csoportban, ellenben a kettős RAS-gátlóval kezelt betegek között a nem immunreaktív vizeletalbumin csak a plazma-EO-val korrelált.

2.1.4. Megbeszélés

Első vizsgálatunk alapján megállapíthatjuk, hogy az EO alkalmas a kardiovaszkuláris állapot felmérésére; szintjei a társbetegségekkel rendelkező hipertóniás betegekben voltak a legmagasabbak. Szintje vizsgálatunk alapján összefüggést mutatott az éjszakai vérnyomással, valamint a szubklinikai szervkárosodásokkal kezelt hipertóniás betegekben. Így lehetséges, hogy szerepet játszik a vérnyomás diurnális ritmusának megváltozásában és az érfali merevség kialakulásában.

A plazma- és vizelet-EO szintje valószínűleg vasokonstriktor hatásának következtében fontos tényező lehet a karotisz érfali merevségnek és a rezisztencia arteriolák állapotának. A PWV és a β -stiffness pozitív korrelációt mutat az endogén digitálisok vizeletben mért szintjével, amelyek a nagyerek merevségére utalnak. A plazma-EO augmentációs index-szel mutatott inverz korrelációja emellett jól tükrözi a hipertóniás betegekben a rezisztencia arteriolák összehúzódtott állapotát. Vizsgálatunk eredményei alapján a vesefunkciónak szerepe lehet az EO szintjének szabályozásában, mivel az EO frakcionált exkréciója a vesebeteg csoportokban szignifikánsan nagyobb. Az o-tyr szintje nem mutatott összefüggést az EO-, és vérnyomás értékkel valamint a célszerv-károsodást jelző paraméterekkel. Az o-tyr szintje csak a vesefunkciós paraméterekkel mutatott korrelációt.

Második vizsgálatunk eredményei alapján a kettős RAS-gátlás nem csökkenti jobban az EO-elválasztást, mint önmagában az ACE-gátló kezelés, ellenben a kettős RAS-gátlásban részesülő betegek között az EO és a célszervkárosodások közötti összefüggések megszűntek. Bár a kettős RAS-gátlást az érfali rugalmasság megőrzése szempontjából hatékonyabbnak gondolhatnánk, mint az egyszeres gátlást, az irodalmi adatok alapján azonban a kardiovaszkuláris mortalitásban nem látható előny.

A nem immunreaktív vizeletalbumin-szint meghatározása ígéretes lehet célszervkárosodások súlyosságának meghatározásában kezelt betegek esetén is.

2.2. Angol nyelvű összefoglalás

2.2.1. Introduction, aims

For twenty years endogenous ouabain (EO) is known as a physiologic regulator of the activity of sodium/potassium pump (Na^+/K^+ ATPase) which blocking increases intracellular calcium level by the activation of the sodium-calcium exchanger.

The increased concentration of intracellular calcium causes an enhanced contraction in the heart muscle and vasoconstriction in the vascular system. Beyond the classical effects of EO, the digitalis-like factors have genomic effects inducing hypertrophy in myocardial and vascular smooth muscle cells due to the activation of numerous known intracellular signaling pathways. The background of cardiovascular damage in diabetes mellitus and chronic kidney disease are not entirely known, the role of EO in pathogenesis of this process is also suggested.

Previous studies have shown that EO is mostly produced in the adrenal cortex due to the increased level of adrenocorticotrop hormone (ACTH) and angiotensin II (AT II), and in addition to sympathetic activation and salt dependent fluid load. During physical exercise, the level of EO was increased for a short time in both human and dogs; this increase could be reduced by previously receiving beta-blockers and angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE-I). Based on this observation, the roles of sympathetic nervous system activation and renin-angiotensin system (RAS) are suggested in the development of enhanced EO secretion. The additive effect of AT II inhibitor added to the ACE inhibitor therapy (dual RAS blockade) in context to the reduction of EO secretion is not known in human. Level of EO was significantly increased in untreated patients with hypertension and normotensive offspring of hypertensive patients. The level of EO was also raised in patients with primary hyperaldosteronism, Cushing disease, chronic renal failure, congestive heart failure compared to the controls. There is little information about correlation between the levels of plasma, urinary EO and the parameters of a complex cardiovascular examination in treated human hypertensives with comorbidities (diabetes mellitus, chronic kidney disease). Besides this, we have not found literature data about

relations between levels of EO and markers of early vascular damage (arterial stiffness) nevertheless these relations are underlined by experimental data.

Endogenous ouabain enhances some intracellular signaling pathways, especially ERK 1/2 pathway, which closely associates with oxidative stress. This process may damage the vasculature, which produces atherosclerosis and high blood pressure. In the progression of worsen outcome of hypertension, diabetes mellitus and renal disease have a major role of the enhanced production of free radical, so that the measurement of this marker is important in the detection of complications of these diseases. Oxidative marker, especially the production of hydroxyl free radical modified amino acid (ortho-tyrosine) is high-quality marker of this process. The EO stimulated oxidative intracellular pathways are known, however there are no informations about the correlation between the EO secretion and oxidative markers in human.

Aims

Aims of the study were to measure the concentration of plasma and urinary EO in only hypertensive patients and hypertensives with other diseases (type 2 diabetes mellitus, chronic renal disease). As well as we studied correlation of the measured EO levels and diastolic dysfunction of the patients' heart, and arterial rigidity, which often correlate with these conditions.

We also studied the relations between the concentrations of plasma, urinary ortho-tyrosine -which are relevant markers of production of hydroxyl free radicals- and EO levels.

In another study we hypothesized that EO production is reduced if the patients are treated with dual (ACE-I and AT II inhibitor) RAS blockade compared with mono RAS blockade (only ACE inhibitor, which has proved reducing effect on the EO production), and we examined their relating effect on the patients' cardiovascular parameters.

2.2.2. Patients and methods

In our first cross-sectional clinical study 41 adult hypertensive patients with well treated blood pressure were investigated, who were divided into 4 groups: (1) group of primary hypertensive, non-diabetic patients without chronic kidney disease (HT,

N=10); (2) group of hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus (HT+DM, N=11); (3) group of hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus and chronic kidney disease (HT+DM+CKD, N=10); (4) group of hypertensive patients with chronic kidney disease (HT+CKD, N=10).

In another cross-sectional clinical study 35 adult, hypertensive patients with mild and moderate renal failure were investigated. Retrospectively, these patients received either mono- or dual blockade of the RAS. In the MONO-group (i) patients were treated with ACE inhibitor, (N=20); (ii) in the DUAL-group patients were treated with ACE inhibitor plus ARB, (N=15) for more than 2 years (median 2.6 years).

Plasma and urinary EO levels were determined by radioimmunoassay (RIA) Ouabain ¹²⁵I RIA kit. For assessment of the patients' cardiovascular status we measured intima-media thickness, 24-h ambulatory blood pressure monitoring and echocardiography and carotid artery rigidity by ALOKA SSD 500 and 550.

Urinary, plasma ortho-tyrosine, as well as total urinary albumin were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The immuno-unreactive albumin content of urine samples were assessed by routine immunturbidimetry. Serum pro-BNP levels were measured on fully automatized (ElecsysTM 2010) system (Roche Diagnostics). Levels of catecholamines (epinephrine, norepinephrine and dopamine) were measured by BIO-RAD Clinical HPLC System. The other parameters of the urine and blood (electrolyt, blood counts, liver enzymes, lipids, and inflammation markers) were measured by routine laboratory methods.

2.2.3. Results

In our first study the highest level of plasma endogenous ouabain (19.7 ± 9.5 pmol/L) was measured in hypertensive patients with diabetes mellitus and chronic kidney disease, which was significantly higher than in HT+CKD group. The level of urinary EO did not show significant difference between the groups. Plasma level of EO showed several significant correlations mainly with parameters of the nighttime blood pressure. Relationship between these parameters may due to the increased nighttime/morning sympathetic tone because the levels of urinary catecholamines correlated with EO. The nighttime mean arterial blood pressure independently correlated with the level of plasma endogenous ouabain, while independent predictor of the β -stiffness of carotid artery was the urinary endogenous ouabain.

Fractional excretion of EO was higher in HT+DM+CKD and HT+CKD groups than other groups, and grade of fractional excretion showed significant correlation with nighttime mean arterial blood pressure as well as the end-systolic and diastolic diameters of the heart. Levels of urinary EO significantly associated with pulse wave velocity and β -stiffness of carotid artery in the whole population. The fractional excretion of EO also showed close relations with pulse wave velocity and β -stiffness of carotid artery in the HT+DM group.

We have not found correlations between plasma o-tyr and markers of cardiovascular disease in the whole population or in the groups. Levels of o-tyr did not show any correlations with levels of EO. Level of o-tyr correlated with the markers of renal function only.

In our second study we have found that the long-term dual RAS blockade did not reduce more the levels of urinary and plasma EO, compared to the mono RAS blockade. In the cardiovascular parameters the two groups were not different, excepting of some echocardiographic parameters. The plasma level of EO correlated with some nighttime blood pressure values, as systolic, diastolic and mean arterial blood pressures in the MONO-group. Also, the urinary EO level associated with pulse wave velocity and β -stiffness of carotid artery in the MONO-group. In the DUAL-group, these correlations were not found.

Regarding the urinary albumins we have explored that the immuno-unreactive urinary albumin correlated with diastolic dysfunction marker of the heart, diurnal index of diastolic blood pressure in the MONO-group; however the immuno-unreactive albumin correlated with only the level of plasma EO in the DUAL-group.

2.2.4. Discussion

Based on the results of our first study we concluded that measurements of EO levels are suitable to assess the cardiovascular status of hypertensives. Levels of these substances were higher in the group of hypertensive patients with comorbidities. According to our results the elevated level of endogenous ouabain associated with nighttime blood pressure and subclinical organ damages in treated

hypertensive patients, suggesting possible role of endogenous ouabain in the pathogenesis of impaired diurnal rhythm of blood pressure and arterial stiffness.

The levels of plasma and urinary EO may be important markers of the stiffness of carotid artery and state of resistant arteriola, perhaps due to their vasoconstrictor effect. PWV and β -stiffness of carotid artery showed positive correlations with level of urinary EO, what may refer to the rigidities of the large vessels. The inverse correlation between plasma EO and augmentation index of artery strongly represent the vasoconstriction of resistant artery of hypertensive patients. According to our results, renal function has a role in regulation of EO levels, because of the fractional excretion of EO were significantly higher in patients with chronic renal disease. The level of o-tyr did not show correlations with EO levels as well as parameters of cardiovascular damage.

Summarizing our results in the second study, the dual RAS blockade did not decrease the EO secretion compared to mono RAS blockade. However, in the patients with dual RAS blockade the correlations between EO and markers of end-organ damages are missed. One may suppose, that dual RAS blockade is more effective, than mono blockade to preserve lower stiffness of arteries, but according to the literature dual RAS blockade compared to the mono blockade does not decrease the risk of cardiovascular mortality. Measurement of immuno-unreactive urinary albumin may be appropriate to recognize the severity of end-organ damages in treated hypertensive patients.

3. BEVEZETÉS

A digitális hatása már több mint két évszázada ismert a szívelégtelenség kezelésében, ám a digitálisok pontos hatásmechanizmusát csak utóbbi évtizedekben térképezték fel. A digitálisokat kezdetben a szív pumpafunkciójának javítására, majd különböző szívritmuszavarok kezelésére használták.^{1,2}

Szent-Györgyi Albert már 1953-ban feltételezte, hogy a digitális, mint gyógyszer valójában egy olyan endogén anyagnak az analógja, amelynek szerepe a miokardium kontraktilitásának szabályozása.³ Az 1957-ben felfedezett „Na⁺-K⁺-pumpa” (Na⁺/K⁺-ATP-áz), és annak az 1960-as évektől egyre ismertebbé váló működése fordította a digitálisok hatásának részletesebb vizsgálata felé a kutatók figyelmét.⁴

Az 1970-es években merült fel először, hogy a só-függő hipertónia és a volumen-túlterhelődéses állapotokban feltehetőleg egy, a Na⁺/K⁺-ATP-áz működését befolyásoló faktor játszik szerepet, amelynek fő hatáshelye a vese.^{5,6} Az 1990-es években először humán plazmából, majd egyéb szövetekből is kimutattak egy a ouabain-nal (növényi szteroid) nagymértékben egyező anyagot, amelynek Na⁺/K⁺-ATP-áz gátló hatása van, és amelynek kémiai szerkezete nagy hasonlóságot mutat a már régóta használt digitálisszal.⁷

A direkt kapcsolat a fokozott sóbevitel és a hipertónia későbbi kialakulása között évekig tisztázatlan volt. A Na⁺/K⁺-ATP-áz, valamint a hozzá kötődő endogén ligandok - digitálisszerű anyagok - felfedezésével azonban közelebb kerültünk ezen kapcsolat jellegének pontosabb megismeréséhez.

3.1. A Na⁺/K⁺-ATP-áz szerkezete

A Na⁺/K⁺-ATP-áz egy „P típusú” ATP-áz családba tartozó membránprotein,^{8,9} amelynek szerepe a legtöbb élő sejt számára elengedhetetlen, mivel a sejt számára fontos iongrádiens hoz létre az intra- és extracelluláris tér között. Ezen iongrádiens járul hozzá az akciós potenciált követő nyugalmi membránpotenciál visszaállításához, így szerepe az izom és idegi működésekben nélkülözhetetlen.

A Na^+/K^+ -ATP-áz 2 fő alegysége:

- Az alfa (α) un. „katalitikus” alegység (átlagos molekulatömege 112 kD), amelynek extracelluláris oldalán a Na^+ - és digoxin-kötő hely, míg intracelluláris oldalán a K^+ - és az ATP-kötő hely található. Az α alegység 10 transzmembrán domént tartalmaz.
Az α alegységnek 4 izoformája ismert, és a különböző izoformák különféle szövetekben expresszálódnak.
 - $\alpha 1$ – minden sejt (ide tartozik a vese epithelsejtek)
 - $\alpha 2$ – harántcsíkolt izom, szívizom, idegsejtek, zsírsejt, simaizom stb.
 - $\alpha 3$ – neuronok és ovariális sejtek
 - $\alpha 4$ – spermatogonia állapotba lévő sejtek
- A béta (β) alegység (molekulatömege 31,5 kD) glikoprotein természetű, amely egy glikozilációs helyet tartalmaz, mely befolyásolja a működését. A β -alegység egy transzmembrán domént tartalmaz és 3 izoformája ismert jelenleg.
 - $\beta 1$ – minden sejtben expresszálódik
 - $\beta 2$ – idegsejtek, porcsejtek, vörösvértestek, szívizomsejtek
 - $\beta 3$ – idegsejtek, porcsejtek, vörösvértestek, tüdő.^{10,11}

A β -alegységek az alfához hasonlóan szintén szövet-specifikusan expresszálódnak.

Az α és β izoformák többféleképpen kapcsolódhatnak, amelyek feltehetőleg befolyásolják a különféle digitáliszerű anyagokhoz való kapcsolódásuk érzékenységét. A leggyakoribb komplex az $\alpha 1\beta 1$, amely a legtöbb sejtmembránban megtalálható. A Na^+/K^+ -ATP-áz génjei (α és β) és strukturális felépítése a legtöbb fajban hasonló, az evolúció során konzerválódott.

3.2. FXYD proteinek

Az $\alpha\beta$ komplexhez néha egy harmadik alegység kapcsolódik, amelyeket összefoglaló néven FXYD protein csoportnak hívnak. Az FXYD proteinek fő feladata a Na^+/K^+ -ATP-áz működésének befolyásolása, feltehetően azáltal, hogy hatást gyakorol annak Na^+ és K^+ affinitására. A proteincsaládnak 7 tagja ismert, amelyek az α és β alegységekhez hasonlóan szövet-specifikus expressziót mutatnak.¹²

A kardiális funkcióhoz legjobban kötött FXYD protein, az FXYD 1 (vagy másnéven phospholemman), amely a szív és a harántcsikolt izomzatban expresszálódik. Az FXYD 1 képes a Na^+/K^+ -ATP-ázot kötni és növeli annak Na^+ és K^+ affinitását, emellett azonban képes a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ cseretranszporterhez is kötődve gátolni annak működését. Az azonban továbbra is kérdéses, hogy mi indítja el (foszforiláció, hormonális hatások) és mi szabályozza ezen protein Na^+/K^+ -ATP-áz, vagy $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ cseretranszporterhez való kötődését.¹³

A Na^+ -transzportban résztvevő FXYD proteinek közül a legismertebb az FXYD 2 (gamma (γ) alegység), amelynek legfőbb előfordulási helye a vese tubulusrendszerében (főként a medulláris vastag felszálló tubulus) és az FXYD 4 (corticosteroid hormon indukált factor – CHIF), amelynek fő előfordulási helye a vese gyűjtőcsatornáin.^{14,15} Az FXYD 2 valószínűleg erősen befolyásolja a Na^+ -transzportot, mivel a tubulusrendszernek azon a részén helyezkedik el, ahol a Na^+ 40%-a reabszorbeálódik. Az FXYD 2 kapcsolódása a Na^+/K^+ -ATP-ázhoz csökkenti annak Na^+ és K^+ -affinitását. Az FXYD 4 kapcsolódása ellenben a Na^+ affinitását fokozza a Na^+/K^+ -ATP-ázhoz.¹⁶ A FXYD 3,5,6,7 szerepe azonban továbbra sem tisztázott.

3.3. Adducin

A Na^+/K^+ -ATP-áz működését ismereteink szerint bizonyos citoskeletális proteinek - kitüntetetten ezek közül az adducin-protein-csoport - is befolyásolják. Az adducin-fehérjéknek számos sejtfunkcióba (pl. adhézión folyamatok) szerepük van, amelyeket a protein kináz A és C (PKA, PKC) általi foszforiláció is befolyásol.¹⁷ Az adducineknek 3 formája ismert (alfa, béta, gamma). Az adducin alfa alegységének mutációja, a renális tubuláris sejtekben megtalálható Na^+/K^+ -ATP-áz aktivitását fokozza, ennek következtében létrejövő fokozott Na^+ -reabszorpció hosszú távon hipertóniát okoz.¹⁸ Bizonyított, hogy az adducin polymorfizmusa összefüggést mutat a plazma-EO szintjével és a hipertónia mértékével.¹⁹

3.4. Na⁺/K⁺-ATP-áz működése

A Na⁺/K⁺-ATP-áz minden eukaryota sejtben megtalálható, erősen konzerválódott aktív transzportra képes transzmembrán fehérje. Az ATP hidrolízise során nyert energia segítségével Na⁺ ionokat pumpál az extracelluláris, és K⁺ ionokat az intracelluláris térbe. A folyamat energiaigénye nagy, amely az alábbi módon történik. Az α -alegység Na⁺ és Mg²⁺ jelenlétében ATP által foszforilált. Ez a foszforilált állapot lehetővé teszi 3 Na⁺ megkötődését. A foszforilált, un. magas energiaszintű állapota a Na⁺/K⁺-ATP-áznak a Na⁺-kötődés után egy alacsonyabb energiaszintű állapotba jut, amelyet a fehérje konformációváltozása kísér. Ezen konformációváltozás segítségével a Na⁺ az extracelluláris térbe jut. A Na⁺/K⁺-ATP-áz ekkor 2 K⁺ megkötésére képes, majd defoszforilálódik, amelynek hatására ismét konformációváltozást szenved, így a K⁺ az intracelluláris térbe jut. Az ATP általi foszforilálódást követően a Na⁺/K⁺-pumpa ismét Na⁺ megkötésére képes, így a folyamat kezdődik előlről.

A digitálisok alkalmazásakor ez a cseremechanizmus blokkolódik és az intracelluláris térben nátrium-ionok szaporodnak fel. A megnövekedett intracelluláris Na⁺-koncentráció azonban beindítja a Na⁺/Ca²⁺ cseretranszporter működését, amely a Na⁺ kipumpálása mellett megnöveli az intracelluláris kalcium szintjét. Az intracelluláris kalciumszint emelkedés olyan ismert hatásokat hoz létre, mint a simaizom és szívizom összehúzódása, ami fokozott vaszkuláris ellenállást és szívizom kontraktilitást eredményez.

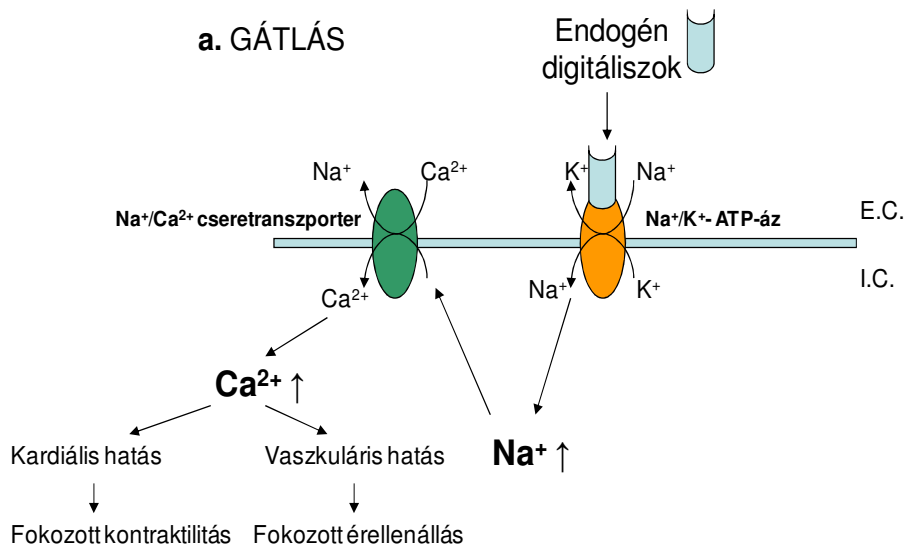
Ismertes, hogy a Na⁺/K⁺-ATP-ázhoz szorosan kapcsolódik az ún. Src elnevezésű, membránhoz kötött tirozin kináz²⁰, amely szerepet játszik digitálisszerű anyagok Na⁺/K⁺-ATP-ázhoz való kötődése után az intracelluláris jelátviteli folyamatok elindításában. A Na⁺/K⁺-ATP-áz valamint a hozzá kapcsolódó Src fehérje szoros együttműködését számos vizsgálat bizonyította.^{21,22} A Na⁺/K⁺-ATP-áz szerepét a különböző sejtek (mitogén indukált) differenciálódásában és proliferációjában már a 1970-es évektől kezdve tanulmányozzák.^{23,24}

Mostanra számos sejtfeleségen mutatták ki a digitálisszerű anyagok - Na⁺/K⁺-ATP-áz közvetített - hatását a sejtek differenciálódására, apoptózisára, valamint hypertrophikus/proliferatív hatásuk is ismert.^{25,26,27,28,29} A Na⁺/K⁺-ATP-áz-Src komplex legjelentősebb hatását az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR)

közvetítésével fejt ki.³⁰ Az így serkentett jelátviteli utak többek között az foszfolipáz C (PLC)→proteinkináz C (PKC) útvonal, a MEK (mitogén aktivált kináz)→ERK 1/2 (extracellular signal-regulated kinase) útvonal és a reaktív oxigéntermékek (ROS) közvetítésével létrejövő jelátviteli út.

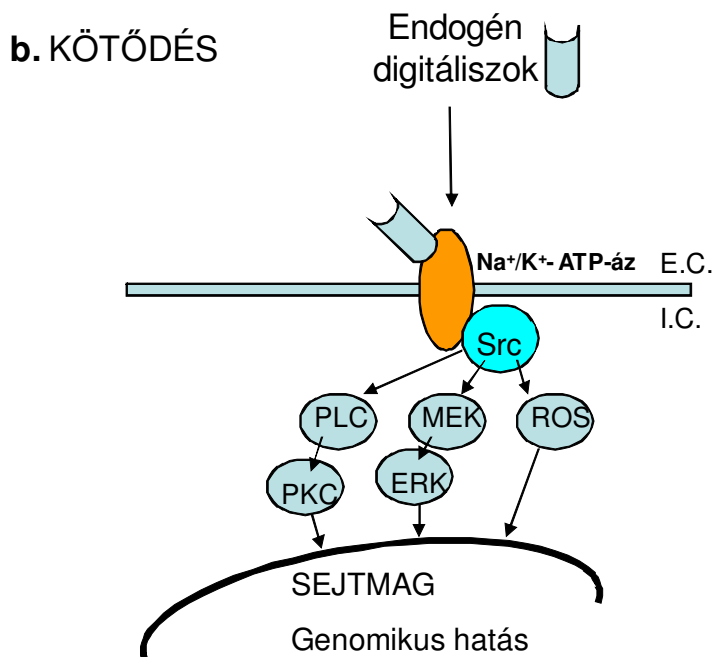
Az endogén digitálisok jelátviteli folyamatokra történő hatását már nano- illetve subnano- molaris mennyiségben is kifejtik, ezen koncentráció viszont nem elegendő ahhoz, hogy a Na^+/K^+ -pumpán gátló hatást is létrehozzon.³¹

Az endogén digitálisszerű anyagok Na^+/K^+ -ATP-áz gátló hatásának következményeit az 1/a. ábra, valamint a receptorhoz való kötődését követően beindított jelátviteli utakat az 1/b. ábra foglalja össze.



1/a. ábra Az endogén digitálisok Na^+/K^+ -ATP-ázhoz való kapcsolódásának következményei - gátló hatás

Rövidítések magyarázatát lásd a szövegben. Bagrov AY és társa által készített ábra adaptált és módosított változata (Pharmacol. Rev. 61:9-38, 2009)



1/b. ábra Az endogén digitálisok Na^+/K^+ -ATP-ázhoz való kapcsolódásának következményei – kötődés okozta hatás

Rövidítések magyarázatát lásd a szövegben. Bagrov AY és társa által készített ábra adaptált és módosított változata (*Pharmacol. Rev.* 61:9-38, 2009)

3.5. Endogén digitálisszerű anyagok

Már az 1960-as években nyilvánvalóvá vált, hogy a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszeren, az anti-diuretikus hormonon (ADH), valamint a szimpatikus idegrendszeri hatásokon kívül létezik egy tényező („third factor”), amely a volumen-túlterheléskor észlelt elváltozásokat magyarázhatja.³² Fontos volt az a felismerés, hogy volumen-túlterhelés hatására keletkezik egy olyan anyag, amely gátolja a vesében a Na^+/K^+ -ATP-áz működését.⁵ Bricker és kollégái feltételezték, hogy egy keringő Na^+/K^+ -ATP-áz gátló okozza ezen eltéréseket.³³ Az 1980-as években kutyákon végzett folyadék-túlterheléses kísérletben emelkedett értékűnek találták az akkor még digitalis-like immunoreactive substance néven ismert anyag koncentrációját.³⁴ Az igazi áttörést Hamlyn és munkatársainak felfedezése hozta, akik 1991-ben izoláltak emberi plazmából egy Na^+/K^+ -ATP-áz inhibitor, amelynek mennyisége szoros összefüggést mutatott a vérnyomás értékével hipertóniás egyéneknél.

Mivel a talált anyag kémiai szerkezete nagy hasonlóságot mutatott az ouabain-nal,

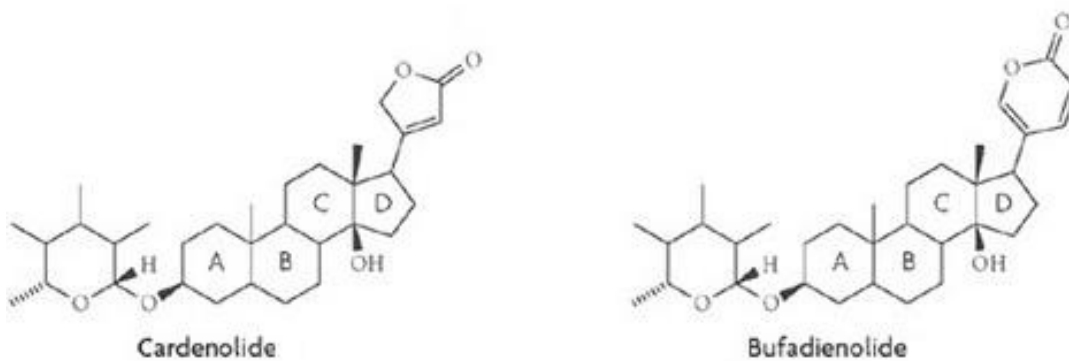
később ezen anyag endogén ouabain (EO) néven vált ismertté.³⁵ Ezzel a felfedezéssel kezdődött meg az endogén digitálisszerű anyagok részletes feltérképezése.

Kezdetben számos elnevezés található az irodalomban, ezek voltak a ouabain-like factor, (OLF), ouabain-like compound (OLC), digitalis-like factor (DLF), digitalis-like immunoreactive substance (DLIS). Ezen vegyületcsoport részletes vizsgálata után kiderült, hogy egy szteránvázis vegyületről van szó, amelyhez egy öt- vagy hattagú laktongyűrű kapcsolódik.

Jelen álláspont szerint az endogén digitálisszerű anyagokat két fő csoportra oszthatjuk kémiai szerkezetük alapján:³⁶

1. CARDENOLIDE csoport (szteránváz + telítetlen öttagú laktongyűrű), fő képviselője az endogén ouabain
2. BUFADIENOLIDE csoport (szteránváz + telítetlen hattagú laktongyűrű), fő képviselője a marinobufagenin (MBG)

A két csoport kémiai szerkezetét a 2. ábra mutatja.



2. ábra Az endogén digitális, cardenolide és bufadienolide szerkezetű kémiai anyagok képlete

3.5.1. EO termelődése

Az endogén ouabain termelődésének fő helye a mellékvesekéreg³⁷, valamint állatkísérletekben, kis mennyiségben, a hipotalamuszban tudták kimutatni.³⁸ A mellékvesekéregben való termelődését alátámasztja az a tény, hogy sikerült kimutatni számos patkányban, szarvasmarhában, sőt emberben is. Továbbá ismert, hogy a mellékvesekéreg kiirtása után a patkányok EO szintje leesik és az egyéb helyen történő termelődése ezt nem tudja ellensúlyozni.³⁹

Az EO-képződés stimulálható adrenokortikotrop hormonnal (ACTH), angiotenzin II (AT II), vazopresszin és fenilefrin adásával in vitro.^{40,41} A fizikai aktivitás EO-termelésben kifejtett hatása kutyában és emberben is ismert, amelynek során az EO szintje az alapérték 30-szorosára növekszik, amely emelkedés rövid idő alatt (5 perc) csökken.⁴² A terheléskor fellépő EO emelkedés feltehetőleg a szimpatikus hatással együtt, illetve azt erősítve fokozza a szív-összehúzódások erejét.

Az endogén digitálisok termelésének stimulálásában résztvevő fenti tényezők szerepét bizonyítja az is, hogy az EO és MBG elválasztása gátolható béta-blokkolóval, angiotenzin- konvertáló-enzim (ACE)-gátlóval és Digi-Bind-el (digoxin ellenes antitesttel).⁴³

Az aldosteron, illetve a renin-angiotenzin-rendszer (RAS) szerepét alátámasztja, az is, hogy primer hyperaldosteronizmusban szenvedők plazma-EO-szintje többszöröse a kontroll csoporthoz viszonyítva.⁴⁴

Az EO-termelés esetleges cirkadián ritmusa alig ismert, annyit azonban tudunk, hogy a termelés (ürítés) az emberekben nem konstans, mivel egészséges egyéneknél kisebb éjszakai endogén digitális-ürülést találtak.⁴⁵

3.5.2. Az EO szerepe a Na⁺-homeosztázisban

A vese epitelsejtei zömében csak az $\alpha 1$ típusú Na⁺/K⁺-ATP-áz expresszálják, amely segíti a transzepteliális Na⁺-reabszorpciót.⁴⁶ A kezdeti feltételezések szerint ennek a Na⁺-pumpának a befolyásolása révén az EO nátriurezist okoz. Később viszont beigazolódott, hogy az EO nem tekinthető egyszerűen nátriuretikus hormonnak, mivel nem fokozza a Na⁺ exkrécióját, azonban szerepe van a Na⁺-bevitel és Na⁺-megvonáshoz történő adaptációban.⁴⁷

Néhány tanulmány ugyan kimutatta, hogy a Na⁺-bevitel stimulálja az EO-elválasztást patkányban^{48,49} azonban számos kutya és humán vizsgálat ezt nem tudta megerősíteni.^{50,51}

Tizenhárom egészséges férfin végzett felmérés szerint a magas só-bevitelű diéta 13-szorosra emelte az EO szintjét a 3. napra, és akut és krónikus vízhajtó (hydrochlorothiazid) hatására is emelkedett a szintje. Ezek alapján feltételezik, hogy mint a negatív, mind a pozitív irányú Na⁺-egyensúly-eltolódás EO-termelést

produkál, így a Na^+ -egyensúly alapján leírt EO-termelés görbéje **J** alakot mutat. Egy felmérés szerint egészséges emberekben az EO frakcionált exkréciója kb. 2%.⁵²

Egy kezeletlen hipertóniások körében végzett vizsgálatban a 2 hetes Na^+ -gazdag diéta alkalmazása nem változtatta, ellenben a 2 hetes Na^+ -szegény diéta emelte a plazma-EO szintjét.⁵³

3.5.3. Az EO és a szív-, valamint érrendszer kapcsolata

Az EO emelkedett szintje direkt és indirekt (marinobufagenin által közvetített) módon képes vazokonstriktiót (magas vérnyomást) okozni, úgy, hogy a Na^+/K^+ -ATP-áz gátlásán keresztül következményesen aktiválja a sejtmembrán nátrium-kalcium-cseretranszportert, amely így intracelluláris kalcium-szint-emelkedést eredményez.

Az EO Na^+/K^+ -ATP-áz által közvetített hatása nem mindenhol azonos, mivel a különböző Na^+/K^+ -ATP-áz izoformák különböző módon reagálnak az EO-ra.⁵⁴

Állatkísérletes körülmények között az alacsony dózisu ouabain megemeli a patkányok artériás vérnyomását.⁵⁵ Emellett humán vizsgálatok igazolták, hogy az emelkedett EO-szint jól korrelál a szisztolés és a diasztolés vérnyomással kezeletlen hipertóniás betegek körében, és számos pozitív kapcsolat mutatkozott az EO-szint és a bal kamra tömeg-index (LVMI), a bal kamrai végdiasztolés térfogat, valamint a szív bal kamrai-diszfunkció mértéke között.^{56,57} Hipertóniás szülők fiatal gyermekeiben magasabb EO-szintet mértek és az EO-szintje korrelált a szív diasztolés funkciójának csökkenésével.⁵⁸

Ismert, hogy egészséges önkéntesekben, a terápiás mennyiségben, orálisan adagolt digitálisz csökkenti az éjszakai diasztolés vérnyomást. A digitálisz-terápia szívelégtelenségben szenvedő páciensek esetén az éjszakai diasztolés vérnyomást csökkentette, ellenben a szisztolést növelte. Nem találtak összefüggést a digitálisz-kezelés és a nappali vérnyomás szintje között, ami az sugallja, hogy a napközbeni szimpatikus idegrendszeri hatás „felülírja” a digitáliszok vérnyomásra kifejtett hatását.^{59,60,61}

A krónikus szívelégtelenség hátterében folyadék-retenció, volumen-expanzió áll, így már az 1980-es években feltételezték, hogy az endogén digitáliszoknak szerepe lehet

az ilyen állapotokban látható miokardiális hipertrófia kifejlődésében.⁶² Az elképzelést bizonyítja, hogy szívelégtelen patkányok esetén emelkedett endogén digitálisz-szintet mértek.⁶³ A kapcsolat szorosságát mutatja, hogy krónikus szívelégtelenségben szenvedő betegekben a szívelégtelenség súlyosságával együtt emelkedettebb EO-szintet találtak.⁶⁴

Az EO magasabb szintjét találták idiopátiás dilatatív kardiomiopátiás betegekben.⁶⁵ Emellett dializált betegekben összefüggést mutattak ki az EO-szintje és a kardiális szövödmények (bal kamra tömege és a kamrai hipertrófia mértéke) között; a dialízis-kezelés azonban nem változtatta meg a plazma-EO szintjét.⁶⁶ Feltételezik ezek alapján, hogy vesebetegekben az EO-nak szerepe lehet a bal kamra hipertrófia és a hipertónia kialakulásában. Ismert, hogy részlegesen nefrektomizált patkányban a MBG-szintje emelkedett és összefüggést mutat a diasztolés diszfunkció és kamrai hipertófia mértékével. A kardiális átalakulás hátterében a Na^+/K^+ -ATP-áz-Src-EGFR-ERK jelátviteli kaszkád játszik szerepet.^{67,68}

Az EO iongrádiens befolyásoló hatása mellett a digitálisszerű anyagoknak a sejtmagra kifejtett hatása is ismert, amely következményesen hipertrófiát indukál mind a szívizomban, mind az erek simaizomzatában azáltal, hogy számos, az előzőekben ismertetett intracelluláris jelátviteli utat serkent.^{69,70,71}

A digitálisszerű anyagok emellett a fibroblasztok serkentése révén kollagén túltermelődést és fibrózist indukálnak patkányokban, amely fontos tényező a kardiomiopátiák kialakulásában.⁷² Egy humán vizsgálat során a magasabb EO-szinthez magasabb perifériás vaszkuláris rezisztencia is társult,⁷³ így merül fel a kérdés, hogy szerepet játszik-e az EO az érfali merevség kialakulásában, amely erős és független prediktora a korai ateroszklerózisnak, a szubklinikus szervkárosodásnak és a kardiovaszkuláris betegségeknek.

Az EO mennyiségének és az érfali rugalmasság csökkenésének kapcsolata humán vizsgálatokban ezidáig nem ismert.

3.5.4. Endogén digitálisok szerepe egyéb betegségekben

3.5.4.1. Az endogén digitálisok és a diabétesz mellitusz

Mivel a magasvérnyomás a klinikumban gyakran társul 2-es típusú diabétesz mellitusszal is, az 1990-es években komolyan felmerült az endogén digitálisok szerepe, mint kapocs a két betegség között.⁷⁴

Számos állatkísérlet és humán vizsgálat igazolta, hogy az endogén digitálisok mennyisége emelkedett diabétesz mellituszban,^{75,76} azonban a pontos mechanizmus azóta sem ismert. Az endogén digitálisok lehetséges szerepét abban látták, hogy a vese inzulinfüggő Na⁺- csatornáinak a működése diabéteszben megváltozik, így volumen-túlterhelést okoz, amely az endogén digitálisok termelésének fokozásán keresztül magas vérnyomást indukál.⁷⁷

Orális glükóz tolerancia teszt alkalmazásával is emelkedett endogén digitális szintet mértek, továbbá ismert, hogy az endogén digitálisok fokozzák a glikogén szintézisét harántcsíkolt izomban a már korábbról ismert Src-ERK 1/2 jelátviteli út serkentésén át.^{78,79}

3.5.4.2. Az endogén digitálisok és az alvási apnoe szindróma

Az alvási apnoe szindróma (OSAS- obstructive sleep apnoe syndrome) és a metabolikus szindróma/magas vérnyomás kapcsolata már évtizedek óta ismert, azonban a kialakulás patomechanizmusa sokáig ismeretlen volt. Jelen álláspont szerint az alvás közben gyakran kialakuló átmeneti (felső légúti elzáródásból adódó) apnoék egyrészt a vér széndioxid parciális nyomásának (PaCO₂) emelkedését, megváltozott intratorakális nyomást, a jobb szívfél túlterhelését, volumen túlterhelést eredményez, másrészt mindezekre a szervezet szimpatikus tónusfokozódással reagál, amely összességében emelkedett vérnyomást okoz.⁸⁰ Az OSAS-ban szenvedő betegek a fent említettek miatt éjszaka gyakrabban ébrednek fel, éjszakai szimpatikus tónusuk így nem csökken, éjszakai vérnyomásuk emelkedik. OSAS-ban szenvedő hipertóniás betegek körében az endogén digitálisok mennyisége emelkedik; valamint az OSAS súlyossága és az endogén digitálisok mennyisége, a betegek

diasztolés vérnyomása és inzulinszintje között szignifikáns pozitív korrelációt mutattak ki.⁸¹

3.5.5. Az EO és az oxidatív stressz markerek kapcsolata

Oxidatív stressz akkor jön létre, ha a szabadgyökök és az antioxidáns hatások közötti egyensúly felbomlik, vagy azért, mert fokozott mértékű a szabadgyök-produkció vagy, mert korlátozott a sejt/szervezet antioxidáns kapacitása.

A keletkező reaktív oxigén termékeket (ROS) - mint jelátviteli molekulákat - normál körülmények között számos szerv termeli kis mennyiségben, amelyek szabályozzák többek között az erek működését és azáltal a vérnyomást. A ROS fokozott termelése tekinthető az egyik fő komponensnek a vaszkuláris károsodások kifejlődésekor, és szerepet játszik a hipertónia, diabétesz mellitusz valamint a krónikus vesebetegséghez társuló következmények kialakulásában. A fokozott ROS-termelés endotél diszfunkcióhoz, fokozott kontraktilitáshoz, lipid-peroxidációhoz, valamint gyulladáshoz vezet az érrendszeren belül.^{82,83,84}

Az oxidatív stressz mértékének meghatározása magas vérnyomással élő emberek körében általában a gamma-glutamil-transzferáz, tiobarbitursav-reaktív anyagok és 8-epiizoprosztánok meghatározásával történik, amely utóbbi kettő a lipid-peroxidáció fontos markere.^{85,86}

A klinikumban számos úton képesek vagyunk csökkenteni az oxidatív stressz kialakulását és következményeit. Néhány vitamin és ásványi anyag (C-, E-vitamin, szelén stb.) rendelkezik antioxidáns tulajdonsággal, emellett néhány antihipertenzív gyógyszer (mint az ACE-gátlók) képesek csökkenteni a NAD(P)H-oxidáz működését, ami az egyik fő forrása a ROS- termékeknek.^{87,88}

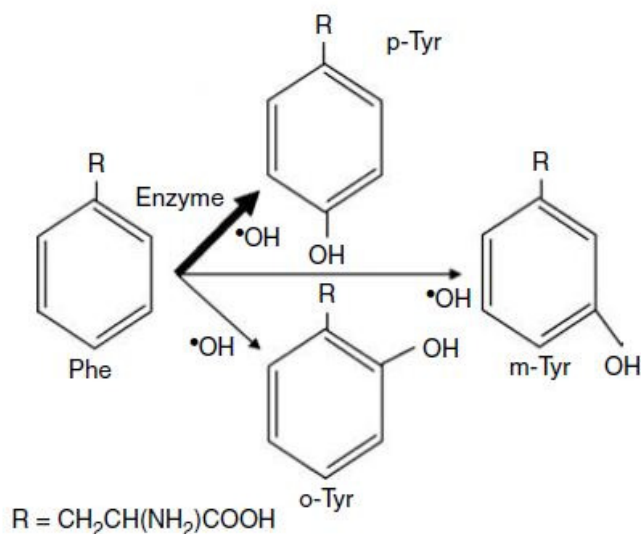
Az EO Na^+/K^+ -ATP-ázhoz való kötődése a ROS mennyiségének megnövekedését okozza (1. számú ábra) Azonban az EO és reaktív oxigén termékek kapcsolatáról kevés információval rendelkezünk in vivo körülmények között.

3.5.5.1. Az orto- és meta-tirozin képződése

Az aminosavak oxidációs termékei stabil molekulák, így alkalmasak a szabadgyök-termelés mérésére.⁸⁹ Az aromás aminosavak (pl. fenilalanin) oxidatív károsodásakor (hidroxil szabad gyök hatására) olyan stabil molekulák képződnek, mint az orto-tirozin (o-tyr), meta-tirozin (m-tyr) és a ditirozin.⁹⁰

A fenilalaninból fiziológias körülmények között para-tirozin (p-tyr) képződik a fenilalanin hidroxiláz enzim hatására, egyéb izoformák azonban fiziológias enzimatikus úton nem képződnek. Hidroxil szabadgyök jelenlétében azonban a fenilalaninból o-tyr, m-tyr és p-tyr egyenlő arányban képződik. Mivel a p-tyr képződése részben enzimatikus folyamat is, így biztosan csak az o-, a m-tyr és a ditirozin tekinthető oxidatív károsodáskor képződő terméknek.

A fenilalanin enzimatikus és hidroxil szabadgyök által létrehozott formáit a 3. számú ábra mutatja.



3. ábra A fenilalanin enzimatikus és hidroxil szabad gyök (•OH) hatására létrejövő formái (p-, m-, o-tyr) (Dr. Molnár Gergő anyagából)

Ismereteink szerint az aminosavak egy része a vizelettel távozik, így ezen termékek mind a plazmában, mind a vizeletben megtalálhatóak és kimutathatóak.

A plazma és vizelet o-tyr kapcsolata a szubklinikus célszerv-károsodás markereivel még emberben nem ismertek, azonban fontos megemlíteni, hogy a vizelet o-tyr szintje magasabb diabéteszes és vesebetegségben szenvedőben, mint egészséges kontroll személyekben vagy csak cukorbetegben.⁹¹

3.6. Endogén digitális, mint új támadáspont az antihipertenzív terápiában

Miután az endogén digitálisok szerepe a magas vérnyomás kialakulásában/fennállásában bizonyítást nyert, elkezdődött az antihipertenzív terápiás lehetőségek egy új vonulatának a fejlődése, amely az endogén digitálisok okozta hatást próbálja csökkenteni.

A spironolakton és a canrenone (a spironolakton fő metabolitja) már az 1980-as években ígéretesnek tűnt, mint az endogén digitálisok antagonistái.⁹²

A canrenone hatását bizonyítja, hogy a Na^+/K^+ -ATP-áz digitáliskötő helyén részleges agonistaként nem engedi bekötődni az endogén digitáliszt, ennek hatására a vérnyomás csökkenését tapasztalták volumen túlterhelt patkányok esetén.⁹³

A Na^+/K^+ -ATP-áz receptoron kötődő un. EO-antagonista, PST 2238 (rostafuroxin) kedvező hatását állatkísérletek igazolják,⁹⁴ emellett jelenleg egy multicentrikus tanulmány folyik emberben mutatott hatékonyságának kivizsgálására.

3.7. A RAS gátlás hatása az EO szintjére és a vizeletalbumin különböző formáira

Számos krónikus betegség, mint a magasvérnyomás, diabétesz mellitusz szövődményeinek és több krónikus vesebetegség progressziójának a hátterében a fokozott RAS-aktiváció fontos szerepet játszik.⁹⁵

A RAS-aktiváció részben a vérnyomás emelése által, részben a kardiális és vaszkuláris remodellingen keresztül hosszabb távon hipertóniához, bal kamra hipertrófiához, csökkent érfali rugalmassághoz vezet. Ezen hatás kifejlődésében többek között az AT II játszik fő szerepet, mivel oxidatív stresszt, endoteliális diszfunkciót okoz.⁹⁶ Az AT II az 1-es receptoron keresztüli aktivációval szerepet játszik a kardiális remodelling, és a bal kamra hipertrófia kialakulásában.⁹⁷

A RAS-aktiváció gátlása ACE-gátló vagy ARB adásával részben a vérnyomást csökkenti, részben a remodelling kialakulását gátolja. A RAS blokkolásával nem csak a vérnyomás csökkenthető, hanem számos vérnyomástól független hatással is rendelkezik, ami az egyéb antihipertenzív szer közül kiemeli. A RAS blokkolása a kardiovaszkuláris hatások mellett renoprotektív hatással is rendelkezik, ugyanis hatékonyan csökkenti az albuminuria mértékét, amely a kardiovaszkuláris- és a

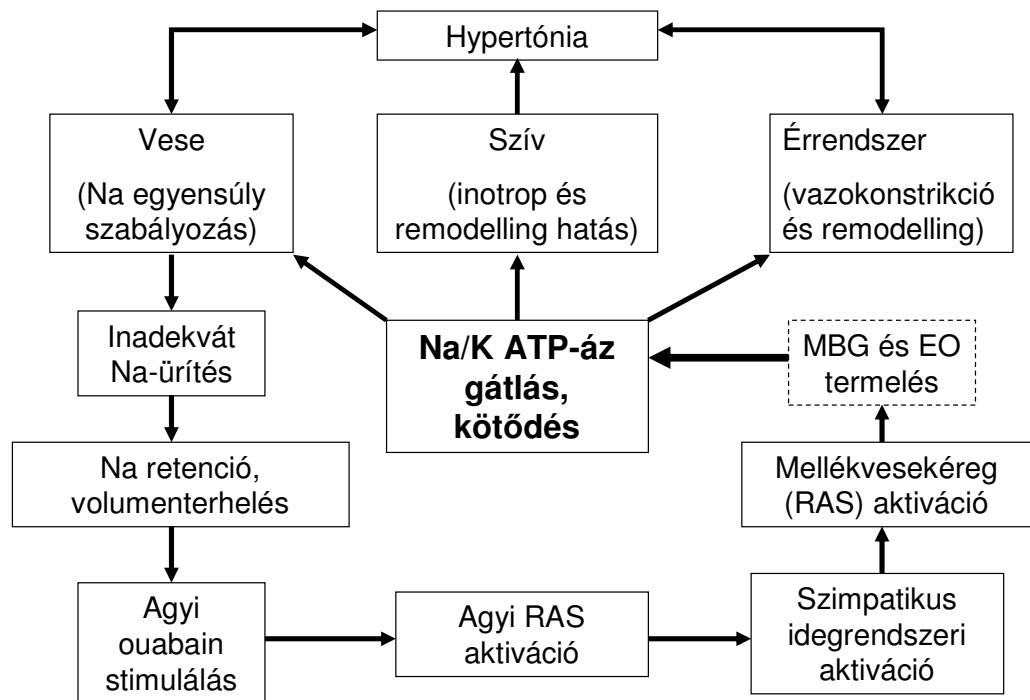
vesekárosodás egyik prediktora.⁹⁸ Ezek alapján a magas rizikójú betegek komplex kezelésében a RAS-gátló gyógyszereknek kiemelt szerepük van. Alkalmazásuk során a fő cél az albuminuria csökkentése és az egyéb klinikai és szubklinikai célszervkárosodások mérséklése.⁹⁹ Számos randomizált vizsgálat bizonyította, hogy az ACE-gátló és az ARB alkalmazása, összehasonlítva egyéb antihipertenzív szerekkel, mint pl. a β -blokkolókkal hatékonyabbak a bal kamra hipertrófia, vagy az albuminuria csökkentésében, annak ellenére, hogy vérnyomáscsökkentő hatásuk hasonló.^{100,101} Az ONTARGET tanulmány előtt néhány vizsgálat bizonyította, hogy a kettős RAS-gátlás (ACE-gátlás+ARB) jobb a proteinuria és a vérnyomás csökkentésében albuminuriás, hipertóniás cukorbetegben.¹⁰² A kettős gátlásnak előnyösebb hatása van a bal kamrai hipertrófiának, az artériás pulzushullám terjedési sebességének, valamint a plazma-pro-BNP szintjének csökkentésében, mint az egyszeres RAS-gátlásnak.¹⁰³

Az ONTARGET tanulmány eredményei alapján felmerült annak a lehetősége, hogy a hosszú távú kettős RAS-gátlás nem javítja, sőt talán rontja a renális kimenetelt és nem csökkenti jobban a magas kardiovaszkuláris rizikóval élő betegek mortalitását, mint az egyszeres RAS blokádnak.^{104,105} Sajnos az ONTARGET alkalmatlan ennek a kérdésnek az eldöntésére, mivel az ebbe a tanulmányba bevont betegek túlnyomó többsége nem volt még csak albuminuriás sem.

A RAS-aktiváció mellett azonban számos egyéb kórélettani folyamat is szerepet játszik a hipertónia és a krónikus vesebetegség kialakulásában, ilyen az emelkedett szimpatikus tónus,¹⁰⁶ valamint számos vazoaktív anyag megváltozott szintje.

Az endogén digitálisok termelésének megindításában a RAS-rendszer és a szimpatikus idegrendszer aktiválódásának van szerepe. Egy feltételezett, részben állatkísérletes adatokon alapuló aktiválási sort a 4. ábrán foglaltunk össze. Egészséges emberben és kutyákban azt találták, hogy a fizikai terhelés kiváltotta EO-termelés gátolható ACE-gátló és β -blokkoló adásával, azonban az ACE-gátló-kezelés hatását az EO-termelésre hipertóniás egyéneknél még nem vizsgálták. Hasonlóképpen nincs adat arról, hogy az AT II 1-es receptor blokkolása csökkenti-e az EO-szintjét, annyi azonban ismert, hogy az EO-eltávolítás serkenthető AT II adásával szövettanyán. A renin-angiotenzin-rendszer blokkolása különösen fontos krónikus veseelégtelen betegekben, mivel egyrészt körükben a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás rizikója emelkedettebb, másrésztől, mert náluk – a korábbi vizsgálatok szerint - az EO emelkedett értékeket mutat, amely

összefüggésbe hozható a szív és érrendszeri szövődményekkel.



4. ábra Az endogén digitálisok termelését megindító folyamatok és következmények
 Bagrov AY és társa által készített ábra adaptált és módosított változata (Pharmacol.
 Rev. 61:9-38, 2009)

3.7.1. Vizelet-albuminok

A RAS-rendszer megfelelő mértékű blokkolásának egyik könnyen vizsgálható markere a vizeletalbumin-ürítés meghatározása olyan krónikus betegségekben (diabétesz mellitusz, hipertónia), ahol a szövődmények a veseműködés romlását vonhatják maguk után.^{107,108}

3.7.2. Az albuminuria kialakulása

Fiziológiás körülmények között egy egészséges ember glomerulusain keresztül hozzávetőlegesen 1 g albumin filtrálódik, mégis csupán néhány mg albumin mérhető különböző immunológiai módszerekkel (immun-turbidimetria, immun-nefelometria) a vizeletben, ebben az esetben normalbuminuriáról beszélünk (a vizeletalbumin-ürítés <30 mg/nap). A filtrálódott és reabszorbeálódott albumin nagy része a proximális tubulusokban aminosavakra bomlik, kis része a lizoszomális enzimemésztés végtermékeként, 10 kD-nál kisebb fragmentumok formájában ürül a vizelettel.¹⁰⁹

3.7.3. Vizelet-albuminok kimutatása

A vizelet albumintartalom pontos meghatározásának különösen nagy jelentősége van, mivel alapvetően befolyásolja az alkalmazandó terápiát. Számos, különböző elven működő mérési módszer létezik, amelyek alapján véve kétféle vizeletalbumin fajtát képesek megkülönböztetni. A legelterjedtett metodika a különböző immunológia módszerek alkalmazása - általában anti-albumin poliklonális antitest (nyúl, bárány, kecske) alkalmazásával - ilyen a radioimmunoassay (RIA), az immun-turbidimetria (IT), immun-nefelometria (IN). Az elmúlt években a kromatográfiás (HPLC) módszerrel történő albumin meghatározása nagy figyelmet kapott, mivel összehasonlító vizsgálatok bizonyították, hogy a HPLC-vel általában nagyobb mértékű albuminuria volt detektálható, mint az immunológiai módszerekkel. A HPLC metodikával az ún. összes vizeletalbumin (immunológiailag reaktív és nem reaktív együtt), míg a konvencionális immunológiai módszerrel csak

az immunreaktív albumint lehet meghatározni. A HPLC-s módszerről bebizonyosodott, hogy – pontosságánál fogva – korábban jelzi a nefropátia kialakulását diabéteszesek körében.¹¹⁰

Számos korábbi tanulmány szoros kapcsolatot talált a vizelet immunreaktív albumin és a kardiovaszkuláris rendszer számos markere között, ellenben a nem immunreaktív albuminnal kapcsolatban kevés információval rendelkezünk.

3.7.4. A nem immunreaktív vizeletalbumin

A nem immunreaktív albumin jelen van az egészséges, valamint a diabéteszes betegek vizeletében is.¹¹¹ A nem immunreaktív albumin fő jellemzője, hogy albuminszerű tulajdonságokat mutat, mivel méretkizárásos HPLC-vel vizsgálva a natív albuminnal együtt eluálódik, és szintén együtt mozog a natív albuminnal polyakrilamid gél elektroforézis (PAGE) során is. Az egyetlen különbség, hogy ezen albuminfrakció nem reagál az anti-albumin antitestekkel. Ezen albuminfrakció részletes vizsgálata során kiderült, hogy nem kontaminációról van szó, mivel kevesebb, mint 10% nem albumin természetű anyagot tartalmazott.

Az albuminfrakció részletes PAGE és enzimhez kapcsolt immunszorbens assay (ELISA) vizsgálata során kiderült, hogy ugyan tartalmaz egyéb proteineket, mint pl. az α 1 mikroglobulint, β 2 – glikoproteint, Tamm-Horsfall glikoproteint, valamint ezek dimer változatát, de továbbra is jelentős mértékű volt az albumin természetű protein ebben a mintában. Ezen frakció albuminszerű természetét alátámasztja, hogy jól kötődik a kobalt II ionhoz, valószínűleg az intakt N-terminális végződésük miatt.¹¹² Saját vizsgálataink szerint MALDI-TOF-fal (matrix-assisted laser desorption/ionization- time-of-flight mass spectrometer) ellenőrizve a nem albumin szennyezés diabéteszes betegekben 12%-nak adódott.¹¹³

Habár a nem immunreaktív albumin természete részben ismert, kevés információval rendelkezünk arról, hogy ezen frakció kezelt betegekben is megjelenik-e, valamint mennyisége milyen klinikai paraméterekkel mutat összefüggést.

4. CÉLKITŰZÉSEK

4.1. Kardiovaszkuláris paraméterek és az EO

Az irodalmi adatok számos esetben vizsgálták kezeletlen hipertóniás betegek plazma-EO szintjét az egyéb kardiovaszkuláris vizsgáló módszerek (ambuláns vérnyomásprofil, echocardiográfia) paramétereinek összefüggésében, azonban nem találtunk adatot kezelt betegek körében a 24 órás vérnyomás-monitorizálás (ABPM) - különösen az éjszakai vérnyomás értékek -, az echocardiográfia, valamint az érfali elváltozások markerei, valamint a plazma-EO szintje között.

Mindezek mellett kevés humán vizsgálat számolt be a vizelet-EO szintjéről és annak kapcsolatáról egyéb klinikai paraméterekkel.

Ezért az volt a célunk, hogy meghatározzuk a plazma- és a vizelet-EO szintje és számos kardiovaszkuláris vizsgáló módszer eredményei, mint a szívultrahang, echo-tracking alapú artériás stiffness meghatározás, ABPM, valamint a karotiszok intima-média vastagsága (IMT) közötti összefüggéseket kezelt hipertóniás, 2-es típusú cukorbeteg és/vagy vesebeteg egyéneknél.

4.2. Orto-tirozin és az EO

Az EO Na^+/K^+ -ATP-ázhoz való kapcsolódásakor számos jelátviteli út és reaktív oxigén termék mediálta folyamat indul el, azonban nem találtunk eddig olyan humán vizsgálatot, amely az EO és a szabadgyök-képződés közötti összefüggéseket elemezné. Így célunk volt az is, hogy összefüggéseket keressünk az o-tyr plazma és vizelet szintje, valamint EO, C-reaktív protein (CRP), pro-BNP, kilégzett nitrogén-monoxid (NO) szintjei, valamint a kardiovaszkuláris károsodások számos markere között.

4.3. MONO és DUAL RAS-blokád és az EO

Az ACE-gátlók és az ARB-k kedvező hatása a kardiovaszkuláris remodellingre különösen vesebetegekben már régóta igazolt, azonban az nem ismert, hogy ebben a

betegcsoportban a RAS gátlása az EO-termelés csökkentése révén csökkenti-e a szív és érrendszeri elváltozások kifejlődését.

Azt a célt tűztük ki, hogy összehasonlítsuk hosszabb ideje csak ACE-gátlóval (MONO) vagy ACE-gátlóval és ARB-vel (kettős RAS-blokád- DUAL) kezelt enyhe és mérsékelt veseelégtelenségben szenvedő betegek komplex kardiovaszkuláris státuszát (vizelet- és plazma-EO, vizelet-albumin, vizelet-katekolaminok, szérum-pro-BNP, valamint az echokardiográfia, ABPM, és echo-tracking vizsgálat során kapott paramétereit).

5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

5.1. Vizsgált csoportok

Első keresztmetszeti vizsgálatunkba 41 felnőtt beteget vontunk be, akiket alapbetegségeik szerint 4 csoportra osztottunk:

1. csoport (HT, N=10): primer hipertóniában szenvedő betegek, társbetegség nélkül,
2. csoport (HT+DM, N=11): primer hipertóniában, valamint 2-es típusú cukorbetegségben szenvedő betegek,
3. csoport (HT+DM+VE, N=10): primer hipertóniában, 2-es típusú cukorbetegségben, valamint krónikus veseelégtelenségben (kreatinin klírens 90ml/perc alatt) szenvedő betegek;
4. csoport (HT+VE, N=10): primer hipertóniában és krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegek.

Beválasztási kritériumok:

Felvilágosítást követően aláírt beleegyező nyilatkozat

Az 50. életévüket betöltött személyek

Ismert és kezelt hipertónia

Krónikus vesebetegség: kreatinin klírens 90 ml/perc alatt

WHO szerinti 2-es típusú diabétesz mellitusz

Kizárási kritériumok:

Digoxin és spironolakton kezelés

Szteroid tartalmú készítmény szedése

WHO szerinti 1-es típusú diabétesz mellitusz

Malignus betegség fennállása

Alkohol vagy kábítószer abúzus

Akut infekció (tünetek, illetve C-reaktív protein (CRP) alapján)

Terhesség

Súlyos ritmuszavar (pitvarfibrilláció, pacemaker kezelés)

A HT+DM+VE csoportba tartozó betegek diagnózisa minden esetben diabéteszes nefropátia volt, míg a HT+VE csoportban krónikus pielonefritisz (N=3) és

nefroszklerózis (N=7). A vizsgálatban résztvevő betegek egyikénél sem volt ismertek az alábbiak: hipo/hipertireózis, mellékvesekéreg alul-, illetve túlműködés. Minden beteg klinikánk gondozott betege volt, akiknél nem állt fenn súlyos szívelégtelenség. A HT+DM csoportba 5, a HT+DM+VE csoportba 4 beteg inzulinkezelésben részesült. A csoportok az egyéb terápia tekintetében szignifikánsan nem különböztek egymástól. A betegek korábban beállított gyógyszeres terápiáját a vizsgálat alatt nem módosítottuk.

A vizsgálat a Regionális Etikai Bizottsági engedélye alapján, minden résztvevő írásos beleegyezésével történt.

Második keresztmetszeti vizsgálatunkba 35 felnőtt, klinikánkon gondozott hipertóniás beteget vontunk be, akiknek enyhe vagy mérsékelt fokú veseelégtelenségük volt és legalább 1 éve ACE-gátlót, vagy ACE-gátlót és ARB-t szednek. Ezen betegeket 2 csoportra osztottuk aszerint, hogy milyen típusú RAS-blokkoló gyógyszereket szedtek. A MONO-csoport betegei (N=20) csak ACE-gátló, míg a DUAL-csoport tagjai (N=15) ACE-gátló és ARB terápiában részesültek több mint 2 éve, és a terápiát az elmúlt 1 évben nem módosították. Minden beteg alacsony nátrium tartalmú diétát tartott. A MONO- és DUAL-csoport tagjainál kezdetben nem voltak dokumentált célszervkárosodások, a proteinuriát kivéve. A kettős RAS-blokkoló szedésének indikációja a maximális ACE-gátló kezelés mellett is perzisztáló proteinuria volt. A gyógyszerek dozírozása egyénre szabottan történt, és azt a legkisebb gyógyszerdózist kapták a betegek, amely helyreállította a magas vérnyomásukat és proteinuriájukat. A RAS-blokkolót szedő betegeknél nem találtunk a gyógyszereszedéssel kapcsolatos mellékhatást.

A vesebetegségek diabéteszes nefropátia, krónikus pielonefritisz és nefroszklerózis voltak. A vizsgálatban résztvevő betegek egyikénél sem álltak fenn az alábbiak: hipo/hipertireózis, mellékvesekéreg alul-, illetve túlműködés, akut infekció, pitvarfibrilláció, pacemaker kezelés.

Egyik betegnél sem állt fenn súlyos szívelégtelenség, fertőzés, lázas állapot. Egyik beteg sem részesült digitális, spironolakton, vagy egyéb szteroid tartalmú gyógyszeres kezelésben.

A vizsgálat szintén a Regionális Etikai Bizottsági engedélye alapján, minden résztvevő írásos beleegyezésével történt.

5.2. Vizsgáló módszerek

ABPM

A 24-órás vérnyomás-monitorizálás végzésére ABPM-04 típusú (Meditech, Meditech Ltd., Budapest, Hungary) oszcillometriás elven működő készüléket használtunk, amely napközben 15 percenként, éjszaka 30 percenként regisztrálta a vérnyomás értékeket.

A számított paraméterek (artériás középnyomás, hipertenzív időindex) az ABPM-04 mérőműszerhez készített szoftver segítségével határoztuk meg.

Hipertenzív időindex (hypertensive time index-/HTI/): százalékban azt az időtartamot fejezi ki, amíg a vérnyomás meghaladja nappal a 140/90 illetve éjszaka a 130/80 értéket.

Diurnális index: százalékban kifejezi a nappali és éjjeli vérnyomásátlagok közötti eltérést. APBM-04 esetén minél kisebb az értéke, annál jobban megközelíti az éjszakai vérnyomásátlag a nappali átlagát, negatív előjel esetén az éjszakai átlagok meghaladják a nappali értékeket (reverz dipper).

Vizeletgyűjtés

Minden betegnél, előkészítés illetve diétás megszorítás nélküli 24 órás vizeletgyűjtés (vizelet kreatinin-, nátrium-, és káliumürítés meghatározásra), emellett reggeli közepsugaras vizeletminta gyűjtése történt rutin tesztek, valamint katekolamin- és kreatinin-szintek meghatározásra.

Frakcionált exkréció (Fex): kifejezi, hogy a vese glomerulusain át filtrált anyag hány százaléka választódik ki a vizelettel a kreatinin klírens-hez viszonyítva. Ha az értéke kisebb, mint 100%, akkor a filtrált anyag visszaszívódik (reabsorbeálódik), ha az értéke nagyobb, mint 100%, akkor a filtráció mellett „aktívan” is kiválasztódik (szekretálódik).

Kiszámolási módja:

$F_{\text{exanyag}} = 100 \times (\text{anyag konc. vizeletben} \times \text{plazma kreatinin konc.} / \text{anyag konc. plazmában} \times \text{vizelet kreatinin konc.})$

Plazma és vizelet endogén ouabain meghatározása

Minden betegnél reggeli 7 és 8 óra között legalább 30 perc szigorú ágynyugalom után fekvő testhelyzetben 6 ml vért vettünk EDTA-s csőbe. A csöveket ezután 4°C-on 10 percig 3000g-n centrifugáltuk, a felülúszót leszívtuk és a mintákat a végső feldolgozásáig -20°C-on tároltuk.

24 órás gyűjtött vizeletből ugyanazon reggelen 10ml-t kivettünk és ugyancsak a feldolgozásig -20°C fagyasztva tároltuk.

A minták meghatározása radio-immunoassay (RIA) segítségével (Ouabain ¹²⁵I RIA kit; Biotop OY, Medipolis Center, Oulu, Finland) történt, a korábban leírtaknak megfelelően.¹¹⁴ Minden mintát kétszer mértünk és azok átlagaival számoltunk.

Vizelet-katekolamin- és szérum-pro-BNP-szint meghatározás

A reggeli friss vizelet-katekolamin (adrenalin, noradrenalin, dopamin) meghatározása BIO-RAD Clinical HPLC System (BIO-RAD Laboratories, Inc., France) segítségével történt. A savanyított vizeletet Analytical Micro-GuardTM Cartridges segítségével előkészítettük, majd ebből az oldatból 20µl-t kimértünk és HPLC-s elektrokémiai detektorral (Model 1340C) 0,55mV-on határoztuk meg a hormonok mennyiségét. A kapott értéket a reggeli vizelet kreatinin szintjével korrigáltuk.

A szérum N-terminális pro-brain type natriuretic peptide (BNP), röviden pro-BNP szintjét teljesen automatizált ElecsysTM rendszerrel (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) mértük. Az intra-assay és inter-assay variabilitás 1,3–4,2%, valamint 1,8–4,6% között volt.¹¹⁵

Echokardiográfia, karotisz stiffness meghatározása

A szív transztorakális ultrahang vizsgálata, valamint a karotisz stiffness mérése Aloka SSD 5500 (Aloka, Aloka Co. Ltd, Tokyo) típusú készülékkel 3.5 MHz-es (szív), valamint 10MHz-es (karotisz stiffness) transzducerrel történt. Minden vizsgálatot ugyanabban az időben (reggel 7.30 és 8.30 között), a vér- és vizeletminták, valamint az ABPM készülék levétele után végeztünk. Minden

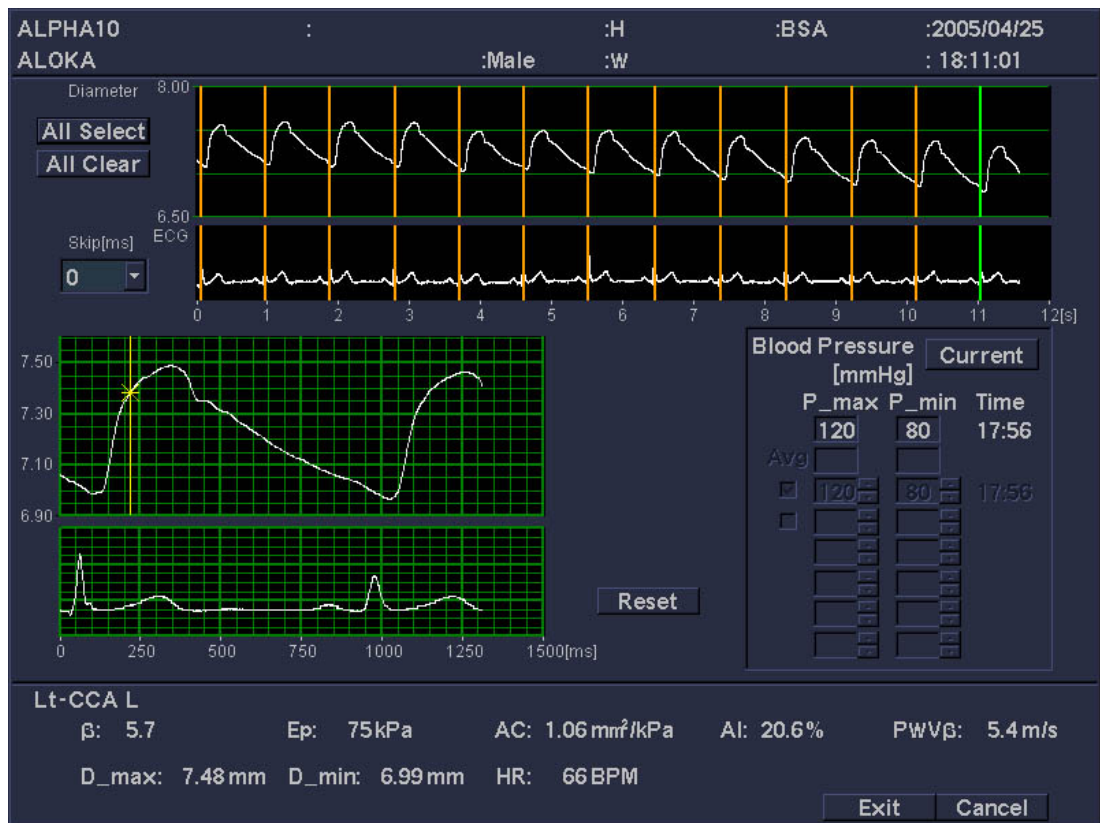
vizsgálatot ugyanaz a kardiológus végzett, aki előzetesen nem ismerte a betegek állapotát.

A vizsgálatok előtt a betegek legalább 5 percig fekvő helyzetben voltak. A vizsgálatokat az American Society of Echocardiography által kiadott protokoll alapján végeztük.¹¹⁶

Számos mért paramétert a Teicholz formula segítségével a testfelszínre korrigáltunk: bal kamra végszisztolés és végdiasztolés térfogat-index, stroke-index, bal kamrai tömeg-index. A stroke volument (SV) a végdiasztolés és végszisztolés térfogat különbségéből számoltuk. A szív-index számításakor a SV megszoroztuk a szívfrekvenciával.

A bal kamra diasztolés diszfunkcióját transmitralis Doppler (TMD) segítségével határoztuk meg, a korai diasztolés „E” hullámsebesség (cm/sec) és a késői diasztolés „A” hullámsebesség (cm/sec) hányadosaként. A pitvarok nagyságát, területét (mm^2) a pitvarok átmérőinek a szorzatával határoztuk meg.

A karotiszok állapotát az un. echo-tracking módszerrel mértük, a jobb oldali karotisz kommuniszokon. Ennek kivitelezése során EKG görbéhez igazított pulzushullám-detektálás és -értékelés (ld. 5. ábra) történt, amelyből a készülék számolta ki a további paramétereket. A pulzushullámok terjedési tulajdonságai alapján β -stiffness indexet (β), pulzushullám terjedési sebességet (PWV), és augmentációs indexet (Aix) mértünk.¹¹⁷



5. ábra Az echo-tracking módszerrel készített pulzushullám értékelő felülete

IMT meghatározása

A karotisok bifurkáció alatti intima-média vastagságának meghatározása a beteg fekvő helyzetében a 10Mhz-es lineáris transzducerrel (B mód, anterolaterális nézet) rendelkező ultrahanggal (ALOKA SSD 4000, Aloka Co. Ltd, Tokyo) történt.

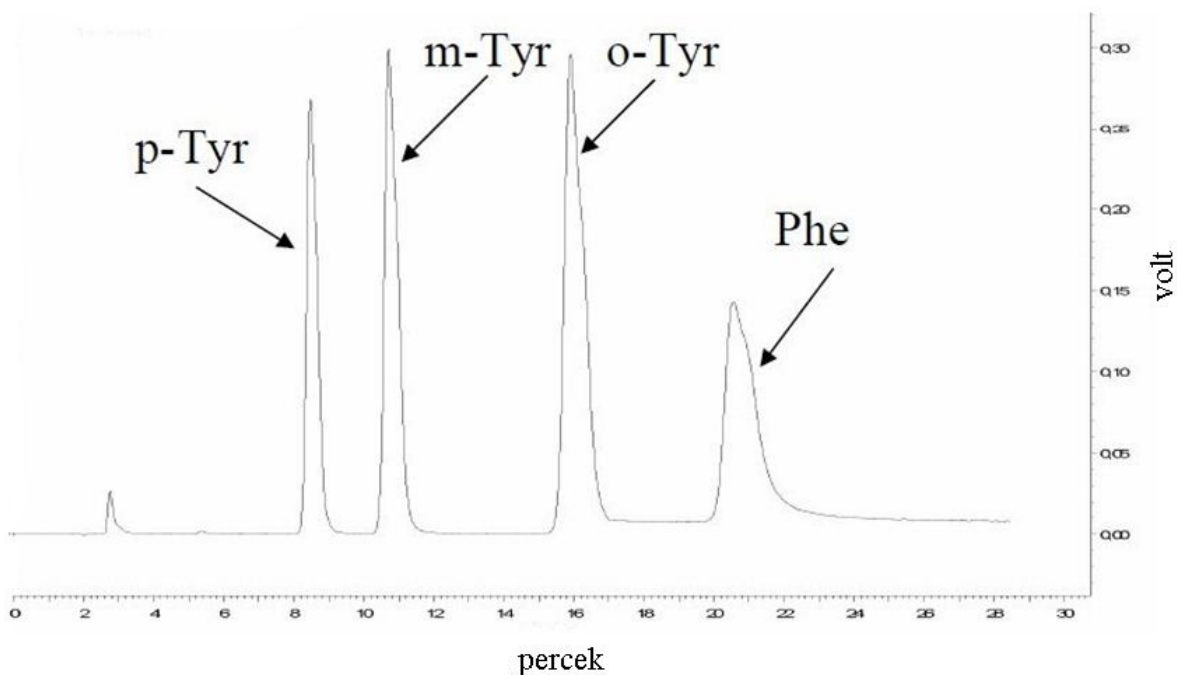
Orto-tirozin meghatározása

Jelen metodikát, a hidroxil szabadgyökök kimutatására már használtuk és publikáltuk.⁹¹ Gyűjtött vizeletből és friss heparinizált plazmából 250 µl kimértünk, majd a kimért mintákat jégben tartottuk. A mintákhoz 125 µl 60%-os triklórecetsavat adtunk, majd a mintákat összeráztuk és 30 percig jégen tartottuk, hogy a fehérjetartalma kicsapódjon. Ahhoz, hogy a kicsapódott fehérjetartalmat el tudjuk távolítani, a mintákat 10 percig 15.000-es fordulatszámom, Eppendorf csőben centrifugáltuk. A felülúszót átnyomtuk egy 0,2 µm-es szűrővel ellátott fecskendőn

(Millipore, Billerica, MA, USA), majd a szűrt mintából manuálisan úton 20 µl-t injektáltunk a HPLC készülékben.

A minták analízálásához Shimadzu Class LC-10 ADVP HPLC rendszert (Shimadzu USA Manufacturing, Inc., Canby, OR, USA) használtunk, amelyhez egy Shimadzu RF-10 AXL típusú fluoreszcens detektor (Shimadzu USA Manufacturing, Inc.) csatlakozott. Az aminosavakat (p-, m-, o-tyr, fenilalanin-Phe) saját fluoreszcens tulajdonságuk alapján tudtuk mérni, a tyr izoformákat 275 nm hullámhosszú fényvel gerjesztettük, és 305 nm-nél mértük az emissziót, míg a Phe esetén 258 nm hullámhosszon gerjesztettünk és a 288 nm-nél mértük az emissziót. Az analízishez egy Licrospher C-18 ODS típusú oszlopot használtunk, amelyhez mobil fázisként 1%-os ecetsav vizes oldatát és 1%-os nátrium acetátot alkalmaztunk. Standardizálás és kalibrálás után, a görbe alatti területek nagyságából számítottuk ki a vizsgált aminosavak pontos koncentrációját. Az egyik minta feldolgozása során kapott görbét az 6. ábrán mutatjuk be.

Bizonyos nehezebben értékelhető esetekben a mintákhoz adott p-, m-tyr, Phe (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), és o-Tyr (ICN Biochemicals Inc., Aurora, OH, USA) standard segítségével határoztuk meg az adott aminosav pontos elúciós idejét.



6. ábra A fenilalanin és annak hidroxil szabadgyök által módosított termékeinek HPLC-s detektálásakor kapott görbe.

Kilégzett-NO mérése, CRP meghatározása

A kilégzett nitrogén-monoxidot (NO) reggeli egyszeri kilégzett levegőből határoztuk meg. Az NO koncentrációját kemilumnineszcenciás elven működő készülékkel (Model LR 2500, Loga Research Ltd, Rochester, UK) mértük. Minden beteg esetén 2 mérés átlagával számoltunk.¹¹⁸

A C-reaktív protein (CRP) meghatározása automatizált, rutin laboratóriumi módszerrel történt.

Vizeletalbumin meghatározás

A huszonnégy-órás gyűjtött vizeletmintákat 10 percig 2500g centrifugáltuk, majd a felülúszót 2 részre osztottuk. Az egyik részből a vizeletalbumin koncentrációját határoztuk meg rutin immun-turbidimetriás módszerrel Roche/Hitachi 812 Modular P analyser segítségével (szenzitivitás: 3 mg/l, intra-assay pontosság 1,3% és 1,7%, inter-assay pontosság 4,3% és 2,6%, linearitás: 3-3000 mg/l, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

A vizelet felülúszó másik részéből az albumin meghatározásához nagy teljesítményű folyadék kromatográfiát (high performance liquid chromatography - /HPLC/) végeztünk a minta vételét követően néhány napon belül (a feldolgozásig a mintákat -20°C-on tároltuk). A HPLC mérésekhez AccuminTM kitet használtunk (Accumin Diagnostics Inc., New York, NY, USA, szenzitivitás (mérési határ): 3 mg/l, linearitás: 3-2000 mg/l, inter-assay és intra-assay pontosság 5,8 % és 2,5 %).

A nem immunreaktív albumin mértékét a HPLC-s módszerrel és az immun-turbidimetriás módszerrel meghatározott szintek közötti különbségből számítottuk. A vizsgálatban nem használtunk albumin/kreatinin hányados meghatározást, mivel a minták 24-órás vizeletgyűjtésből származtak.

Statisztikai feldolgozás

Az adatokat átlag és szórás, illetve medián és interkvartilis tartomány segítségével tüntettük fel, függően a változók normális vagy nem normális eloszlásától. A folytonos változók normális eloszlását először Kolmogorov-Smirnov teszttel elemeztük, amely után a normális eloszlást mutató adatokat 2 mintás T próbával, a nem normális eloszlást mutató adatokat Mann Whitney U teszttel hasonlítottuk össze. A nem folytonos változók vizsgálatára Khi- négyzet próbát alkalmaztunk. Az összefüggéseket - eloszlástól függően- Pearson vagy Spearman típusú korrelációval határoztuk meg. Többváltozós elemzésre stepwise lineáris regressziót használtunk

Második vizsgálatunkban egyes paraméterek esetén a csoportok között különbségeket HbA_{1c}-re, bal kamrai végszisztolés átmérőre és térfogatra, valamint a bal kamrai ejekciós frakcióra korrigáltuk „univariate general linear model” segítségével. A pro-BNP-t a nem normális eloszlás miatt, logaritmikus transzformáció után jelenítettük meg ábrákon.

Az analízist SPSS 13.0-as (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) szoftverrel végeztük, szignifikánsnak $p < 0,05$ esetén tekintettük az eredményeket.

6. EREDMÉNYEK

6.1. Kardiovaszkuláris paraméterek és az EO

A betegek klinikai paramétereit az 1. táblázat mutatja.

1. táblázat A betegek klinikai jellemzői

	HT	HT+DM	HT+DM+VE	HT+VE
Férfi/nő	5/5	4/7	5/5	4/6
Kor (év)	59,1 ± 6,8 [§]	65,81 ± 8,6	69,5 ± 3,6	60,4 ± 7,9
BMI (kg/m ²)	29,9 ± 5,9	29,53 ± 5,7	28,9 ± 3,9	28,7 ± 4,7
Hipertónia fennállása (év)	5,6 ± 2,1 [§]	8,3 ± 2,3	9,6 ± 3,8	7,1 ± 3,1
2-es típusú diabetes mellitus fennállása (év)	-	6,1 ± 3,1	7,0 ± 2,7	-
Krónikus vesebetegség fennállása (év)	-	-	9,7 ± 3,2	8,6 ± 3,4
Se. Na ⁺ (mmol/l)	139,8 ± 2,3	140,9 ± 2,8	140,9 ± 2,0	140,0 ± 2,2
Se. K ⁺ (mmol/l)	4,3 ± 0,3	4,1 ± 0,4	4,4 ± 0,7	4,3 ± 0,4
HbA _{1c} (%)	5,9 ± 0,25 [#]	6,5 ± 1,0	6,2 ± 0,5 [#]	5,5 ± 0,2
Kreatinin clearance 24-h (ml/perc)	109,3 ± 31,7 ^{§,#}	131,8 ± 24,3 ^{§,#}	62,4 ± 18,9	66,9 ± 26,6
Vizelet noradrenalin (nmol/mmol kreat.)*	24,65 ± 13,41	27,63 ± 15,07	23,11 ± 14,89	23,94 ± 14,57
Vizelet adrenalin (nmol/mmol kreat.)*	6,85 ± 4,04	7,37 ± 3,41	6,31 ± 3,82	6,23 ± 2,80
Vizelet dopamin (nmol/mmol kreat.)*	154,07 ± 58,74 ^{§,#}	111,98 ± 47,64	91,61 ± 46,23	86,18 ± 24,94
Vizelet-EO (pmol/nap)	102,46 ± 40,98	99,11 ± 25,60	97,67 ± 52,51	97,30 ± 21,17
EO-clearance (ml/perc)	12,66 (16,97)	10,20 (20,59)	8,97 (10,11)	14,59 (17,34)
Se. pro-BNP (pg/ml)	25,3 (78,4) [§]	76,9 (86,5) [§]	268,4 (228,4)	131,6 (354,7)
Karotisz intima-média vastagság (mm)	0,64 ± 0,17	0,74 ± 0,22	0,88 ± 0,09	0,79 ± 0,27

<i>Antihipertenzív kezelés</i>	HT	HT+DM	HT+DM+VE	HT+VE
ACE-gátlók (%)	80,0	72,7	100,0	90,0
ARB (%)	70,0	54,5	50,0	20,0
β- blokkolók (%)	40,0	54,5	70,0	70,0
Ca-csatorna-blokkolók (%)	70,0	54,5	70,0	60,0
Vízajtók (%)	40,0	54,5	80,0	40,0
<i>Egyéb gyógyszeres terápia</i>				
Orális				
antidiabetikumok (%)**	0,0	54,5	60,0	0,0
Inzulin (%)**	0,0	45,5	50,0	0,0
Lipidszint	40,0	90,9	90,0	30,0
csökkentők (%)**				
Trombocita aggregáció	20,0	81,8	80,0	70,0
gátlók (%)**				

Az adatok megjelenítése átlag ± szórás (S.D.), vagy medián és (interkvartilis tartomány), illetve gyakoriság (%).

**, A vizelet katekolamin meghatározása reggeli friss vizeletből történt*

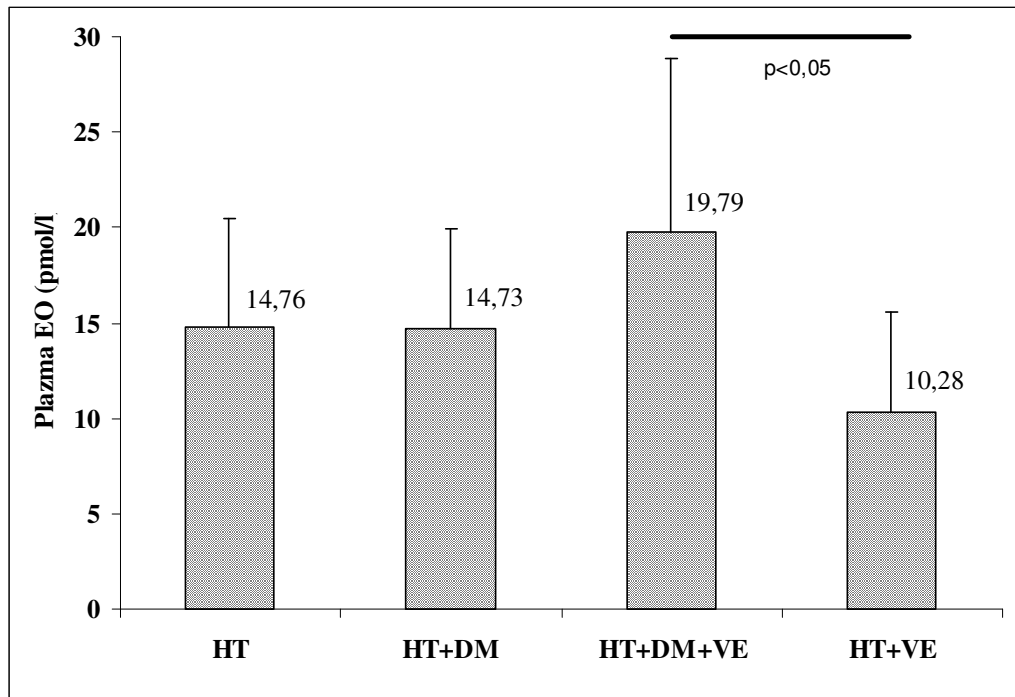
****, $P < 0.05$ a csoportok között Chi négyzet próba alapján.*

§, $P < 0.05$ a HT+DM+VE csoporttal összehasonlítva

#, $P < 0.05$ a HT+ VE csoporttal összehasonlítva

se., serum; HT, hipertónia betegség; DM, 2-es típusú diabetes mellitus; VE, krónikus veseelégtelenség; BMI, Test tömeg index; HPLC, high performance liquid chromatography; EO, endogén ouabain; BNP, brain natriuretic peptide; Kreat., Kreatinin

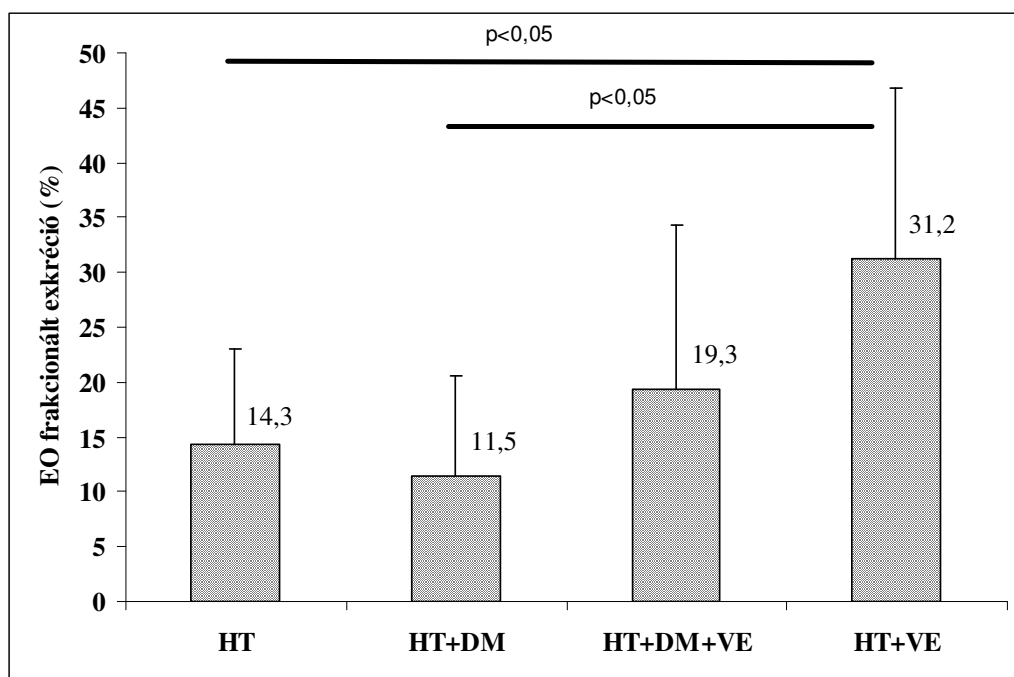
A plazma-EO szintjeit és a csoportok közötti különbséget a 7. ábra mutatja.



7. ábra A plazma-EO átlagai a betegcsoportokban

A plazma-EO szintje, a korral való korrekció után is szignifikánsan magasabb volt a HT+DM+VE csoportban, mint a HT+VE csoportban ($p=0,046$).

A napi vizelet-EO-ürítésben, valamint az EO-klírensben a csoportok között különbség nem mutatkozott. (1. táblázat) A HT+VE csoportban az EO frakcionált exkréciója szignifikánsan magasabb volt, mint a HT és a HT+DM csoportban (8. ábra)



8. ábra Az EO frakcionált exkréciója a betegcsoportokban (a csoportok átlagai az ábrán feltüntetve)

Az 1. táblázatban fel nem tüntetett egyéb laboratóriumi paraméterek (májenzimek, lipid profil, gyulladásos markerek és vérkép, vizelet általános) minden betegnél a normál tartomány belül voltak és a négy vizsgált csoportban mért átlagaik nem különböztek szignifikánsan egymástól.

A csoportok antihipertenzív kezelésében nem volt szignifikáns különbség.

Az ABPM, az echokardiográfia és a karotiszon mért artériás stiffness mért paramétereit a 2. táblázat tartalmazza. A csoportok között a nappali, valamint az éjszakai szisztolés, diasztolés és az artériás középnyomás, valamint ezen paraméterek hipertóniás időindexének és diurnális indexének tekintetében nem volt különbség.

Az echokardiográfia, valamint az érfali merevség paramétereinek vonatkozásában (a jobb pitvar nagysága kivételével) nem találtunk a csoportok között különbséget.

2. táblázat A betegek kardiovaszkuláris paramétereit

Paraméter	HT	HT+DM	HT+DM+VE	HT+VE
Nappali szisztolés vérnyomás (Hgmm)	134,7 ± 17,9	129,4 ± 18,1	131,4 ± 12,1	131,2 ± 16,9
Nappali diasztolés vérnyomás (Hgmm)	75,2 ± 8,1	71,9 ± 7,8	70,7 ± 8,9	77,5 ± 8,0
Nappali artériás középnyomás (Hgmm)	95,2 ± 10,8	91,5 ± 10,9	91,2 ± 8,5	95,5 ± 9,8
Nappali szisztolés hipertóniás idő index (%)	32,1 ± 29,0	29,9 ± 33,3	29,0 ± 25,5	30,1 ± 24,7
Nappali diasztolés hipertenzív idő index (%)	23,5 ± 25,1	7,7 ± 11,9	6,6 ± 9,4	15,5 ± 15,1
Nappali artériás középnyomás hipertenzív időindexe (%)	29,3 ± 30,8	13,9 ± 17,1	12,5 ± 14,0	22,4 ± 21,9
Éjszakai szisztolés vérnyomás (Hgmm)	126,6 ± 22,3	125,9 ± 19,4	128,0 ± 16,0	119,8 ± 13,0
Éjszakai diasztolés vérnyomás (Hgmm)	69,3 ± 9,8	65,2 ± 7,6	65,5 ± 9,0	66,1 ± 7,6
Éjszakai artériás középnyomás (Hgmm)	88,4 ± 13,6	85,1 ± 10,3	85,8 ± 10,8	83,6 ± 8,4
Éjszakai szisztolés hipertenzív idő index (%)	53,2 ± 24,0	56,1 ± 40,8	60,9 ± 34,2	50,7 ± 28,2
Éjszakai diasztolés hipertenzív idő index (%)	20,8 ± 20,7	11,4 ± 17,0	15,0 ± 18,5	13,1 ± 17,0
Éjszakai artériás középnyomás hipertenzív időindexe (%)	33,9 ± 31,0	34,3 ± 32,9	36,6 ± 27,6	26,0 ± 24,4
Jobb pitvar területe (mm ²)	1636 ± 190	1502 ± 234 [§]	1783 ± 295	1432 ± 296 [§]
Bal pitvar területe (mm ²)	1561 ± 360	1629 ± 287	1895 ± 283	1541 ± 392
LVEDSD (mm)	29,8 ± 5,02	29,8 ± 4,16	31,3 ± 4,47	32,5 ± 5,10
LVEDD (mm)	46,7 ± 4,05	46,3 ± 4,63	48,4 ± 4,37	48,9 ± 5,64
LVESV (ml)	29,99 ± 17,92	29,28 ± 12,87	33,88 ± 14,42	38,47 ± 20,40
LVEDV (ml)	108,87 ± 29,80	107,24 ± 32,83	121,33 ± 31,80	126,95 ± 45,67
LVEDVI (ml/m ²)	57,20 ± 17,26	57,05 ± 17,01	65,83 ± 17,66	67,11 ± 19,22

		138,28 ±	133,32 ±	158,44 ±	155,49 ±
	LVMÍ (g/m ²)	27,07	48,45	39,84	30,58
	Ejekciós frakció (%)	60,8 ± 4,8	58,7 ± 3,6	57,8 ± 3,6	57,3 ± 6,1
	Aorta v _{max} (m/s)	1,3 ± 0,26	1,31 ± 0,31	1,34 ± 0,22	1,39 ± 0,44
	E/A	0,86 ± 0,28	0,85 ± 0,28	0,95 ± 0,32	0,85 ± 0,38
	Stroke index (ml/m ²)	41,38 ± 9,66	41,39 ± 10,50	47,42 ± 11,21	46,83 ± 12,36
	Cardiac index (l/min/m ²)	2,95 ± 0,75	2,98 ± 0,77	3,16 ± 0,69	3,37 ± 0,92
E-tracking	Carotis PWV	7,43 ± 2,4	7,2 ± 1,7	7,19 ± 1,1	7,36 ± 0,88
	Carotis Aix	17,01 ± 8,60	18,82 ± 10,69	19,82 ± 14,10	24,65 ± 13,72
	Carotis β stiffness	14,7 ± 12,17	11,77 ± 5,09	11,93 ± 3,05	11,55 ± 3,42

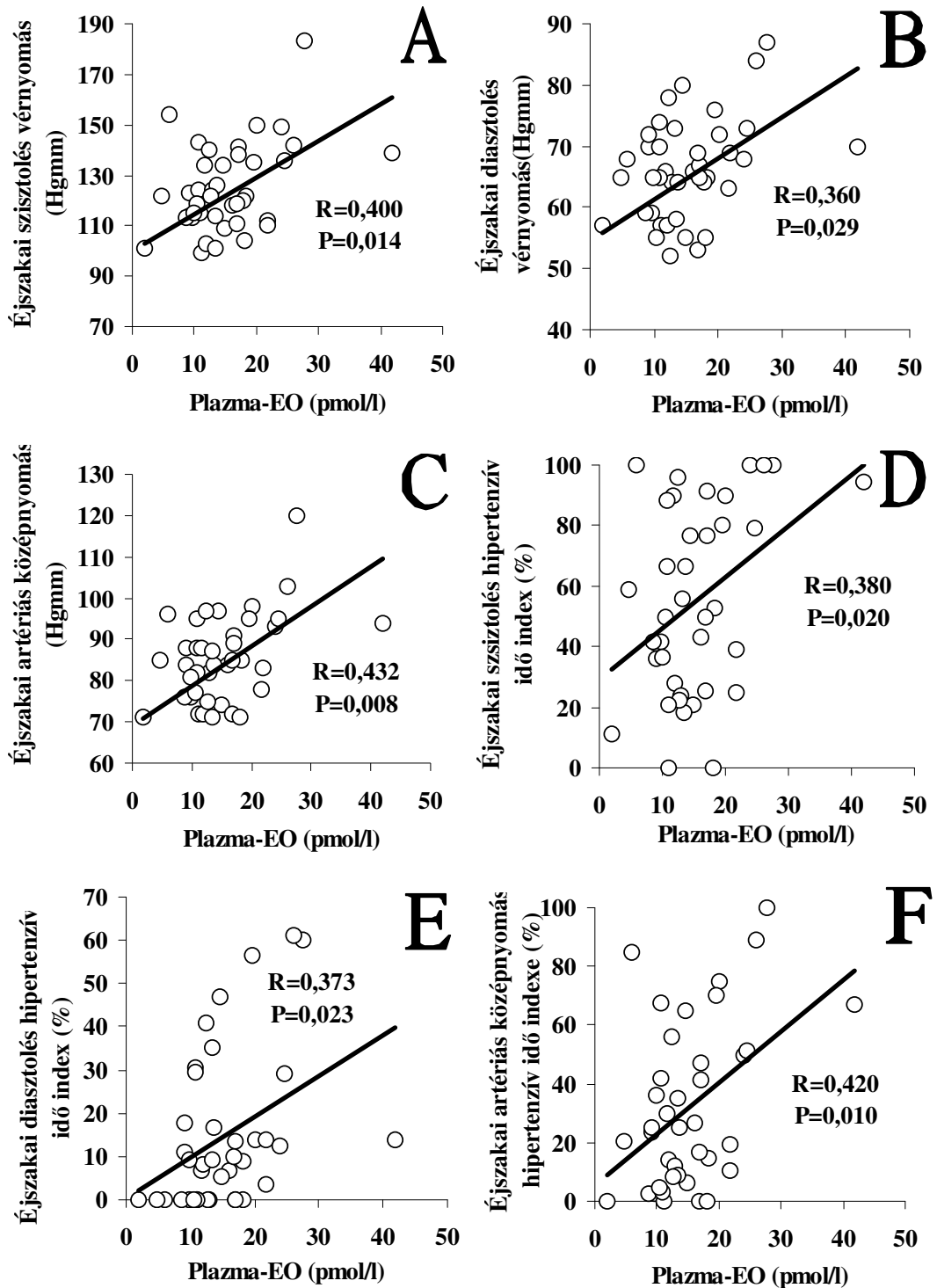
Az adatok megjelenítése átlag ± szórás (S.D.)

§, P<0,05 HT+DM+VE csoporthoz viszonyítva

ABPM, 24 órás vérnyomás monitorizálás; ECHO, echokardiográfia; LVESD, bal kamrai végszisztolés átmérő; LVEDD, bal kamrai végdiasztolés átmérő; LVESV bal kamrai végszisztolés térfogat; LVEDV, bal kamrai végszisztolés térfogat; LVEDVI, bal kamrai végszisztolés térfogat index; E/A, a korai és a késői csúcs áramlási sebesség hányadosa

Korrelációk az össz-populációban

A plazma EO és az éjszakai vérnyomás átlagos szisztolés (SBP), diasztolés (DBP) artériás középnyomás (MAP), valamint ezen paraméterek hipertenzív időindexe (HTI) közötti összefüggéseket a 9. ábra (A-F) mutatja.

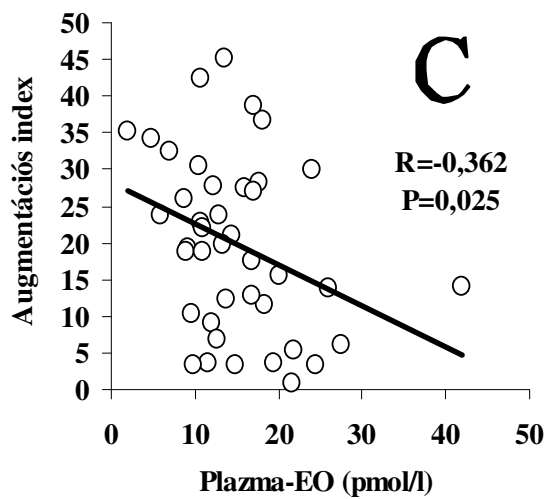
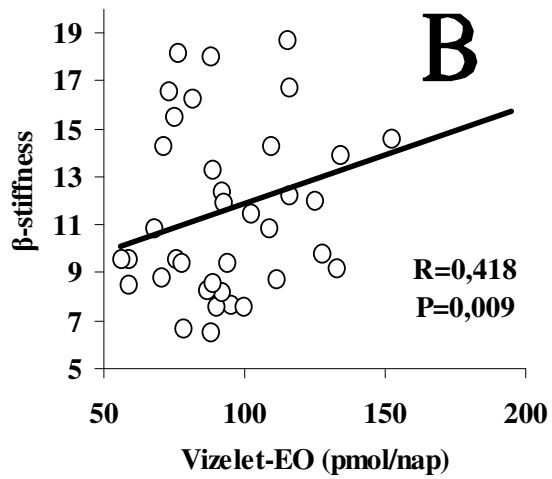
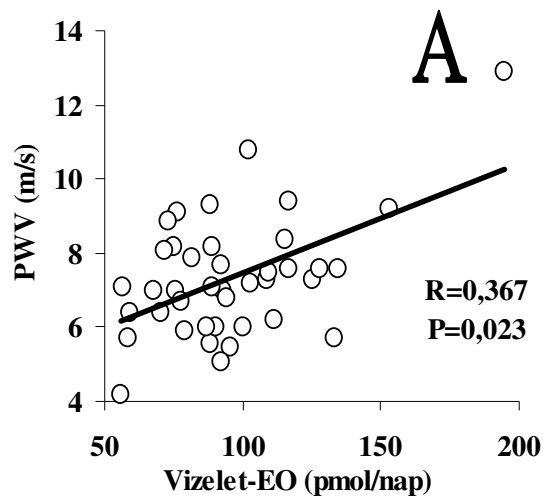


9. ábra A plazma-EO és az éjszakai vérnyomásértékek közötti korrelációk az összmintában

Nem mutatkozott szignifikáns korreláció a nappali vérnyomás értékek, valamint a plazma- és vizelet-EO szintje között. Ugyancsak nem találtunk összefüggést az éjszakai vérnyomásértékek és a vizelet-EO szintje között.

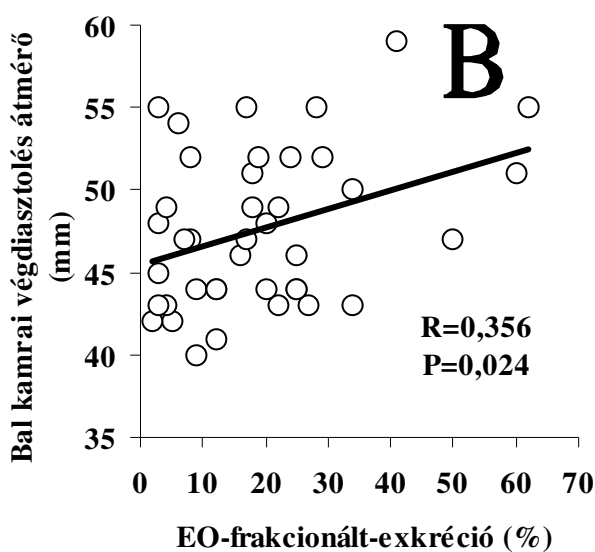
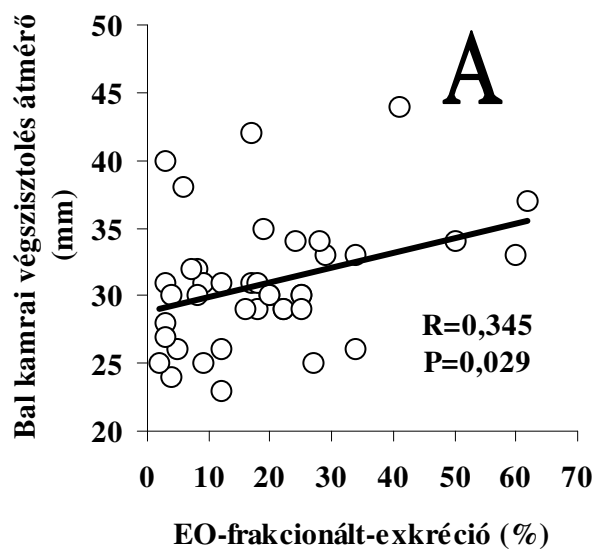
Az EO-klírens szignifikáns, negatív korrelációt mutatott olyan éjszakai vérnyomás értékekkel, mint az átlagos SBP ($R=-0,344$, $P=0,037$), DBP ($R=-0,381$, $P=0,020$), MAP ($R=-0,375$, $P=0,022$), szisztolés HTI ($R=-0,348$, $P=0,035$) és a diasztolés HTI ($R=-0,386$, $P=0,018$). Szintén negatív összefüggéseket találtunk az EO frakcionált exkréciója és az éjszakai átlagos DBP ($R=-0,377$, $P=0,021$), MAP ($R=-0,361$, $P=0,028$) és MAP-HTI ($R=-0,379$, $P=0,021$) között. Az EO-klírens és az EO-frakcionált-exkréció értékei nem mutattak kapcsolatot a nappali ABPM-profil értékeivel.

A vizelet-EO korrelált a karotisz artérián mért PWV és β -stiffness értékével, valamint negatív korrelációt találtunk a plazma-EO és a karotisz augmentációs indexe között. A korrelációk a 10. ábrán láthatóak.



10. ábra Az EO-szintek és az érfa merevség különböző paramétereinek (PWV, β -stiffness, Aix) összefüggései az összpopulációban

Az echokardiográfias paraméterek közül a végszisztolés és végdiasztolés átmérő az EO- frakcionált-exkréció mértékével mutatott szignifikáns kapcsolatot. (11. ábra.), de a plazma- és vizelet-EO szintjével nem találtunk kapcsolatot.



11. ábra Az EO frakcionált exkréciójának korrelációi az echokardiográfias paraméterekkel az összpopulációban

Mindezek mellett az EO frakcionált exkréciója és a bal kamrai végdiasztolés ($R=0,357$, $P=0,024$) és végszisztolés térfogat ($R=0,328$, $P=0,039$) mutatott szignifikáns összefüggéseket.

Nem találtunk kapcsolatot az EO mennyisége valamint az intima-média vastagsága között sem az összpopulációban, sem a különböző csoportokban.

Az EO plazma- és vizeletszintje, valamint az EO-klírens és -frakcionált-exkréció nem korrelált a betegek nemével, korával és a testtömeg indexükkel (BMI).

A korábbi ismereteinknek megfelelően összefüggést találtunk a pro-BNP és a vesefunkció, valamint számos echokardiográfiás paraméter között, mint a bal kamrai ejekciós frakció, végszisztolés és végdiasztolés átmérők és térfogatok.

A pro-BNP szintje vizsgálatunkban nem volt kapcsolatba hozható a plazma- és vizelet-EO szintjével, sem az EO exkréciójával.

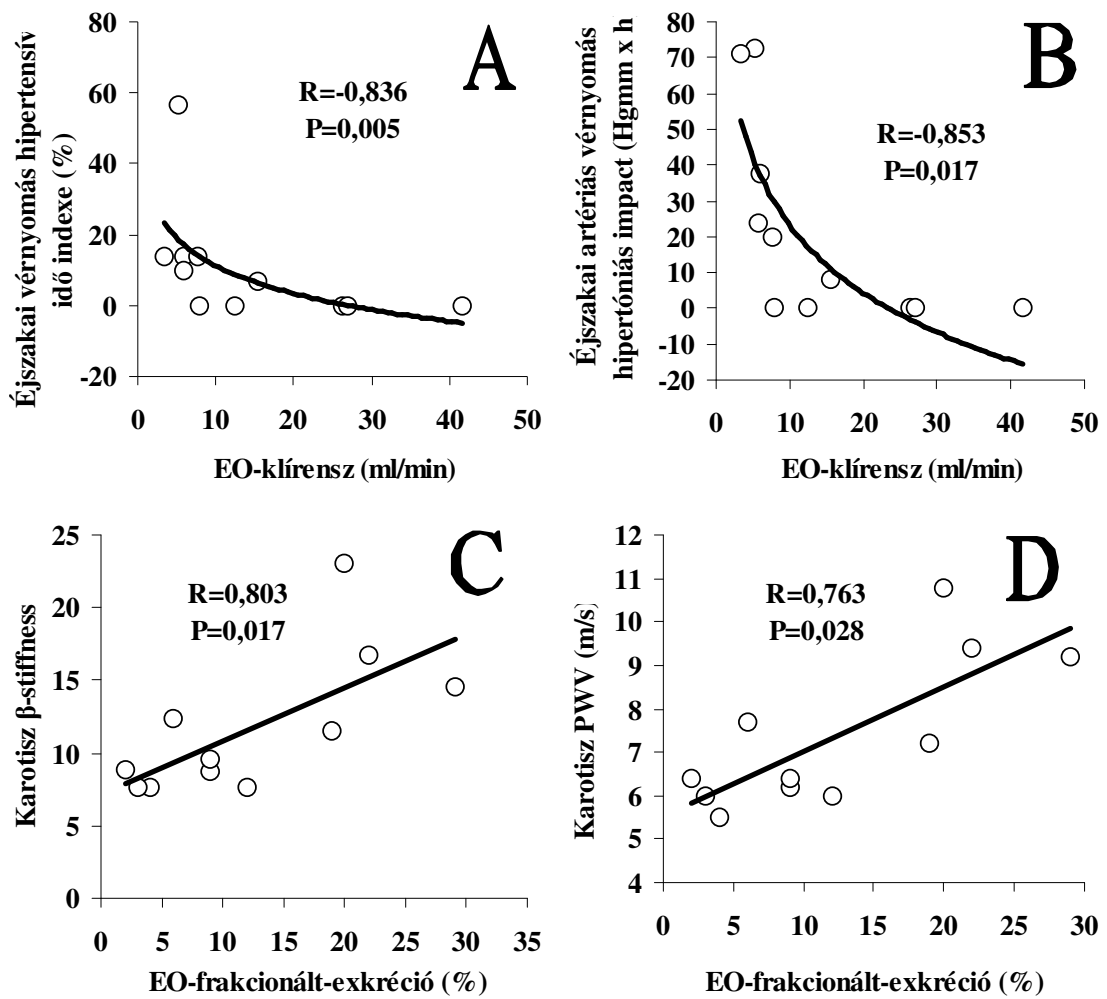
A vizelet-noradrenalin összefüggést mutatott a napi EO-ürítéssel ($R=0,396$, $P=0,011$), a diasztolés és artériás középnyomás diurnális indexével ($R=0,347$, $P=0,028$; $R=0,386$, $P=0,014$), valamint a bal kamrai végszisztolés és diasztolés térfogatokkal. A vizelet dopamin szintje csak a vesefunkcióval, míg az adrenalin szintje egyik paraméterrel sem mutatott szignifikáns összefüggést.

EO-korrelációk a hipertóniás csoportban

Nem találtunk kapcsolatot a plazma-EO valamint a nappali és éjszakai vérnyomás paraméterek között. Nem mutatkozott összefüggés a vizelet-EO, az EO-klírens, az EO- frakcionált-exkréció és a többi kardiovaszkuláris állapot felmérésére használt paraméter között.

EO-korrelációk a hipertóniás - diabéteszes csoportban

Negatív nem lineáris korreláció mutatkozott az EO-klírens és az éjszakai diasztolés vérnyomás, valamint a diasztolés vérnyomás hipertenzív időindexe között. Emellett pozitív összefüggést mutatott az EO frakcionált exkréciója és a karotison mért β -stiffness értéke (12. ábra)

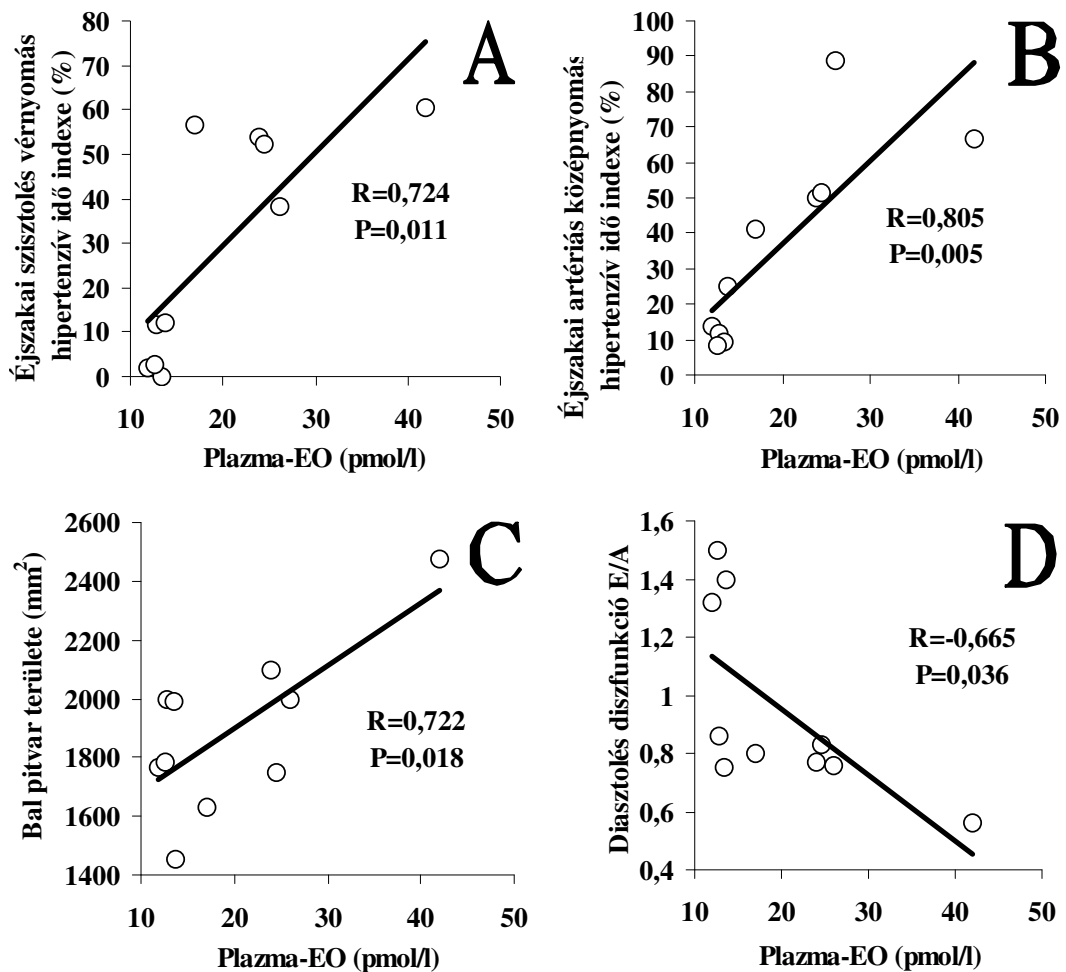


12. ábra Az EO-klírens és az EO-frakcionált-exkréció összefüggései az ABPM és érfali merevség néhány paraméterével a HT+DM csoportban

Csak az éjszakai diasztolés vérnyomás hipertenzív időindexe mutatott szignifikáns kapcsolatot a plazma-EO szintjével ($R=0,673$, $P=0,047$), egyéb EO-paraméterrel nem tudunk szignifikáns kapcsolatot feltárni a hipertóniás diabeteszes csoportban.

EO-korrelációk a hipertóniás - diabéteszes - vesebeteg csoportban

Néhány szignifikáns korrelációt ebben a csoportban az 13. ábrán foglaltunk össze.



13. ábra A plazma-EO korrelációi az éjszakai vérnyomás paraméterekkel, a bal pitvar nagyságával és a szív diasztolés diszfunkciójával a HT+DM+VE csoportban.

EO-korrelációk a hipertóniás-vesebeteg csoportban

Az ABPM paraméterei nem mutattak összefüggést a plazma- és vizelet-EO értékével. Inverz irányú összefüggés mutatkozott a plazma-EO és a karotisz augmentációs indexe között ($R=-0,655$, $P=0,04$), azonban az EO-klírens és -frakcionált-exkréció itt sem mutatott szignifikáns kapcsolatokat az egyéb paraméterekkel.

Lineáris regressziós modellünkben, az összes beteget együtt vizsgálva, az éjszakai

artériás középnyomás (MAP) és a β -stiffness befolyásoló tényezőit kerestük. Az éjszakai MAP független prediktorának az életkor, a LVMI és a plazma-EO, míg a β -stiffness független prediktorának a vizelet-EO szintje adódott (3. táblázat).

3. táblázat A lineáris regresszió eredményei

A lineáris regresszió eredményei

Függő változó: éjszakai artériás középnyomás	Független prediktor	Standard Beta	Sig.
Összes beteg	Kor	-0,426	0,005
	LVMI	0,375	0,016
	Plazma-EO	0,426	0,004

Függő változó: karotisz β -stiffness	Független prediktor	Standard Beta	Sig.
Összes beteg	Vizelet-EO	0,412	0,011

MAP, artériás középnyomás; PWV, pulzushullám terjedési sebesség; LVMI, bal kamrai tömeg-index; TPR, totál perifériás ellenállás; E/A, diasztolés diszfunkció; IMT, intima média vastagság; BMI, test tömeg index; GFR, glomerulus filtráció ráta; EO, endogén ouabain

Az **éjszakai MAP** lineáris regressziós modelljében lévő változók: LVMI, stroke index, TPR index, ejekciós frakció, E/A, vizelet noradrenalin, IMT, β -stiffness, karotisz augmentációs és PWV, kor, BMI, GFR, plazma- és vizelet-EO

A karotisz **β -stiffness** lineáris regressziós modelljében lévő változók: 24 órás szisztolés és diasztolés vérnyomás, LVMI, stroke index, TPR index, ejekciós frakció, vizelet noradrenalin, IMT, kor, BMI, GFR, plazma- és vizelet-EO

6.2. Orto-tirozin és az EO

A betegek oxidatív stressz markereinek és gyulladásos paramétereinek átlagait a 4. táblázat tartalmazza. A betegek egyéb klinikai adatai az előzőekben ismertetett 1. táblázat tartalmazza.

4. táblázat Az oxidatív és gyulladásos markerek átlagai a betegcsoportokban

	HT	HT+DM	HT+DM+VE	HT+VE
Plazma para-tirozin ($\mu\text{mol/l}$)	49,2 \pm 10,9	46,3 \pm 9,5	41,9 \pm 7,2	47,2 \pm 9,3
Plazma orto-tirozin (nmol/l)	2,6 (40,3) ^{§,#}	34,3 \pm 20,7	64,1 \pm 21,7	69,3 \pm 48,3
Plazma fenilalanin ($\mu\text{mol/l}$)	44,8 \pm 8,5	38,0 \pm 11,1	38,8 \pm 8,1	46,4 \pm 11,8
Vizelet para-tirozin ($\mu\text{mol/l}$)	22,7 \pm 13,6	15,9 \pm 9,0	14,0 \pm 8,4	12,5 \pm 9,9
Vizelet orto-tirozin (nmol/l)	18,1 (60,2)	19,6 (118,7)	28,2 (114,7)	8,3 (200,9)
Vizelet fenilalanin ($\mu\text{mol/l}$)	19,6 (19,0)	13,7 (37,8)	5,8 (32,8)	6,5 (15,4)
Kilégzett NO (ppb)	10,44 \pm 8,31	11,09 \pm 9,22	21,2 \pm 18,35	19,4 \pm 8,48
C-reaktív protein (mg/l)	2,25 (2,35)	1,20 (4,00)	3,15 (3,68)	2,55 (2,52)

Az adatok megjelenítése átlag \pm szórás (S.D.), vagy medián és (interkvartilis tartomány)

Fex, frakcionált exkréció; NO, nitrogen monoxid

§, $P < 0,05$ HT+DM+CKD csoporthoz viszonyítva

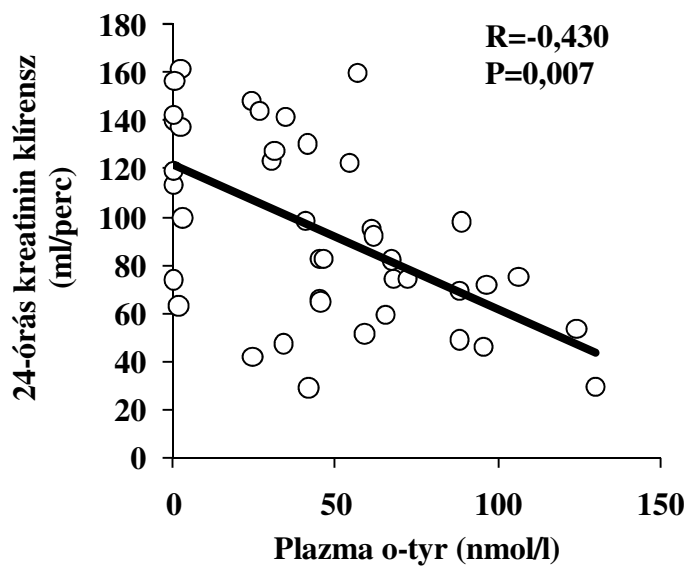
#, $P < 0,05$ HT+VE csoporthoz viszonyítva

Vizsgálatunkban a HT+DM+VE csoportban és a HT+VE csoportban mért plazma orto-tirozin szintje a korral való korrekció után is szignifikánsnak magasabbnak mutatkozott, mint a HT csoportban ($P=0,028$ és $P=0,04$). Az egyéb paraméterek tekintetében nem találtunk szignifikáns különbséget a csoportok között.

Korrelációk az összmintában

Nem találtunk összefüggést a plazma- és vizelet-orto-tirozin szintje és a plazma- és vizelet-EO szintje között. Az o-tyr esetén nem találtunk kapcsolatot a kardiovaszkuláris paraméterekkel.

A plazma-o-tyr negatív korrelációt mutatott a vesefunkciós paraméterekkel, mint a kreatinin klírens (14. ábra), szérum kreatinin ($R=0,439$, $P=0,004$).



14. ábra A plazma o-tyr és a kreatinin klírensz összefüggése az összmintában

Korrelációk a csoportokban

Nem mutatkozott összefüggés a plazma és vizelet o-tyr szintje és a szubklinikus célszerv-károsodások markerei között egyik csoportban sem.

6.3. Kombinációs (DUAL) és nem kombinációs (MONO) RAS-blokád és az EO

A MONO és DUAL csoport főbb jellemzőit az 5. táblázatban foglaltuk össze.

5. táblázat A MONO- és DUAL-csoport jellemzői

	MONO	DUAL
Nem (férfi/nő)	11 / 9	5 / 10
Kor (év)	65,7 ± 7,9	60,8 ± 6,9
Hipertónia fennállása (év)	7,9 ± 2,4	6,1 ± 3,1
Vesebetegség fennállása (év)	3,0 ± 1,2	2,7 ± 1,6
Diabétesz mellitusz fennállása (év)	4,0 ± 1,6	3,2 ± 1,7
RAS-blokád időtartam a tanulmány előtt (év)	2,6 (1,2-3,4)	2,4 (1,1-3,2)
2-es típusú diabétesz mellitusz (n/%)	7 / 35,5	7 / 46,6
β-blokkoló (n/%)	13 / 65,0	6 / 40,0
Kalcium-csatorna-blokkoló (n/%)	11 / 55,0	10 / 66,7
Diuretikum (n/%)	10 / 50,0	8 / 53,3
Orális antidiabetikumok (n/%)	6 / 30,0	3 / 20,0
Inzulin (n/%)	1 / 5,0	3 / 20,0
Orális antidiabetikumok és inzulin (n/%)	1 / 5,0	1 / 6,6
BMI (kg/m ²)	28,1 ± 4,1	31,0 ± 5,1
HbA _{1c} (%)	5,7 ± 0,3	6,3 ± 0,9*
eGFR (MDRD) ml/perc/1,73m ²	55,3 ± 24,2	62,6 ± 20,6
24-h vizelet összes albumin (mg/l)	24,4 (17,1-60,7)	24,11 ± 9,9
24-h vizelet immunreaktív albumin (mg/l)	1,0 (0,2-14,0)	1,0 (3,0)
24-h vizelet nem immunreaktív albumin (mg/l)	27,2 ± 15,6	21,1 ± 9,1
Az összes és immunreaktív vizeletalbumin aránya (%)	75,4 ± 32,5	89,1 ± 14,2
Vizelet noradrenalin (nmol/mmol kreat.) [§]	26,0 ± 14,9	24,9 ± 14,7
Vizelet adrenalin (nmol/mmol kreat.) [§]	7,6 ± 4,3	6,2 ± 1,8
Vizelet dopamin (nmol/mmol kreat.) [§]	102,6 ± 54,8	128,2 ± 53,1
Plazma-EO (pmol/l)	14,7 ± 8,5	14,6 ± 6,1
Vizelet-EO (pmol/nap)	99,4 ± 30,9	102,4 ± 46,4
Pro-BNP (pg/ml)	176,2 (90,5-373,8)	30,5 (9,8-81,1)
Intima-média-vastagság (mm)	0,81 ± 0,14	0,70 ± 0,23

Az adatok megjelenítése átlag ± szórás, vagy medián és (interkvartilis tartomány); valamint a kategorikus változók esetén gyakoriság (%)

§, Reggeli vizeletből mérve, * p<0,05 a MONO csoporthoz viszonyítva

p<0,05 a MONO csoporthoz viszonyítva a kor, a HbA_{1c}, bal kamrai végszisztolés átmérő és térfogat, valamint az ajekciós frakcióval való korrigálás után

A szérumban a pro-BNP szint magasabb volt a MONO-, míg a HbA_{1c} szintje magasabb volt a DUAL-csoportban, azonban azon paraméterekkel való korrekció után, amelyekben a két csoport különbséget mutatott (HbA_{1c}, bal kamrai végszisztolés átmérő és -térfogat, és ejekciós frakció) már nem találtunk szignifikáns különbséget. Ha a korrekció csak a HbA_{1c}-vel történt, akkor csak a pro-BNP szintje maradt szignifikánsan magasabb a MONO-csoportba ($p=0,045$).

A pro-BNP szintje az összes echokardiográfiás paraméterrel korrelált ($R=0,362$ -től $R=0,509$ -ig) mindkét csoportban (az adatokat nem tüntettük fel).

A két csoport kardiovaszkuláris paramétereit a 6. táblázat foglalja össze.

6. táblázat A MONO- és DUAL-csoport kardiovaszkuláris paramétereit

	MONO	DUAL
24-h átlagos szisztolés vérnyomás (Hgmm)	127,2 ± 15,0	130,4 ± 19,9
24-h átlagos diasztolés vérnyomás (Hgmm)	70,5 ± 9,4	73,6 ± 8,5
24-h átlagos artériás középnyomás (Hgmm)	88,7 ± 10,3	92,2 ± 11,6
24-h átlagos pulzusnyomás (Hgmm)	56,5 ± 10,3	56,0 ± 13,0
Nappali átlagos szisztolés vérnyomás (Hgmm)	129,3 ± 14,6	132,3 ± 19,2
ABPM Nappali átlagos diasztolés vérnyomás (Hgmm)	73,1 ± 9,6	77,0 ± 8,8
Nappali átlagos artériás középnyomás (Hgmm)	91,8 ± 10,0	95,5 ± 11,5
Nappali átlagos pulzusnyomás (Hgmm)	55,8 ± 10,7	54,7 ± 12,6
Éjszakai átlagos szisztolés vérnyomás (Hgmm)	120,8 ± 13,9	127,4 ± 22,5
Éjszakai átlagos diasztolés vérnyomás (Hgmm)	63,8 ± 8,4	68,1 ± 8,8
Éjszakai átlagos artériás középnyomás (Hgmm)	82,5 ± 9,4	87,7 ± 12,5
Éjszakai átlagos pulzusnyomás (Hgmm)	56,6 ± 10,5	59,0 ± 16,4
Bal kamrai végszisztolés átmérő (mm)	32,7 ± 5,2	29,2 ± 3,2*
Bal kamrai végdiasztolés átmérő (mm)	48,7 ± 5,3	46,7 ± 3,6
Bal kamrai végszisztolés térfogat (ml)	39,5 ± 19,9	27,1 ± 8,9*
Bal kamrai végdiasztolés térfogat (ml)	125,1 ± 41,7	108,7 ± 25,5
ECHO Bal kamrai végdiasztolés térfogat index (ml/m ²)	67,0 ± 20,5	57,4 ± 13,6
Bal kamrai tömeg index (g/m ²)	153,6 ± 47,4	138,8 ± 24,7
Ejekciós frakció (%)	56,6 ± 4,5	60,6 ± 4,3*
E/A	0,87 ± 0,34	0,91 ± 0,30
Stroke index (ml/m ²)	45,8 ± 11,8	43,1 ± 10,4
Cardiac index (l/min/m ²)	3,14 ± 0,88	2,95 ± 0,54
E-tracking Karotison mért PWV (m/s)	7,3 ± 1,6	6,9 ± 1,4
Karotison mért Aix (%)	23,7 ± 12,3	16,4 ± 9,4
Karotison mért β-stiffness	13,0 ± 8,6	10,8 ± 4,0

Az adatok megjelenítése átlag ± szórás (S.D.)

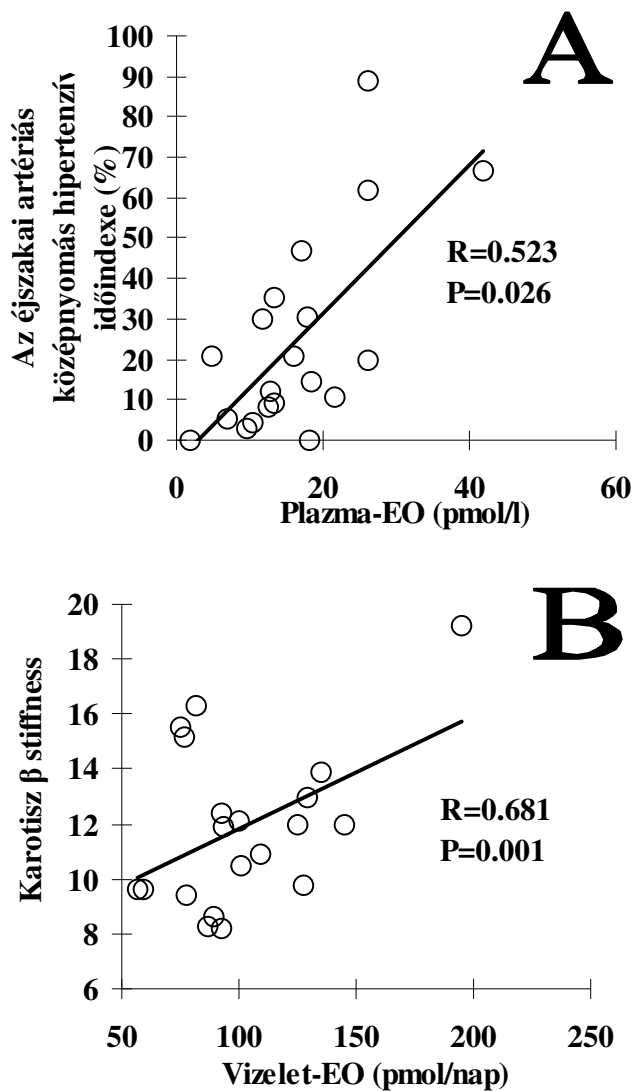
* $p < 0,05$ a MONO-csoporthoz viszonyítva a korral történő korrekció után
 ABPM, ambulatory blood pressure monitoring; ECHO, echocardiography; E/A, A korai (E) és a késői (A) áramlási csúcsebesség hányadosa; SI, stroke index; CI, cardiac index, PWV, pulzushullám terjedési sebesség; Aix, augmentációs index

Nem találtunk különbséget a vérnyomás- és az artériás stiffness paraméterekben a két csoport vonatkozásában. Az echokardiográfia során kapott paraméterek vizsgálatakor a DUAL-csoportban szignifikánsan kisebb bal kamrai végszisztolés átmérőt és térfogatot találtunk, mint a MONO-csoportban, ellenben az ejekciós frakció a DUAL-csoportban szignifikánsan magasabbnak mutatkozott. A HbA_{1c}-vel történt

korrekció után azonban csak az ejekciós frakció maradt szignifikánsan nagyobb a DUAL-csoportban.

EO

A plazma-EO szintje korrelált az éjszakai szisztolés ($R=0,512$, $P=0,049$), MAP ($R=0,541$ $P=0,038$), az éjszakai MAP hipertenzív időindexével (15. ábra A panel). Emellett a vizelet-EO szignifikáns összefüggést mutatott az artériás stiffness paraméterekkel, mint a karotisz PWV ($R=0,621$ $P=0,005$) és a β -stiffness értékével (15. ábra B panel) a MONO-csoportban. Ezeket a korrelációkat nem találtuk meg a DUAL-csoportban.

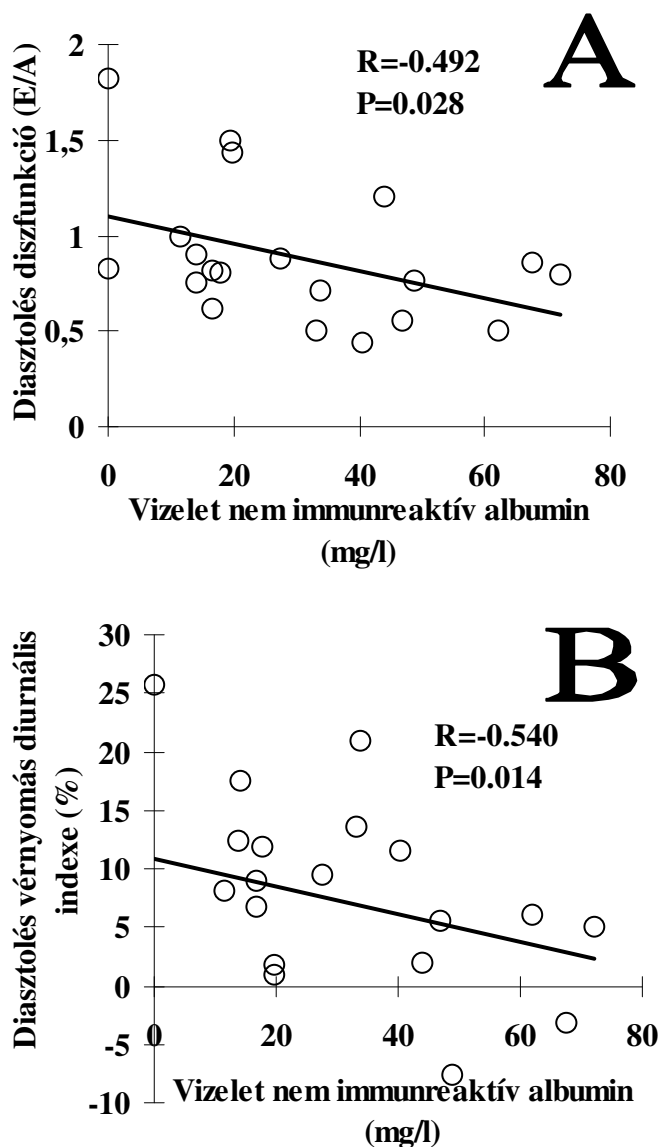


15. ábra A plazma- és vizelet-EO összefüggései az éjszakai vérnyomás és érfali rugalmasság számított paraméterével a MONO-csoportban

Vizeletalbumin

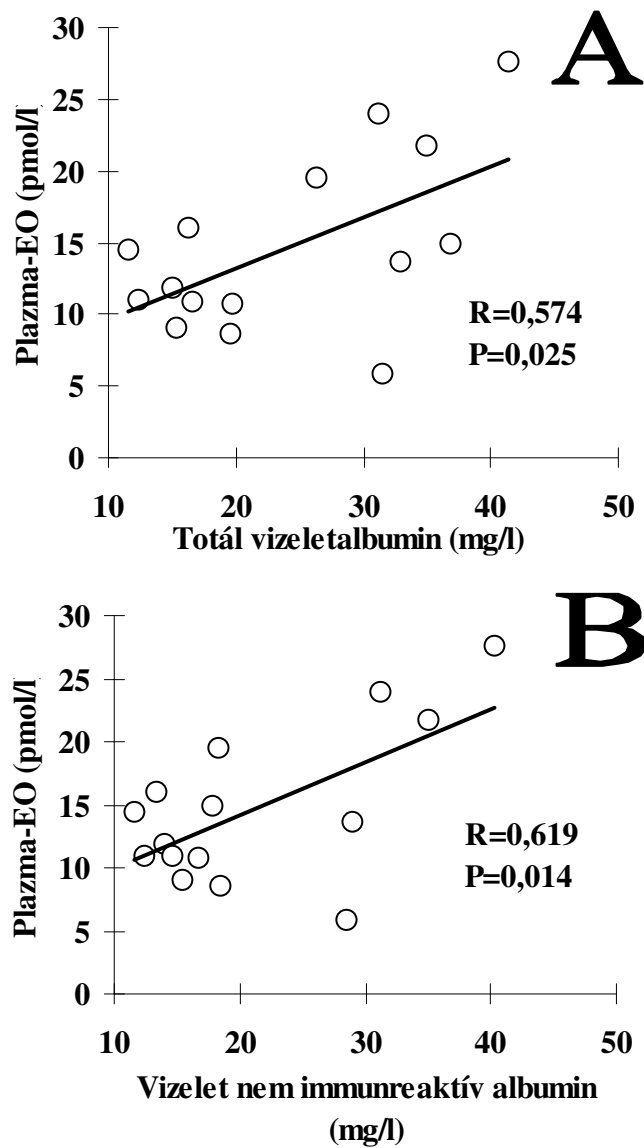
Az immunreaktív albumin nem korrelált egyik hormonnal vagy kardiovaszkuláris paraméterrel, sem a MONO-, sem a DUAL-csoportban.

A MONO-csoportban az összes vizeletalbumin összefüggést mutatott néhány vérnyomás paraméterrel, mint a 24 órás és a nappali diasztolés hipertenzív idő indexxel ($R=0,611$, $P=0,034$ és $R=0,654$, $P=0,026$) és a szív diasztolés diszfunkciójával ($R=-0,467$, $P=0,049$). A nem immunreaktív albumin szorosabb összefüggést mutatott a szív diasztolés diszfunkciójával, valamint a diasztolés diurnális index-szel (16. ábra).



16. ábra A vizelet nem immunreaktív albumin összefüggései a különböző kardiovaszkuláris paraméterekkel a MONO-csoportban.

A DUAL-csoportban az összes és a nem immunreaktív albumin csak a plazma-EO-val mutatott szignifikáns összefüggést (17. ábra).



17. ábra A vizelet összes és nem immunreaktív albumin összefüggései a plazma-EO-val a DUAL-csoportba.

7. MEGBESZÉLÉS

7.1. Az EO kapcsolata a vérnyomással, az érfali merevséggel és a diasztolés diszfunkcióval

Az EO és a vérnyomásértékek összefüggése már régóta ismert kezeletlen hipertóniás betegeken végzett vizsgálatokból, kezelt hipertóniás betegeken azonban nem ismertek adatok az EO-szintek és a kardiovaszkuláris állapot mutatóinak kapcsolatáról. A betegcsoportokat úgy válogattuk, hogy a különböző társbetegségek esetleges befolyásoló hatását is mérni tudjuk. Emellett törekedtünk arra, hogy az EO-mintavételek és a vizsgálatok (echokardiográfia, ABPM, artériás stiffness meghatározása) azonos időpontban, rövid időn belül (reggel 7.30-8.30 között), azonos körülmények között megtörténjenek. Így egyrészt kiküszöböltük az eddig nem ismert cirkadián ritmusból adódó eltéréseket, másrészt a reggeli kardiovaszkuláris állapot felmérése számos nagy tanulmány szerint egy különösen jelentős időszak. A vizsgálatunkba bevont kezelt betegek vérnyomása a céltartományban volt. Az így kapott eredmények feltételezésünk szerint jól tükrözik a betegek hajnali, reggeli kardiovaszkuláris állapotát, amely azért fontos, mert az éjszakai és hajnali kardiovaszkuláris eltérések (pl.: magas vérnyomás) fontos rizikófaktorai az akut kardio/ cerebrovaszkuláris történéseknek.¹¹⁹

Első vizsgálatunkban a legmagasabb plazma-EO-szintet a HT+DM+VE csoportban mértünk, amely nem meglepő, hiszen a korábbi irodalmi adatok is azt sugallták, hogy a társbetegségek számának növekedésével az EO szintje is potenciálisan együtt emelkedik. Irodalmi adatok szerint az ugyanezen metodikával mért plazma-EO szintje egészséges embereken 9-12 pmol/l között mozgott.¹²⁰ Vizsgálatunkban ennek átlagos szintje $14,7 \pm 5,7$ pmol/l volt, annak ellenére, hogy a betegek RAS-ra ható és β -blokkoló gyógyszert szedtek, amelyek csökkentik az EO-termelést.⁴² Az EO plazmaszintje vizsgálatunkban alacsonyabb volt, mint más vizsgálatokban, azonban a kapott eredmények nehezen hasonlíthatók össze az eltérő típusú ellenanyagok és metodika miatt.^{52,53,56,114,120}

Eredményeink alapján a plazma-EO szintje szoros összefüggést mutat az éjszakai vérnyomás- paraméterekkel, így felmerül a szerepe a magasabb éjszakai vérnyomás

kialakulásában/fenntartásában. A fent leírt, a plazma-EO szintje és az éjszakai vérnyomás közötti összefüggést kezelt betegeken korábban még nem vizsgálták. Különösen jelentős az eredmény, hiszen számos korábbi tanulmány az EO-szint és az egyszer mért ambuláns vérnyomás paraméterekkel mutatott összefüggést, amelyek kevésbé jól tükrözik a betegek valós vérnyomás profilját.¹²¹ Hasonló szignifikáns korrelációt találtak az éjszakai vérnyomással kezeletlen betegeknél.¹²² Az EO-eltávolítás esetleges cirkadián ritmusa eddig nem ismert, azonban úgy tűnik, hogy a digitálisszerű anyagok ürítése nem egyenletes, egy korábbi vizsgálatban csökkent éjszakai endogén digitális-ürítést mértek.⁴⁵

Az EO frakcionált exkréciója a veseelégtelen csoportokban magasabb volt, mint a nem vesebeteg csoportokban; az EO frakcionált exkréciója azonban minden csoportban lényegesen nagyobb volt, mint amennyit egy korábbi vizsgálatban, egészséges férfiakban találtak (11,5-31,2 versus 2%).⁵² Ez felveti a lehetőségét annak, hogy a vese nagy szerepet játszik az EO szintjének szabályozásában. Mivel a nappali és éjszakai vizeletet nem gyűjtöttük külön, így ezen időszakokban az EO-ürítés esetleges különbségét továbbra sem ismerjük. Ennek alapján nem tudjuk egyértelműen megállapítani, hogy az éjszakai magasabb vérnyomásért, a megváltozott éjszakai EO ürítés-e a felelős. Ismert azonban, hogy az egészséges és szívelégtelen betegek éjszakai vérnyomását a digitális szedése szignifikánsan befolyásolta, feltehetően a fokozottabb éjszakai szimpatikus tónus miatt.⁵⁹⁻⁶¹ Vizsgálatunkban a reggeli noradrenalin szintje pozitív összefüggést mutatott a vizelet-EO-szintjével, amely megerősíti a feltevést, amely szerint az EO hatása a szimpatikus tónus befolyásolása által is érvényesül.

Az éjszakai vérnyomás kialakításában azonban mindezek mellett több további tényező is szerepet játszik, ilyenek az alvási apnoe szindróma, a beteg éjszakai aktivitása. Az alvási apnoe szindrómában szenvedő betegek éjszakai szimpatikus tónusa megemelkedett, amelyhez emelkedettebb endogén digitális szintet is mértek.^{80,81} Az éjszakai felébredések és mozgás endogén digitális felszabadulást okoz, amelynek eredményeként a betegek vérnyomása megemelkedik. Az alvási apnoe megszüntetésével a vérnyomás normalizálódhat.^{80,81}

Az EO szerepet játszik a magasvérnyomás kialakításában azáltal, hogy növeli a szimpatikus tónust, direkt pro-hipertrofikus hatást fejt ki a szívizomzaton és az erek

simaizomzatán, valamint kardiomiopátiát okoz kísérletes körülmények között veseelégtelen patkányokon.⁶⁹⁻⁷² In vitro human szövettanyészen is hasonló szívizomzatbeli elváltozásokat találtak.⁶⁹

Vizsgálatunkban kapcsolatot találtunk a HT+DM+VE csoport plazma-EO-szintje és a bal kamra diasztolés diszfunkciója között. Hasonló összefüggést mutattak ki a két paraméter között hipertóniás szülők utódai körében is.⁵⁸ Végstádiumú vesebetegek között a plazma-EO-szint és számos bal kamrai paraméter mutatott összefüggést, amely megerősíti azon feltételezést, hogy az EO hozzájárul a kardiális hipertrófia kialakulásához.⁶⁶

Ismert, hogy patkányokban az átriális-nátriuretikus-faktor (ANP) szabályozza a Na^+/K^+ -ATP-áz inhibitorok agyi és plazma szintjét.¹²³ Ezek alapján feltételeztük, hogy a pro-BNP szintje összefüggést mutat az EO-szintekkel, de ezt a direkt kapcsolatot kezelt hipertóniás betegeknél nem sikerült bizonyítani.

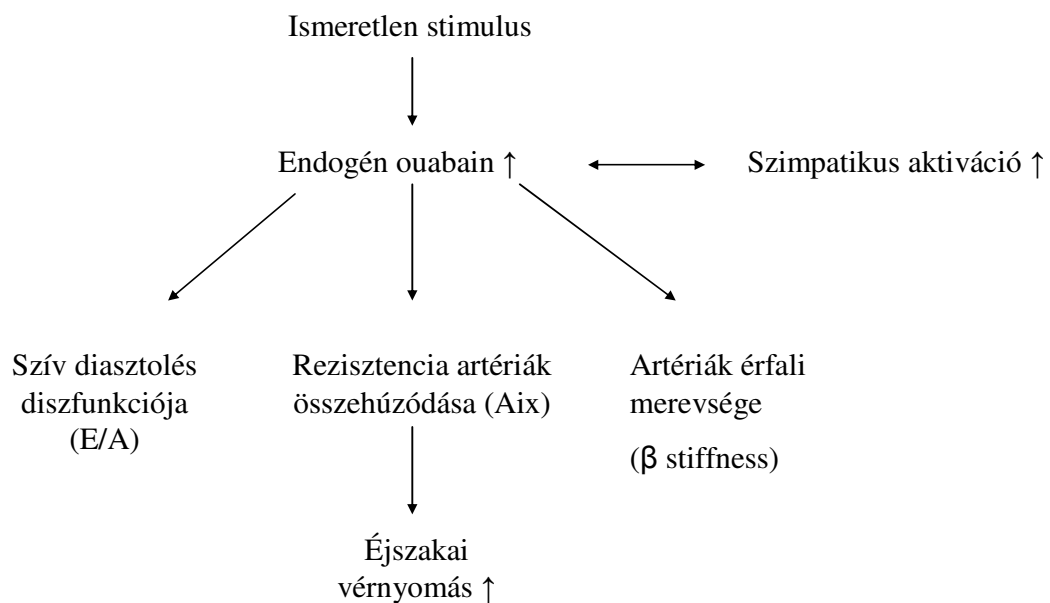
Első vizsgálatunk másik fontos eredménye, hogy az emelkedett plazma-EO szintje szignifikáns kapcsolatot mutatott az érfali merevség mértékével. A karotison non-invazív módon mért érfali merevség paraméterei, mint a pulzushullám-terjedési sebesség (PWV) és az augmentációs index (Aix) és az EO-szint közötti összefüggést korábban kezelt betegeken még nem vizsgálták. Ismert, hogy az emelkedett érfali merevség rizikófaktora számos kardiovaszkuláris betegségnek és jelenléte összefüggést mutat az inzulin-rezisztenciával és a veseelégtelenséggel.^{124,125,126}

Az endogén digitáliszerű anyagok, mint az EO, a Na^+/K^+ -ATP-áz gátlásán keresztül növelik az erek simaizomzatának kalcium szintjét és tónusát, valamint hosszú távú adagolásuk a fibroblasztok aktivitásának fokozásán át kollagén-felhalmozódást és érfali merevséget okoz állatkísérletes modellben.¹²⁷ Vizsgálatunkban inverz korrelációt találtunk a plazma EO és az karotiszok augmentációs indexe között, valamint szignifikáns pozitív összefüggést találtunk a vizelet-EO-ürítés és a karotiszok β -stiffness és PWV értékei között. Korábbi tanulmányok szerint az artériás érfali merevséget a kor, a BMI, a szisztolés vérnyomás, valamint a diabétesz mellitusz és a csökkent glomeruláris filtrációs ráta (GFR) határozta meg.^{128,129}

Az EO megváltozott kiválasztása az érfali merevség kialakulásában szerepet játszik, ugyanis a többváltozós elemzésben a karotisz β -stiffness független prediktora lett. Ez egy újabb komponens lehet a csökkent vesefunkció és az artériás stiffness kialakulása között. Első vizsgálatunk azonban keresztmetszeti jellegénél fogva nem

alkalmas ok-okozati viszony tisztázására, és a kapott összefüggések további részletesebb vizsgálatokat tesznek még szükségessé.

Összefoglalásképpen elmondhatjuk, hogy a plazma reggeli EO szintje az éjszakai vérnyomással és a bal kamrai diasztolés diszfunkcióval, míg a megnövekedett vizelet-EO-ürítés (feltehetőleg a fokozott termelés miatt is) főként az érfali merevséggel mutatott szoros kapcsolatot. Ezen eredményeinket a 21. ábrán foglaltuk össze. Eredményeink alapján az EO szintje jól használható marker lehet a hipertóniában szenvedő betegek célszervkárosodásának megállapítására. A kapott korrelációs eredmények alapján a jövőben érdemes az endogén digitálisszerű anyagok cirkadián eloszlását vizsgálni mind egészséges, mind hipertóniás egyéneknél. Az emelkedett EO-szint szövődményekkel rendelkező hipertóniás betegekben az sugallja, hogy a konvencionális magasvérnyomás terápia nem normalizálja az EO szintjét, így az EO gyógyszeres blokkolására lehet szükség a célszerv-károsodások csökkentése érdekében.



21. ábra Eredményeink alapján az emelkedett EO-szint által létrehozott kardiovaszkuláris és hormonális eltérések összefoglalója

7.2. Oxidatív stressz markerek és az EO kapcsolata

Az irodalomban számos tanulmány számol be szignifikáns összefüggésekről az oxidatív stressz markerek szintjei, valamint a különböző kardiovaszkuláris paraméterek között. Ismert, hogy a redukált glutation negatívan korrelál a hipertónia súlyosságával kezeletlen hipertóniás betegekben.¹³⁰ A plazma lipid-peroxidációs paraméterei emelkedett szintet mutatnak dilatatív kardiomiopátiás betegek körében, és értékük negatívan korrelált a bal kamrai ejekciós frakcióval.¹³¹

A proteinek oxidatív károsodásának következtében létrejövő termékek (a reaktív karbonil származékok, valamint az oxidált SH csoportok) összefüggést mutattak mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomással hipertóniás betegekben, és szintjük magasabb volt, mint az egészséges kontroll személyek esetén.¹³²

Korábbi tanulmányok eredményei alapján a karotiszok állapota és a szabad gyökök termelése között szoros kapcsolat van, mivel az IMT mértéke és a monociták által termelt szabad gyökök termelése között kapcsolatot találtak hipertóniás betegekben. Emellett az oxidált fehérje-származékok szintje és az artériás érfali merevség között szintén összefüggés mutatkozott egészséges egyéneknél.^{133,134}

Mindezek mellett az is ismert, hogy bizonyos gyógyszerek, mint az ARB-k, az alfa- és béta-receptor-blokkolók csökkentik az oxidatív markerek szintjét hipertóniás egyéneknél.¹³⁵

Mivel az endogén digitálisok hatással vannak a sejten belüli szabad gyökök képződésére, ezek alapján azt feltételeztük, hogy az EO és a hidroxil szabadgyök-marker (o-tyr) szintje is összefüggést mutat. Eredményeink szerint nem találtunk kapcsolatot a plazma és vizelet o-tyr szintje és az EO-szintek között sem az összpopulációban, sem a többi csoportban. Egy korábbi vizsgálatunkban szignifikánsan magasabb vizelet o-tyr-szintet mértünk diabetészes és vesebetegek körében, mint egészséges kontrollokban.⁹¹

Ezen vizsgálatban az o-tyr szintjeinek összefüggéseit a különböző kardiovaszkuláris paraméterekkel nem vizsgálták. Jelen vizsgálatunkban nem találtunk direkt összefüggést az o-tyr és a vérnyomás-paraméterek, valamint a kardiovaszkuláris károsodások egyéb paraméterei között sem az összpopulációban, sem a csoportokban. A plazma-o-tyr szintje vizsgálatunk kizárólag a vesefunkcióval

mutatott összefüggést, ami alátámasztja korábbi feltételezésünket, amely szerint az o-tyr szint egyik fő regulátora lehet a vese. Az EO és az oxidatív stressz marker, o-tyr közötti direkt összefüggés hiányának oka, hogy az o-tyr plazmaszintjét nagy valószínűséggel a vesefunkció, a betegek kezelése és bizonyos csoportokban a diabétesz mellitusz megléte is, mint befolyásoló tényező elfedhette. Összegezve, az o-tyr releváns molekula, amely jól jelzi az oxidatív stressz mértékét, ám szintje nem mutatott direkt összefüggést sem az ismert gyulladásos markerekkel, mint a CRP és a kilégzett NO mennyiségével, sem a különböző kardiovaszkuláris paraméterekkel kezelt hipertóniás egyéneknél.

7.3. Kombinációs és nem kombinációs RAS-gátlás hatása az EO-termelésre, valamint a vizeletalbumin különböző formáira

A RAS blokkolása évtizedek óta használt mind anti-hipertenzív hatásuk, mind a célszerv-károsodást csökkentő hatásuk miatt.⁹⁵ Több multicentrikus, randomizált vizsgálat elemezte, a kettős RAS-gátlás esetleges kedvezőbb hatásait a kardiovaszkuláris mortalitásra, morbiditásra és a célszerv-károsodások csökkentésére az egyszeres RAS-gátlással szemben.⁹⁹⁻¹⁰⁵ Hasonló felmérést végeztünk második vizsgálatunkban, ahol a hosszabb ideje csak ACE-gátlót, valamint az ACE-gátlót és ARB-t együttesen szedő hipertóniás veseelégtelen betegek kardiovaszkuláris állapotát mértük fel, olyan paraméterekre is fókuszálva, amelyekről ezidáig kevés információval rendelkezünk. Eredményeink alapján a kardiovaszkuláris rendszer számos markere/paramétere nem mutatott különbséget a hosszú távú MONO- és a DUAL-blokkásban részesült hipertóniás társbetegséggel rendelkező betegek körében. Vizsgálatunk eredményei hasonlóak, mint a korábbi nagyobb tanulmányoké, mint pl. az ONTARGET-é.^{104,105} A bal kamrai paraméterek és az ejekciós frakció azonban szignifikánsan jobbnak bizonyult a DUAL-csoportban, mint a MONO-ban, valamint a pro-BNP-szint a DUAL-gátlás hatására szignifikánsan alacsonyabb volt, ami jobb kardiális kimenetelre utalhat. Az echokardiográfiás eltérések feltételezésünk szerint nem magyarázhatóak az eltérő szimpatikus aktivitással, valamint ennek a gátlásával, mivel a vizelet-katekolamin szintje, valamint a β -blokkoló használat gyakoriság a két csoportban hasonló volt.

EO

Ismert, hogy az EO termelése ACE-inhibitorral csökkenthető, de nincs adat a kettős RAS-gátlás esetleges további EO-csökkentő hatásáról. Keresztmetszeti vizsgálatunk eredménye szerint az EO plazma és vizelet szintje nem volt alacsonyabb a DUAL-csoportban, mint a MONO-ban.

A MONO-csoportban az EO szintje számos vérnyomás és stiffness paraméterrel korrelált, azonban a DUAL-csoportban - a vizelet albuminszint kivételével - egyéb paraméterrel nem mutatott összefüggést.

Egy korábbi tanulmányban nem találtak összefüggést a digitálisszerű faktorok, valamint a vizelet immunreaktív albumin szintje között hipertóniás cukorbetegekben.⁷⁷

Jelen megfigyelésünk - a csak MONO-csoportban talált korrelációkra alapozva - azt sejteti, hogy habár az EO szintje nem csökken jobban DUAL-gátlás hatására, azonban valószínűleg csökkenti azon intracelluláris utak aktivitását, amelyek szívizomzat hipertrófiát okoznak. Bár a kettős RAS-gátlást az érfali rugalmasság megőrzése szempontjából hatékonyabbnak gondolhatnánk, mint az egyszeres gátlást, az irodalmi adatok alapján azonban a kardiovaszkuláris mortalitásban nem látható előny.

Vizeletalbumin

A vizeletalbumin-ürítés pontos meghatározása kritikus lehet, mivel a megfelelő technikával mérve a szignifikáns albuminürítés alapján már évekkel előbb kimutathatja a vesék érintettségét. Ez - különösen diabéteszes nefropátia esetén - nagymértékben befolyásolja többek között a renin-angiotenzin-rendszerre ható gyógyszeres terápiát. A vizelet-albuminnak két formája ismert, amelyeket immunológia módszerekkel való kimutathatóságuk alapján immunreaktív és nem immunreaktív albumincsoportra oszthatunk. Az ún. összes (immun-reaktív és nem immunreaktív együtt) albumin legpontosabban HPLC-vel meghatározható. Számos, a klinikumban használt metodikával (RIA, IN, IT) csak az immunreaktív forma határozható meg. Vizsgálatunkban mindkét albumin mennyiségét és azok korrelációit elemeztük MONO és DUAL RAS-gátló kezelésben részesülő betegek

körében. Mivel a kettős blokádnak hatását az immunreaktív albuminszintre már ismerjük, így az eddig kevésbé vizsgált nem immunreaktív albuminra összpontosítottunk.

Eredményeink azt mutatták, hogy a vizeletalbumin szintje magasabb volt a HPLC-s módszerrel mérve, mint immun-turbidimetriával és a HPLC-vel meghatározott szintje korrelált számos kardiovaszkuláris paraméterrel (vérnyomás és diasztolés diszfunkció) a MONO-csoportban; míg a DUAL-csoportban csak a plazma-EO szintje korrelált a totál és a nem immunreaktív albuminnal. Az immunreaktív vizeletalbuminnal egyik paraméter sem mutatott összefüggést.

Vizsgálatunkban a vizeletalbumin szintje a normális tartományban volt, ami azt mutatja, hogy a betegek kezelése megfelelő volt, azonban az ürülő összes albumin nagyobb része nem immunreaktív formában távozott. Ehhez hasonló eredményeket kaptak korábban nem diabéteszes önkéntesek vizeletének elemzésekor is.¹¹²

A nem immunreaktív albumin természete és képződése pontosan nem ismert; egy tanulmány szerint a nem immunreaktív albumin olyan hasított albumint tartalmaz, amelyet nem kovalens kötések tartanak össze.^{136,137} A nem immunreaktív albumin természetét kardiovaszkuláris betegségek szenvedők vizeletében Nakayama elemezte részletesen, aki azt találta, hogy ezen frakció fő alkotója módosított albumin, emellett kis mennyiségben transzferrint és egyéb molekulákat is tartalmaz.¹³⁸ Az is ismert, hogy a reabszorbeálódott albumin lebomlik a vese tubulus sejtjeiben és a degradált termékek mind az apikális, mind a basolaterális oldalon exkretálódnak és megjelennek a vizeletben.¹³⁹ Korábbi általunk és mások által leírt HPLC-s eredmények szerint a HPLC-s albumincsúcs kevesebb, mint 15%-ban tartalmaz nem albumin természetű komponenseket.¹¹¹⁻¹¹³

Ezen vizsgálatunk korlátja a felmérés keresztmetszeti jellege, valamint az, hogy a betegek átlagos terápiás időtartama 2,5 év volt.

Második vizsgálatunkat összefoglalva azt találtuk, hogy a MONO és DUAL RAS-gátlás multimorbid betegekben nem okozott kardiovaszkuláris rizikócsökkentést, kivéve néhány echokardiográfiás paramétert és a pro-BNP-t. Az EO szintje, amely egy új marker a kardiovaszkuláris állapot meghatározásában, a két csoportban nem különbözött. Az EO szintje összefüggést az éjszakai vérnyomás értékekkel és az érfali merevséggel csak a MONO-csoportban mutatott. A vizelet nem immunreaktív albumin jelentősen magasabb arányban található meg a kezelt beteg vizeletében,

mint az immunreaktív forma, emellett számos, eddig nem ismert összefüggést mutatott a kardiovaszkuláris paraméterrel a MONO-csoportban.

8. TÉZISEK

1. Az EO-szint jól használható markere a kardiovaszkuláris állapot károsodásának kezelt hipertóniás, illetve társbetegséggel rendelkező hipertóniás betegekben.
2. Az EO plazmaszintje a társbetegségekkel (diabétesz mellitus és vesebetegség) rendelkező hipertóniásokban magasabb.
3. Az EO szintje korrelál az érfali merevség mértékével.
4. Az EO jól korrelál az éjszakai magas vérnyomással, feltehetőleg a szimpatikus idegrendszer aktivitásának fokozásán keresztül.
5. A hidroxil szabadgyök-marker o-tyr nem mutat összefüggést az EO-szintekkel kezelt hipertóniásokban.
6. Az o-tyr plazmaszintjének egyik fő regulátora a vese.
7. Az EO plazma- és vizeletszintje nem csökkenthető jobban az ACE-gátló mellé adagolt ARB-vel.

9. A dolgozat alapjául szolgáló közlemények és előadások

I. Teljes közlemények

1. Selective association of endogenous ouabain with subclinical organ damage in treated hypertensive patients.

Nagy G, Gaszner B, Lányi E, Markó L, Fehér E, Cseh J, Kőszegi T, Betlehem J, Sulyok E, Cziráki A, Wittmann I. *J Hum Hypertens*. 2011;25(2): 122-129.

IF 2010: 2,176

2. Effect of mono and dual blockade of the renin-angiotensin system on the markers of cardiovascular status in hypertensive patients with mild and moderate renal failure

Gábor Nagy, István A. Szijártó, Balázs Gaszner, Éva Lányi, Lajos Markó, Ákos Mérei, Gergő A. Molnár, Kinga Németh, József Betlehem, István Wittmann
Kidney and Blood Pressure Research 2011;34(3): 150-157. **IF 2010: 1,500**

3. Az endogén ouabain összefügg a hipertóniás betegek kardiovaszkuláris állapotával

Nagy G, Gaszner B, Lányi E, Markó L, Fehér E, Cseh J, Kőszegi T, Betlehem J, Sulyok E, Cziráki A, Wittmann I.
Magyar Belorvosi Archívum 2010;63(6):435-442.

II. Tudományos levél

1. Nighttime activity influences the evaluation of ambulatory blood pressure monitoring. In response to Agarwal R, Light RP, Bills JE, Hummel LA.

Hypertension. 2009;54:646-651.

Nagy G, Nagy CB *Hypertension* 2009; 54,6 e 139.

IF 2009: 6,614

III. Idézhető absztrakt

1. Endogén ouabain és a szubklinikai szervkárosodások kapcsolata hipertóniás vesebetegekben

Nagy Gábor, Gaszner Balázs, Mérei Ákos, Lányi Éva, Markó Lajos, Cseh Judit, Sulyok Endre, Betlehem József, Cziráki Attila, Wittmann István

Magyar Nephrologiai Társaság Nagygyűlése 2009. szeptember 17-19. Siófok
Hypertonia és Nephrologia, 2009.13 (S1) 39-39.

2. Hidroxil szabadgyök-termelés hipertóniás veseelégtelen betegekben

Nagy Gábor, Gaszner Balázs, Lányi Éva, Markó Lajos, Molnár A. Gergő, Betlehem
József, Wittmann István

Magyar Nephrologiai Társaság Nagygyűlése 2010. október 21-23. Szeged
Hypertonia és Nephrologia, 2010.14 (S1) 27-27.

Impakt faktor összesítő

Dolgozathoz kapcsolódó cikkek/előadások kumulatív impakt faktora: 10,29

Ebből: Eredeti közlemény: 3,676

 Tudományos levél: 6,614

**Dolgozathoz nem kapcsolódó cikkek/előadások kumulatív impakt faktora:
89,324**

Ebből: Eredeti közlemény: 2,459

 Tudományos levél: 6,254

 Előadás idézhető absztraktja: 80,611

Összes kumulatív impakt faktor: 99,614

A dolgozathoz nem kapcsolódó egyéb publikációk

Közlemények

1. Amit minden egészségügyi dolgozónak tudni illik a felnőtt újraélesztés legújabb európai irányelveiről

Betlehem J, Puskás T, Nagy G, Marton J, Galbavi M.
Nővér 2006. 19. évfolyam 2. szám 13-18. oldal

2. Poszttraumás stressz a budapesti mentődolgozók körében

Marton-Simora József, Gyermán Orsolya, Dr. Nagy Gábor, Deutsch Krisztina, Dr. Göndöcs Zsigmond, Dr. Betlehem József
Nővér 2008. 21. évfolyam 4. szám 10-19. oldal

3. A magyarországi sürgősségi osztályok dolgozói megítélése

Dr. Nagy Gábor, Fullér Noémi, Marton-Simora József, Dr. Betlehem József
Nővér 2008. 21. évfolyam 6. szám 3-10. oldal

4. A mentőtisztképzés helye a Bologna típusú képzési rendszerben és az Európai Felsőoktatási Térségben

Dr. Betlehem József, Köcse Tamás, Dr. Puskás Tivadar, Deutsch Krisztina, Marton-Simora József, Dr. Nagy Gábor, Dr. Göndöcs Zsigmond
Magyar Mentésügy 2008. 28. évfolyam 1-4. szám 114-122. oldal

5. Fárasztóbb-e a 2005-ben bevezetett protokoll alapján az egy személy által végzett eszköz nélküli alapszintű újraélesztés?

Betlehem József Dr, Marton József, Nagy Gábor Dr, Gál Nikolett
Magyar Mentésügy 2008. évfolyam 1-4. szám 75-79. oldal

6. Prehospital Emergency Care in Hungary: What Can We Learn from the Past?

Gondocs Z, Olah A, Marton-Simora J, Nagy G, Schaefer J, Betlehem J.
J Emerg Med. 2010 Jan 23. [Epub ahead of print]
IF 2010: 1,552

7. The changing face of European healthcare education: The Hungarian experience.

Betlehem J, Kukla A, Deutsch K, Marton-Simora J, Nagy G.
Nurse Education Today 2009. 29(2): 240-245.
IF 2009: 0,907

8. A pulzoximéter szimulátor használata mentőtiszt hallgatók újraélesztés vizsgája során

Marton-Simora József, Dr. Nagy Gábor, Deutsch Krisztina, Dr. Betlehem József
Nővér, 2010. 23 évfolyam 4. szám 31-40. oldal

9. A helyszín szimulációjának minősége az elsősegélynyújtás gyakorlati oktatásában

Marton-Simora József, Falk Dóra, Dr. Nagy Gábor, Deutsch Krisztina, Dr. Betlehem József

Tudományos levél

1. Is hypotension a real predictive outcome factor after cardiac arrest? A response to: Significance of arterial hypotension after resuscitation from cardiac arrest

Gábor Nagy, Csaba B. Nagy, József Betlehem
Crit Care Med. 2010; 38(4):1234-5.
IF 2010: 6,254

Idézhető absztraktok

1. The development and the use of BLS skills measurement tool among health care professional students

Betlehem Jozsef, Marton Jozsef, Gabor Nagy
Resuscitation 2006; 70(2):323.
IF 2006: 2,314

2. Is the new BLS protocol (2005) easier to learn?

J Betlehem, G Nagy, J Marton, Zs Gondocs
Circulation 2007; 116(16) Suppl.:938.
IF 2007: 12,745

3. Changed circumstances: Is a new factor in BLS education?

Jozsef Betlehem, Gabor Nagy, Jozsef Marton, Gabor Demsa, Imre Boncz,
Crit Care Med 2007; 35(12) (Suppl) A 127
IF 2007: 6,283

4. A helyszín és a vizsgáztató ismertségének hatása a hallgató újraélesztés vizsgán nyújtott teljesítményére

Dr. Nagy Gábor, Marton József, Demsa Gábor, Dr. Betlehem József
Újraélesztés 2007. évfolyam 2. szám 67 oldal

5. The role of family visiting in the hospital during stroke rehabilitation

J. Betlehem, B. Panovics, J. Marton-Simora, G. Nagy
Cerebrovascular diseases 2009; 27(6) Suppl.:238.
IF 2009: 3,535

6. The characteristics of pre-hospital care of stroke patients in Hungary between 2005-2007

J. Betlehem, L. Simon-Horvath, I. Kriszbacher, A. Olah, I. Boncz, J. Marton-Simora,
G. Nagy, J. Bodis, Z. Gondocs
Cerebrovascular diseases 2009; 27(6) Suppl.:234.
IF 2009: 3,535

7. Collaboration of emergency team members during advanced life support

Gabor Nagy, Noemi Fuller, Jozsef Marton-Simora, Jozsef Betlehem
Intensive Care Medicine 2009; 35(9) Suppl. S258

IF 2009: 5,168

8. BLS examination located on a real scene can impair attendant's efficiency

Jozsef Marton-Simora, Jozsef Betlehem, Krisztina Deutsch, Gabor Nagy

Intensive Care Medicine 2009; 35(9) Suppl. S23

IF 2009: 5,168

9. The coping mechanisms between critical care and other acute care nurses in Hungary

J. Betlehem, I. Boncz, J. Marton-Simora, G. Nagy, K. Deutsch, A. Sebestyen, Z. Gondocs, A. Olah

Intensive Care Medicine 2009; 35(9) Suppl. S182

IF 2009: 5,168

10. The characteristics of ambulance officer students' performance in ALS examination

Jozsef Betlehem, Jozsef Marton-Simora, Gabor Nagy, Krisztina Deutsch

Critical Care Medicine 2009; 37(12) Suppl. A285

IF 2009: 6,373

11. Does the CPR protocol 2005 make a difference in the characteristics of reanimation in Hungary?

Jozsef Betlehem, Katalin Vinko, Jozsef Marton-Simora, Gabor Nagy, Krisztina Deutsch, Tamas Kocse, Tivadar Puskas

Critical Care Medicine 2009; 37(12) Suppl. A268

IF 2009: 6,373

12. Physicians' opinion about competencies of the triage nurse in hungarian emergency departments

G. Nagy, N. Fuller, J. Marton-Simora, K. Deutsch, J. Betlehem

Intensive Care Medicine 2010; 36 (Suppl 2) S396.

IF 2010: 4,996

13. Posttraumatic stress disorder (PTSD) among hungarian ambulace workers

J. Marton-Simora, O. Gyerman, C. Illes, K. Illes, E. Pek, G. Nagy, K. Deutsch, J. Betlehem

Intensive Care Medicine 2010; 36 (Suppl 2) S39.

IF 2010: 4,996

14. The self-perceived health between medical-surgical and critical care nurses in Hungary (2003-2008)

J. Betlehem, J. Marton-Simora, G. Nagy, K. Deutsch, I. Boncz, A. Sebestyen, A. Olah

Intensive Care Medicine 2010; 36(Suppl 2) S422.

IF 2010: 4,996

15. Difference in knowledge about stroke among high and low qualified ambulance service members.

Nagy, G., Nemeth L, Marton-Simora J, Deutsch K, Pek E, Betlehem J (2011) *Cerebrovascular Diseases 31 (suppl 2), 180, A672.*

IF 2010:2,987

16. The importance of the first responder for acute stroke patients.

Betlehem J, Katz J, Olah A, Boncz I, Marton-Simora J, Nagy G, Deutsch K, Radnai B, Pek E, Kriszbacher I. (2011) *Cerebrovascular Diseases* 31 (suppl 2), 180. A673.

IF 2010:2,987

17. Regional differences in prehospital treatment of stroke patients in Hungary.

Nagy, G., Soltenszky M, Marton-Simora J, Deutsch K, Radnai B, Pek E, Bethlehem J (2011) *Cerebrovascular Diseases* 31 (suppl 2), 181, A676.

IF 2010:2,987

A dolgozathoz nem kapcsolódó egyéb előadások

1. 2006. április 20-22. MOT- MSOTKE Kongresszus, Szeged

BLS gyakorlati készséget felmérő séma kifejlesztése és gyakorlati alkalmazása egészségügyi főiskolai hallgatók körében

Betlehem J, Marton J, Nagy G. dr

Absztr. Füzet: 12 oldal

2. 2006. szeptember 28-30. Magyar Reanimációs Társaság V. Kongresszusa, Szeged

A 2000. és a 2005. ERC BLS protokollok alapján végzett CPR során mért fizikai megterhelések összehasonlítása egyetemi hallgatók körében

Nagy Gábor dr, Marton József, Bethlehem József, Gál Nikolett

Absztr. Füzet: 11 oldal

3. 2006. szeptember 28-30. MSOTKE konferencia, Kecskemét

Az egyedül lévő elsősegélynyújtó fáradtságának mértéke a 2000-es és 2005-ös ERC BLS protokollok használatakor

Marton József, Nagy Gábor dr, Bethlehem József, Gál Nikolett

Absztr. Füzet: 38 oldal (nem számozott)

4. Egészségügyi Szakdolgozók XXXVIII. Országos Kongresszusa 2007. augusztus 24-25. Debrecen

A 2000. és a 2005. évi ERC BLS protokollok alapján végzett CPR során fellépő fizikai megterhelés összehasonlítása egyetemi hallgatók körében

Marton József, Nagy Gábor dr, Gál Nikolett, Bethlehem József dr.

Absztrakt kötet 89 oldal

5. Magyar Resuscitatio Társaság VI. Kongresszusa 2007. szeptember 14-15. Szeged

A helyszín és a vizsgáztató ismertségének hatása a hallgató újraélesztés vizsgán nyújtott teljesítményére

Dr. Nagy Gábor, Marton József, Demsa Gábor, Dr. Bethlehem József

Absztrakt kötet 10-11 oldal.

6. II. Pécsi Sürgősségi Napok 2007. október 26-27.

A fogyatékkal élők ellátásának és kimentésének nehézségei

Marton József, Nagy Gábor, Bethlehem József

Absztrakt Kötet: 15. oldal

7. II. Pécsi Sürgősségi Napok 2007. október 26-27.

Szimulációs oktatás az egészségügyben

Betlehem József, Nagy Gábor, Marton József, Oláh András

Absztrakt kötet: 17. oldal

8. DEMIN VIII Debrecen 2008. május 29-30.

A minőségszemlélet haszna a felsőfokú egészségtudományi oktatásban

Deutsch Krisztina, Betlehem József dr, Marton-Simora József, Nagy Gábor dr.

9. MOT Vándorgyűlés Galyatető 2008. május 29.

A 2007 évi II. Pécsi Sürgősségi Napok kimentési gyakorlat tapasztalatai

Betlehem József dr, Marton-Simora József, Nagy Gábor dr, Köcse Tamás, Szvitán

Gábor dr, Buda Péter dr, Puskás Tivadar dr, Göndöcs Zsigmond dr

10. MOT Vándorgyűlés Galyatető 2008. május 29.

Továbbképzések megítélése a mentésirányításban dolgozók szemszögéből

Vara Zsolt, Dr. Nagy Gábor, ifj. Tóta Tamás, Dr. Simon Marianna

11. MOT Vándorgyűlés Galyatető 2008. május 29.

A baleseti hipotermia jellegzetességei budapesten és környékén

Eröss Szabolcs, Dr. Nagy Gábor, Dr. Zacher Gábor

12. Egészségügyi Szakdolgozói Országos Konferenciája Kaposvár 2008. július 3-5.

A magyarországi sürgősségi osztályok működésének dolgozói megítélése

Dr. Nagy Gábor, Fullér Noémi, Marton József, Deutsch Krisztina, Dr. Betlehem József

Absztraktgyűjtemény: 4 oldal

13. ISPOR 3rd Asia-Pacific Conference 7-9 September 2008 Seoul, South Korea

Acute stroke management and patient safety in Hungary

Betlehem J, Veres R, Kriszbacher I, Oláh A, Sebestyén A, Marton-Simora J, Nagy G, Vas G, Bódis J, Boncz I.

Absztraktkötet: 80. oldal

14. ISPOR 3rd Asia-Pacific Conference September 2008 Seoul, South Korea

The characteristics of pre-hospital care of stroke patients in Hungary between 2005-2007

Betlehem J, Simon-Horvath L, Nagy G, Marton J, Kriszbacher I, Sebestyén A, Oláh A, Vas G, Boncz I.

Absztraktkötet: 83. oldal

15. III. Pécsi Sürgősségi Napok 2008. október 17-18.

Hipotermia, mint különleges helyzet

Dr. Nagy Gábor, Eröss Szabolcs

Absztraktkötet: 17 o.

16. III. Pécsi Sürgősségi Napok 2008. október 17-18.

Fogyatékkal élők ellátásának és kimentésének nehézségei

Marton-Simora József, dr. Betlehem J, dr. Nagy Gábor, Deutsch Krisztina
Absztraktkötet: 18 o.

17. Egészségügyi Szakdolgozók XL. Országos Konferenciája Veszprém 2009.július 9-11.

Önállóan végzett ápolói feladatok a sürgősségi osztályokon
Fullér Noémi, Dr. Nagy Gábor, Dr. Betlehem József, Marton-Simora József
Absztraktgyűjtemény: 22 oldal

18. Egészségügyi Szakdolgozók XL. Országos Konferenciája Veszprém 2009.július 9-11.

Orvosok véleménye a triage ápolók által végzett feladatokról
Dr. Nagy Gábor, Fullér Noémi, Marton-Simora József, Dr. Betlehem József
Absztraktgyűjtemény: 25 oldal

19. Egészségügyi Szakdolgozók XL. Országos Konferenciája Veszprém 2009. július 9-11.

Poszttraumás stresszbetegség budapesti mentődolgozók körében
Marton-Simora József, Gyermán Orsolya, Dr. Nagy Gábor, Deutsch Krisztina, Dr.
Betlehem József
Absztraktgyűjtemény: 55 oldal

20. Magyar Nephrologiai Társaság Nagygyűlése 2009. szeptember 17-19. Siófok

Renális anémia kezelése (Aranesp vagy Neorecormon) a hemodializált betegek
életminősége szempontjából
Dr. Nagy Gábor, Hohmann Krisztina, Dr. Bőke Mária
Poszter prezentáció Hypertonia és Nephrologia, 2009.13 (S1) 52.o. Absztraktkötet:
52 o.

21. IV. Pécsi Sürgősségi Napok 2009. október 9-10.

Poszttraumás stressz a budapesti OMSZ dolgozók körében
Marton-Simora József, Gyermán Orsolya, Dr. Nagy Gábor, Deutsch Krisztina, Dr.
Göndöcs Zsigmond, Dr. Betlehem József
Absztraktkötet. 11.o.

22. IBRO International Workshop 2010.Pécs, Hungary, 2010. January 21-23

The effects of different lighting schedules in shift work and the chronic mild stress
on the behaviour of wistar rats
A. Muller, R. Jozsa, N. Gál, K. Fusz, J. Betlehem, J. Sandor, N. Csokas, G. Nagy, I.
Boncz, D. Reglodi, I. Kriszbacher, F. Halberg, G. Cornelissen, A. Olah
Poszter P6-23

**23. Egyetemet és főiskolát végzett ápolók IX. kongresszusa 2010. április. 29-30.
Nyíregyháza**

Sürgősségi osztályon dolgozó ápoló és a belgyógyászati fizikális vizsgálatok- Kinek
a feladata?
Fullér Noémi, Marton-Simora József, Dr. Betlehem József, Dr. Oláh András, Dr.
Nagy Gábor
Absztraktkötet: 19 oldal

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Wittmann István és Dr. Winkler Gábor Professzor Uraknak, akik lehetőséget adtak, hogy tudományos munkámat - irányításuk mellett - a II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nefrológiai Centrumban végezzem, támogatásuk nélkülözhetetlen volt.

Kiemelten szeretnék továbbá köszönetet mondani Dr. Betlehem József Dékán Úrnak, hogy tudományos előmeneteletemet segítette.

Hálával tartozom Dr. Markó Lajosnak és Dr. Molnár Gergő Attilának a statisztikai és a laboratóriumi munkában nyújtott hatalmas segítségükért.

A kardiológiai kivizsgálások során nyújtott segítségéért köszönettel tartozom Dr. Gaszner Balásznak. A laboratóriumi munka során nyújtott önzetlen segítségét köszönöm Dr. Sámikné Varga Ilona vezető laborasszisztensnek. Az adatgyűjtésben, és a betegek kivizsgálásában nyújtott segítségét köszönöm Dr. Cseh Juditnak és Dr. Mohás Mártonnak.

Az ügyintézési feladatok során nyújtott segítségét köszönöm Bodor Enikő és Rumszauer Zsuzsanna titkárnőknek.

Hálás vagyok továbbá a klinika összes orvosának és nővérének segítségükért, biztatásukért.

Külön köszönöm családomnak és barátaimnak, hogy támogattak és mindig mellettem álltak.

10. Irodalomjegyzék

-
- ¹ Braunwald E, Klocke FJ. (1965) Digitalis. *Annu Rev Med* 16: 371-86.
- ² Langer GA. (1972) Effects of digitalis on myocardial ionic exchange. *Circulation* 46: 180-7.
- ³ Szent-Gyorgyi A. (1953) *Chemical Physiology of Contraction in Body and Heart Muscle*. Academic Press, New York. 86-91.
- ⁴ Skou JC. (1957) The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *Biochim Biophys Acta* 23: 394-401.
- ⁵ Kramer HJ, Gonick HC. (1974) Effect of extracellular volume expansion on renal Na-K-ATPase and cell metabolism. *Nephron* 12: 281-96.
- ⁶ de Wardener HE, Clarkson EM, Nutbourne DM, Schrier RW, Talner LB, Ventom MG, Verroust PJ. (1971) Evidence for a hormone other than aldosterone which controls urinary sodium excretion. *Adv Nephrol Necker Hosp* 1: 97-111.
- ⁷ Hamlyn JM, Blaustein MP, Bova S, DuCharme DW, Harris DW, Mandel F, Mathews WR, and Ludens JH. (1991) Identification and characterization of a ouabain-like compound from human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 6259-63.
- ⁸ Kaplan JH. (2002) Biochemistry of Na,K-ATPase. *Annu Rev Biochem* 71: 511-35.
- ⁹ Kuhlbrandt W. (2004) Biology, structure and mechanism of P-type ATPases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5: 282-95.
- ¹⁰ Blanco G, Mercer RW. (1998) Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. *Am J Physiol* 275: F633-50.

-
- ¹¹ Sweadner KJ. (1989) Isozymes of the Na⁺/K⁺-ATPase. *Biochim Biophys Acta* 988: 185-220.
- ¹² Geering K. (2005) Function of FYXD proteins, regulators of Na,K-ATPase, *Journal of Bioenergetics and biomembranes* 37: 387-92.
- ¹³ Crambert G, Fuzesi M, Garty H, Karlsh S, Geering K. (2002) Phospholemman (FXVD1) associates with Na,K-ATPase and regulates its transport properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 20: 11476-81.
- ¹⁴ Kuster B, Shainskaya A, Pu HX, Goldshleger R, Blostein R, Mann M, Karlsh SJ. (2000) A new variant of the gamma subunit of renal Na,K-ATPase. Identification by mass spectrometry, antibody binding, and expression in cultured cells. *J Biol Chem* 275: 18441-6.
- ¹⁵ Attali B, Latter H, Rachamim N, Garty H. (1995) A corticosteroid-induced gene expressing an "IsK-like" K⁺ channel activity in *Xenopus* oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 6092-6.
- ¹⁶ Béguin P, Crambert G, Guennoun S, Garty H, Horisberger JD, Geering K. (2001) CHIF, a member of the FXVD protein family, is a regulator of Na,K-ATPase distinct from the gamma-subunit. *EMBO J* 20: 3993-4002.
- ¹⁷ Gilligan DM, Sarid R, Weese J. (2002) Adducin in platelets: activation-induced phosphorylation by PKC and proteolysis by calpain. *Blood* 99: 2418-2426.
- ¹⁸ Staessen JA, Bianchi G. (2005) Adducin and hypertension *Pharmacogenomics* 6: 665-669.
- ¹⁹ Li Y, Thijs L, Kuznetsova T, Zagato L, Struijker-Boudier H, Bianchi G, Staessen JA. (2005) Cardiovascular risk in relation to α - adducin Gly460Trp polymorphism and systolic pressure. A prospective population study. *Hypertension* 46: 527-532.

-
- ²⁰ Thomas SM, Brugge JS. (1997) Cellular functions regulated by Src family kinases. *Annu Rev Cell Dev Biol* 13: 513-609.
- ²¹ Liang M, Cai T, Tian J, Qu W, Xie ZJ. (2006) Functional characterization of Src-interacting Na/K-ATPase using RNA interference assay. *J Biol Chem* 281: 19709-19.
- ²² Tian J, Cai T, Yuan Z, Wang H, Liu L, Haas M, Maksimova E, Huang XY, Xie ZJ. (2006) Binding of Src to Na⁺/K⁺-ATPase forms a functional signaling complex. *Mol Biol Cell* 17: 317-26.
- ²³ Cuff JM, Lichtman A. (1975) The early effects of ouabain on potassium metabolism and rate of proliferation of mouse lymphoblasts. *J Cell Physiol* 85: 209-15.
- ²⁴ Kaplan JG. (1978) Membrane cation transport and the control of proliferation of mammalian cells. *Annu Rev Physiol* 40: 19-41.
- ²⁵ Chueh SC, Guh JH, Chen J, Lai MK, Teng CM. (2001) Dual effects of ouabain on the regulation of proliferation and apoptosis in human prostatic smooth muscle cells. *J Urol* 166: 347-53.
- ²⁶ Dmitrieva RI, Doris PA. (2003) Ouabain is a potent promoter of growth and activator of ERK1/2 in ouabain-resistant rat renal epithelial cells. *J Biol Chem* 278: 28160-6.
- ²⁷ Golden WC, Martin LJ. (2006) Low-dose ouabain protects against excitotoxic apoptosis and up-regulates nuclear Bcl-2 in vivo. *Neuroscience* 137:133-44.
- ²⁸ Griffiths NM, Ogden PH, Cormack R, Lamb JF. (1991) Discrepancy between the short and long term effects of ouabain on the sodium pumps of human cells grown in culture. *Br J Pharmacol* 104: 419-27.

-
- ²⁹ Haas M, Askari A, Xie Z. (2000) Involvement of Src and epidermal growth factor receptor in the signal-transducing function of Na⁺/K⁺-ATPase. *J Biol Chem* 275: 27832-7.
- ³⁰ Haas M, Wang H, Tian J, Xie Z. (2002) Src-mediated inter-receptor cross-talk between the Na⁺/K⁺-ATPase and the epidermal growth factor receptor relays the signal from ouabain to mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 277:18694-702.
- ³¹ Saunders R, Scheiner-Bobis G. (2004) Ouabain stimulates endothelin release and expression in human endothelial cells without inhibiting the sodium pump. *Eur J Biochem* 271: 1054-62.
- ³² Schrier RW. (1974) Effects of adrenergic nervous system and catecholamines on systemic and renal hemodynamics, sodium and water excretion and renin secretion. *Kidney Int* 6: 291-306.
- ³³ Bricker NS, Schmidt RW, Favre H, Fine L, Bourgoignie JJ. (1975) On the biology of sodium excretion: the search for natriuretic hormone. *Yale J Biol Med* 48: 293-303.
- ³⁴ Gruber KA, Whitaker JM, Buckalew VM. (1980) Endogenous digitalis-like substance in plasma of volume-expanded dogs. *Nature* 287: 743-5.
- ³⁵ Zhao N, Lo LC, Berova N, Nakanishi K, Tymiak A, Ludens JH, Hauptert GT. (1995) Na-K ATPase inhibitors from bovine hypothalamus and human plasma are different from ouabain: nanogram scale CD structural analysis. *Biochemistry* 34: 9893-6.
- ³⁶ Meyer K, Linde H. (1971) Collection of toad venoms and chemistry of the toad venom steroids, in *Venomous Animals and Their Venoms* (Bucherl W and Buckley E eds), Academic Press, London.

-
- ³⁷ Ludens JH, Clark MA, DuCharme DW, Harris DW, Lutzke BS, Mandel F, Mathews WR, Sutter DM, Hamlyn JM. (1991) Purification of an endogenous digitalislike factor from human plasma for structural analysis. *Hypertension* 17: 923-9.
- ³⁸ Komiyama Y, Nishimura N, Munakata M, Mori T, Okuda K, Nishino N, Hirose S, Kosaka C, Masuda M, Takahashi H. (2001) Identification of endogenous ouabain in culture supernatant of PC12 cells. *J Hypertens* 19: 229-36.
- ³⁹ Ludens JH, Clark MA, Robinson FG, DuCharme DW. (1992) Rat adrenal cortex is a source of a circulating ouabainlike compound. *Hypertension*. 19:721-4.
- ⁴⁰ Laredo J, Shah JR, Lu ZR, Hamilton BP, Hamlyn JM. (1997) Angiotensin II stimulates secretion of endogenous ouabain from bovine adrenocortical cells via angiotensin type 2 receptors. *Hypertension* 29: 401-7.
- ⁴¹ Shah JR, Laredo J, Hamilton BP, Hamlyn JM. (1999) Effects of angiotensin II on sodium potassium pumps, endogenous ouabain, and aldosterone in bovine zona glomerulosa cells. *Hypertension* 33: 373-7.
- ⁴² Bauer N, Müller-Ehmsen J, Krämer U, Hambarchian N, Zobel C, Schwinger RH, Neu H, Kirch U, Grünbaum EG, Schoner W. (2005) Ouabain-like compound changes rapidly on physical exercise in humans and dogs: Effects of β -blockade and angiotensin-converting enzyme inhibition. *Hypertension* 45: 1024-8.
- ⁴³ Balzan S, Montali U, Biver P, Ghione S. (1991) Antidigoxin antibodies neutralize the effect of newborn endogenous digitalis-like factor on erythrocyte ⁸⁶Rb uptake. *J Nucl Biol Med* 35: 38-40.
- ⁴⁴ Rossi G, Manunta P, Hamlyn JM, Pavan E, De Toni R, Semplicini A, Pessina AC. (1995)

Immunoreactive endogenous ouabain in primary aldosteronism and essential hypertension: relationship with plasma renin, aldosterone and blood pressure levels. *J Hypertens* 13: 1181-91.

⁴⁵ Clerico A, Giampietro O, Gregori G, Del Chicca MG, Bertoli S, Miccoli R, Navalesi R. (1988) Excretion of digoxin-like immunoreactivity in urine of normal subjects: Correlations with excretion of creatinine and electrolytes. *Clin Chem* 34: 554-6.

⁴⁶ Summa V, Camargo SM, Bauch C, Zecevic M, Verrey F. (2004) Isoform specificity of human Na(+), K(+)-ATPase localization and aldosterone regulation in mouse kidney cells. *J Physiol*. 555: 355-64.

⁴⁷ Bagrov AZ, Shapiro JI, Fedorova OV. (2009) Endogenous cardiotonic steroids: Physiology, pharmacology, and novel therapeutic targets. *Pharmacol Rev*. 61: 9-38.

⁴⁸ Ho CS, Butt A, Semra YK, Swaminathan R. (1997) Effect of carbidopa on the excretion of sodium, dopamine, and ouabain-like substance in the rat. *Hypertension*. 30: 1544-8.

⁴⁹ Butt AN, Semra YK, Ho CS, Swaminathan R. (1997) Effect of high salt intake on plasma and tissue concentration of endogenous ouabain-like substance in the rat. *Life Sci*. 61: 2367-73.

⁵⁰ Ludens JH, Clark MA, Kolbasa KP, Hamlyn JM. (1993) Digitalis-like factor and ouabain-like compound in plasma of volume-expanded dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 22: S38-41.

⁵¹ Balzan S, Nicolini G, Iervasi A, Di Cecco P, Fommei E. (2005) Endogenous ouabain and acute salt loading in low-renin hypertension. *Am J Hypertens* 18: 906-9.

-
- ⁵² Manunta P, Hamilton BP, Hamlyn JM. (2006) Salt intake and depletion increase circulating levels of endogenous ouabain in normal men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R553-9.
- ⁵³ Manunta P, Messaggio E, Ballabeni C, Sciarrone MT, Lanzani C, Ferrandi M, Hamlyn JM, Cusi D, Galletti F, Bianchi G. (2001) Plasma ouabain-like factor during acute and chronic changes in sodium balance in essential hypertension. *Hypertension* 38: 198-203.
- ⁵⁴ Dostanic-Larson I, Lorenz JN, Van Huysse JW, Neumann JC, Moseley AE, Lingrel JB. (2006) Physiological role of the alpha1- and alpha2-isoforms of the Na⁺-K⁺-ATPase and biological significance of their cardiac glycoside binding site. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R524-528.
- ⁵⁵ Huang BS, Huang X, Harmsen E, Leenen FHH. (1994) Chronic central versus peripheral ouabain, blood pressure, and sympathetic activity in rats. *Hypertension*; 23: 1087-90.
- ⁵⁶ Manunta P, Stella P, Rivera R, Ciurlino D, Cusi D, Ferrandi M, Hamlyn JM, Bianchi G. (1999) Left ventricular mass, stroke volume, and ouabain-like factor in essential hypertension. *Hypertension* 34: 450-6.
- ⁵⁷ Balzan S, Neglia D, Ghione S, D'Urso G, Baldacchino MC, Montali U, L'Abbate A. (2001) Increased circulating levels of ouabain-like factor in patient with asymptomatic left ventricular dysfunction. *Eur J Heart Fail* 3: 165-71.
- ⁵⁸ Manunta P, Iacoviello M, Forleo C, Messaggio E, Hamlyn JM, Lucarelli K, Guida P, Romito R, De Tommasi E, Bianchi G, Rizzon P, Pitzalis MV. (2005) High circulating levels of endogenous ouabain in the offspring of hypertensive and normotensive individuals. *J Hypertens* 23: 1677-81.
- ⁵⁹ Grossmann M, Jamieson MJ, Kirch W. (1998) Effects of digoxin and digitoxin on circadian blood pressure profile in healthy volunteers. *Eur J Clin Invest* 28: 701-6.

-
- ⁶⁰ Kirch C, Grossmann M, Fischer S, Neumeister V, Kirch W. (2000) Effect of digoxin on circadian blood pressure values in patients with congestive heart failure. *Eur J Clin Invest* 30: 285-9.
- ⁶¹ Grossmann M. (2001) Effects of cardiac glycosides on 24-h ambulatory blood pressure in healthy volunteers and patients with heart failure. *Eur J Clin Invest* 31 (Suppl 2): S26-S30.
- ⁶² Schreiber V, Kölbl F, Stěpán J, Gregorová I, Pribyl T. (1981) Digoxin-like immunoreactivity in the serum of rats with cardiac overload. *J Mol Cell Cardiol* 13:107-10.
- ⁶³ Morise T, Okamoto S, Takasaki H, Ikeda M, Takeda R, Kiuti F, Tuda Y. (1988) Biological activity of partially purified digitalis-like substance and Na-K-ATPase inhibitor in rats. *Jpn Circ J* 52: 1309-16.
- ⁶⁴ Liu ZQ, Ma AQ, Zhang L, Yang DY. (1990) Intra-cellular electrolyte changes and levels of endogenous digoxin-like substance within the plasma in patients with congestive heart failure. *Int J Cardiol* 27: 47-53.
- ⁶⁵ Pitzalis MV, Hamlyn JM, Messaggio E, Iacoviello M, Forleo C, Romito R, de Tommasi E, Rizzon P, Bianchi G, Manunta P. (2006) Independent and incremental prognostic value of endogenous ouabain in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 8: 179-86.
- ⁶⁶ Stella P, Manunta P, Mallamaci F, Melandri M, Spotti D, Tripepi G, Hamlyn JM, Malatino LS, Bianchi G, Zoccali C. (2008) Endogenous ouabain and cardiomyopathy in dialysis patients. *J Intern Med* 263: 274-80.
- ⁶⁷ Kennedy DJ, Elkareh J, Shidyak A, Shapiro AP, Smaili S, Mutgi K, Gupta S, Tian J, Morgan E, Khouri S, Cooper CJ, Periyasamy SM, Xie Z, Malhotra D, Fedorova OV, Bagrov AY, Shapiro JL. (2008) Partial nephrectomy as a model for uremic cardiomyopathy in the mouse. *Am J Physiol Renal Physiol*. 294: F450-4.

-
- ⁶⁸ Kennedy D, Omran E, Periyasamy SM, Nadoor J, Priyadarshi A, Willey JC, Malhotra D, Xie Z, Shapiro JI. (2003) Effect of chronic renal failure on cardiac contractile function, calcium cycling, and gene expression of proteins important for calcium homeostasis in the rat. *J Am Soc Nephrol* 14: 90-7.
- ⁶⁹ Skoumal R, Szokodi I, Aro J, Földes G, Gööz M, Seres L, Sárman B, Lakó-Futó Z, Papp L, Vuolteenaho O, Leppäluoto J, DeChâtel R, Ruskoaho H, Tóth M. (2007) Involvement of endogenous ouabain-like compound in cardiac hypertrophic process in vivo. *Life Sci* 80: 1303-10.
- ⁷⁰ Liu J, Tian J, Haas M, Shapiro JI, Askari A, Xie Z. (2000) Ouabain interaction with cardiac Na⁺/K⁺-ATPase initiates signal cascades independent of changes in intracellular Na⁺ and Ca²⁺ concentrations. *J Biol Chem* 275: 27838-44.
- ⁷¹ Aydemir-Koksoy A, Abramowitz J, Allen JC. (2001) Ouabain-induced signaling and vascular smooth muscle cell proliferation. *J Biol Chem* 276: 46605-11.
- ⁷² Elkareh J, Kennedy DJ, Yashaswi B, Vetteth S, Shidyak A, Kim EG, Smaili S, Periyasamy SM, Hariri IM, Fedorova L, Liu J, Wu L, Kahaleh MB, Xie Z, Malhotra D, Fedorova OV, Kashkin VA, Bagrov AY, Shapiro JI. (2007) Marinobufagenin stimulates fibroblast collagen production and causes fibrosis in experimental uremic cardiomyopathy. *Hypertension* 49: 215-24.
- ⁷³ Pierdomenico SD, Bucci A, Manunta P, Rivera R, Ferrandi M, Hamlyn JM, Lapenna D, Cuccurullo F, Mezzetti A. (2001) Endogenous ouabain and hemodynamic and left ventricular geometric patterns in essential hypertension. *Am J Hypertens* 14:44-50.
- ⁷⁴ Chen S, Yuan C, Clough D, Haddy FJ, Pamnani MB. (1993) Role of digitalis-like substance in experimental insulin-dependent diabetes mellitus hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 22: S20-1.

-
- ⁷⁵ Clerico A, Giampietro O. (1990) Is the endogenous digitalis-like factor the link between hypertension and metabolic disorders as diabetes mellitus, obesity and acromegaly? *Clin Physiol Biochem* 8: 153-68.
- ⁷⁶ Chen S, Yuan C, Clough D, Schooley J, Haddy FJ, Pamnani MB. (1993) Role of digitalis-like substance in the hypertension of streptozotocin-induced diabetes in reduced renal mass rats. *Am J Hypertens* 6: 397-406.
- ⁷⁷ Martinka E, Galajada P, Ochodnický M, Lichardus B, Straka S, Mokan M. (1997) Endogenous digoxin-like immunoactivity and diabetes mellitus: facts and hypotheses. *Med Hypotheses* 49: 271-5.
- ⁷⁸ Carroll JS, Seely EW, Tao QF, Graves SW. (2001) Digitalis-like factor response to hyperinsulinemia accompanying a euglycemic hyperinsulinemic clamp or oral glucose tolerance test. *Life Sci.* 69: 829-37.
- ⁷⁹ Kotova O, Al-Khalili L, Talia S, Hooke C, Fedorova OV, Bagrov AY, Chibalin AV. (2006) Cardiotonic steroids stimulate glycogen synthesis in human skeletal muscle cells via a Src- and ERK1/2-dependent mechanism. *J Biol Chem* 281: 20085-94.
- ⁸⁰ Kario K. (2009) Obstructive sleep apnea syndrome and hypertension: mechanism of the linkage and 24-h blood pressure control. *Hypertens Res* 32: 537-41.
- ⁸¹ Zvartau NE, Conrady AO, Sviryaev YV, Rotari OP, Merkulova NK, Kalinkin AL, Shlyakhto EV, Bagrov AY. (2006) Marinobufagenin in hypertensive patients with obstructive sleep apnea. *Cell Mol Biol* 52: 24-7.
- ⁸² Xu S, Touyz RM. (2006) Reactive oxygen species and vascular remodelling in hypertension: Still alive. *Can J Cardiol* 22: 947-51.
- ⁸³ Paravicini TM, Touyz RM. (2006) Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc Res* 71: 247-58.

-
- ⁸⁴ Kao MP, Ang DS, Pall A, Struthers AD. (2010) Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. *J Hum Hypertens* 24: 1-8.
- ⁸⁵ Milne GL, Musiek ES, Morrow JD. (2005) F2-Isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo: An overview. *Biomarkers* 10: S10-S23.
- ⁸⁶ Kasapoglu M, Ozben T. (2001) Alterations of antioxidant enzymes and oxidative stress markers in aging. *Exp Gerontol* 36: 209-20.
- ⁸⁷ Ogawa S, Mori T, Nako K, Kato T, Takeuchi K, Ito S. (2006) Angiotensin II type 1 receptor blockers reduce urinary oxidative stress markers in hypertensive diabetic nephropathy. *Hypertension* 47: 699-705.
- ⁸⁸ Mullan B, Young IS, Fee H, McCance DR. (2002) Ascorbic acid reduces blood pressure and arterial stiffness in type 2 diabetes. *Hypertension* 40: 804-9.
- ⁸⁹ Brennan ML, Hazen SL. (2003) Amino acid and protein oxidation in cardiovascular disease. *Amino Acids* 25: 365-374.
- ⁹⁰ Baynes JW. (1991) Perspectives in diabetes: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40: 405-12.
- ⁹¹ Molnár GA, Wagner Z, Markó L, Köszegi T, Mohás M, Kocsis B, Matus Z, Wagner L, Tamaskó M, Mazák I, Laczy B, Nagy J, Wittmann I. (2005) Urinary ortho-tyrosine excretion in diabetes mellitus and renal failure: Evidence for hydroxyl radical production. *Kidney Int* 68: 2281-7.
- ⁹² Semplicini A, Serena L, Valle R, Ceolotto G, Felice M, Fontebasso A, Pessina AC. (1995) Ouabain-inhibiting activity of aldosterone antagonists. *Steroids* 60: 110-3.
- ⁹³ Pamnani MB, Whitehorn WV, Clough DL, Haddy FJ. (1990) Effects of canrenone on blood pressure in rats with reduced renal mass. *Am J Hypertens* 3:188-95.

-
- ⁹⁴ Ferrandi M, Molinari I, Barassi P, Minotti E, Bianchi G, Ferrari P. (2004) Organ hypertrophic signaling within caveolae membrane subdomains triggered by ouabain and antagonized by PST 2238. *J Biol Chem* 279: 33306-14.
- ⁹⁵ Bakris G. (2010) Are there effects of renin-angiotensin system antagonists beyond blood pressure control? *Am J Cardiol* 105 (suppl): 21-9.
- ⁹⁶ Muller G, Goettsch C, Morawith H. (2007) Oxidative stress and endothelial dysfunction. *Hamostaseologie* 27: 5-12.
- ⁹⁷ Zhu YC, Zhu YZ, Lu N, Wang MJ, Wang YX, Yao T. (2003) Role of angiotensin AT1 and AT2 receptors in cardiac hypertrophy and cardiac remodelling. *Clin. Exp. Pharmacol Physiol* 30: 911-8.
- ⁹⁸ Wolf G, Ziyadeh FN. (2007) Cellular and molecular mechanisms of proteinuria in diabetic nephropathy. *Nephron Physiol* 106: 26-31.
- ⁹⁹ Weir MR. (2007) Effects of renin-angiotensin system inhibition on end-organ protection: can we do better? *Clin Ther* 29: 1803-24.
- ¹⁰⁰ Gansevoort RT, Sluiter WJ, Hemmelder MH, de Zeeuw D, de Jong PE. (1995) Antiproteinuric effect of blood-pressure-lowering agents: a metaanalysis of comparative trials. *Nephrol Dial Transplant* 10: 1963-74.
- ¹⁰¹ Galzerano D, Tammaro P, del Viscovo L, Lama D, Galzerano A, Breglio R, Tuccillo B, Paolisso G, Capogrosso P. (2005) Three dimensional echocardiographic and amgnetic resonance assessment of the effect of telmisartan compared with carvedilol on left ventricular mass a multicenter, randomized, longitudinal study. *Am J Hypertension* 18: 1563-9.

¹⁰² Sengul AM, Altuntas Y, Kürklü A, Aydın L. (2006) Beneficial effect of lisinopril plus telmisartan in patients with type 2 diabetes, microalbuminuria and hypertension. *Diabetes Res Clin Pract* 71:210-9.

¹⁰³ Anan F, Takahashi N, Ooie T, Yufu K, Hara M, Nakagawa M, Yonemochi H, Saikawa T, Yoshimatsu H. (2005) Effects of valsartan and perindopril combination therapy on left ventricular hypertrophy and aortic arterial stiffness in patients with essential hypertension. *Eur J Clin Pharmacol* 61: 353-9.

¹⁰⁴ ONTARGET Investigators, Yusuf S, Teo KK, Pogue J, Dyal L, Copland I, Schumacher H, Dagenais G, Sleight P, Anderson C. (2008) Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med* 358: 1547-59.

¹⁰⁵ Mann JF, Schmieder RE, McQueen M, Dyal L, Schumacher H, Pogue J, Wang X, Maggioni A, Budaj A, Chaithiraphan S, Dickstein K, Keltai M, Metsärinne K, Oto A, Parkhomenko A, Piegas LS, Svendsen TL, Teo KK, Yusuf S; ONTARGET investigators. (2008) Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* 372: 547-53.

¹⁰⁶ Malpas SC. (2010) Sympathetic nervous system overactivity and its role in the development of cardiovascular disease *Physiol Rev* 90: 513-57.

¹⁰⁷ Locatelli F, Del Vecchio L, Cavalli A. (2009) Inhibition of the renin-angiotensin system in chronic kidney disease: a critical look to single and dual blockade. *Nephron Clin Pract* 113: C286-93.

¹⁰⁸ Braga MF, Leiter LA. (2009) Role of renin-angiotensin system blockade in patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 104: 835-9.

¹⁰⁹ Lambers Heerspink HJ, Brinkman JW, Bakker SJ, Gansevoort RT, de Zeeuw D. (2006) Update on microalbuminuria as a biomarker in renal and cardiovascular disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 15: 631-6.

-
- ¹¹⁰ Comper WD, Osicka TM, Clark M, MacIsaac RJ, Jerums G. (2004) Earlier detection of microalbuminuria in diabetic patients using a new urinary albumin assay. *Kidney Int.* 2004 65: 1850-5.
- ¹¹¹ Comper WD, Osicka TM, Jerums G. (2003) High prevalence of immuno-unreactive intact albumin in urine of diabetic patients. *Am J Kidney Dis* 41: 336-42.
- ¹¹² Steven P. Clavant, Steve A. Sastra, Tanya Osicka, Wayne D. Comper. (2006) The analysis and characterisation of immuno-unreactive urinary albumin in healthy volunteers. *Clin Biochem.* 36: 143-51.
- ¹¹³ Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Böddi K, Koszegi T, Szabó Z, Matus Z, Szijártó I, Mérei A, Nagy G, Wittmann I. (2009) Measurement of the modification and interference rate of urinary albumin detected by size-exclusion HPLC. *Physiol Meas* 30: 1137-50.
- ¹¹⁴ Vakkuri O, Arnason SS, Joensuu P, Jalonen J, Vuolteenaho O, Leppäluoto J. (2001) Radioiodinated tyroly-ouabain and measurement of a circulating ouabain-like compound *Clin Chem* 47: 95-101.
- ¹¹⁵ Collinson PO, Barnes SC, Gaze DC, Galasko G, Lahiri A, Senior R. (2004) Analytical performance of the N terminal pro B type natriuretic peptide (NT-proBNP) assay on the Elecsys 1010 and 2010 analysers. *Eur J Heart Fail* 6: 365-8.
- ¹¹⁶ Gottdiener JS, Bednarz J, Devereux R, Gardin J, Klein A, Manning WJ, Morehead A, Kitzman D, Oh J, Quinones M, Schiller NB, Stein JH, Weissman NJ; American Society of Echocardiography. (2004) American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials; a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and The Task Force on Echocardiography in Clinical Trials. *J Am Soc Echocardiogr* 17: 1086-119.

-
- ¹¹⁷ Niki K, Sugawara M, Chang D, Harada A, Okada T, Sakai R, Uchida K, Tanaka R, Mumford CE. (2002) A new noninvasive measurement system for wave intensity: evaluation of carotid arterial wave intensity and reproducibility. *Heart Vessels* 17: 12-21.
- ¹¹⁸ American Thoracic Society (1999) Recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 160: 2104-17.
- ¹¹⁹ Schillaci G, Verdecchia P, Borgioni C, Ciucci A, Gattobigio R, Sacchi N, Benemio G, Porcellati C. (1996) Predictors of diurnal blood pressure changes in 2042 subjects with essential hypertension. *J Hypertens* 14: 1167-73.
- ¹²⁰ Vakkuri O, Arnason SS, Pouta A, Vuolteenaho O, Leppäluoto J. (2000) Radioimmunoassay of plasma ouabain in healthy and pregnant individuals. *J Endocrinol* 165: 669-77.
- ¹²¹ Giles TD. (2006) Circadian rhythm of blood pressure and the relation to cardiovascular events. *J Hypertens Suppl* 24: 11-6.
- ¹²² Tripodi G, Citterio L, Kouznetsova T, Lanzani C, Florio M, Modica R, Messaggio E, Hamlyn JM, Zagato L, Bianchi G, Staessen JA, Manunta P. (2009) Steroid biosynthesis and renal excretion in human essential hypertension: association with blood pressure and endogenous ouabain. *Am J Hypertens* 22: 357-63.
- ¹²³ Crabos M, Ausiello DA, Hauptert GT Jr, Cantiello HF. (1988) Atrial natriuretic peptide regulates release of Na⁺, K⁺-ATPase inhibitor from rat brain. *Am J Physiol* 254: F912-917.
- ¹²⁴ Salomaa V, Riley W, Kark JD, Nardo C, Folsom AR. (1995) Non-insulin-dependent diabetes mellitus and fasting glucose and insulin concentrations are

associated with arterial stiffness indexes. The ARIC Study. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation* 91: 1432-43.

¹²⁵ Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. (1999) Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation* 99: 2434-9.

¹²⁶ Safar ME, Levy BI, Struijker-Boudier H. (2003) Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular disease. *Circulation* 107: 2864-9.

¹²⁷ Briones AM, Xavier FE, Arribas SM, González MC, Rossoli LV, Alonso MJ, Salaices M. (2006) Alterations in structure and mechanics of resistance arteries from ouabain-induced hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H193-201.

¹²⁸ Kawamoto R, Kohara K, Tabara Y, Miki T, Ohtsuka N, Kusunoki T, Yorimitsu N. (2008) An association between decreased estimated glomerular filtration rate and arterial stiffness. *Intern Med* 47: 593-8.

¹²⁹ Nakagawa N, Takahashi F, Chinda J, Kobayashi M, Hayashi Y, Abe M, Saijo Y, Kikuchi K, Hasebe N. (2008) A newly estimated glomerular filtration rate is independently associated with arterial stiffness in Japanese patients. *Hypertens Res* 31: 193-201.

¹³⁰ Muda P, Kampus P, Zilmer M, Zilmer K, Kairane C, Ristimäe T, Fischer K, Teesalu R. (2003) Homocysteine and red blood cell glutathione as indices for middle-aged untreated essential hypertension patients. *J Hypertens* 21: 2329-33.

¹³¹ Nakamura K, Kusano KF, Matsubara H, Nakamura Y, Miura A, Nishii N, Banba K, Nagase S, Miyaji K, Morita H, Saito H, Emori T, Ohe T. (2005) Relationship between oxidative stress and systolic dysfunction in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Card Fail* 11: 117-23.

-
- ¹³² Simic DV, Mimic-Oka J, Pljesa-Ercegovac M, Savic-Radojevic A, Opacic M, Matic D, Ivanovic B, Simic T. (2006) Byproducts of oxidative protein damage and antioxidant enzyme activities in plasma of patients with different degrees of essential hypertension. *J Hum Hypertens* 20: 149-55.
- ¹³³ Watanabe T, Yasunari K, Nakamura M, Maeda K. (2006) Carotid artery intima-media thickness and reactive oxygen species formation by monocytes in hypertensive patients. *J Hum Hypertens* 20: 336-40.
- ¹³⁴ Wykretowicz A, Adamska K, Krauze T, Guzik P, Szczepanik A, Rutkowska A, Wysoki H. (2007) The plasma concentration of advanced oxidation protein products and arterial stiffness in apparently healthy adults. *Free Radic Res* 41: 645-49.
- ¹³⁵ Yasunari K, Maeda K, Nakamura M, Watanabe T, Yoshikawa J, Asada A. (2004) Effects of carvedilol on oxidative stress in polymorphonuclear and mononuclear cells in patients with essential hypertension. *Am J Med* 116: 460-5.
- ¹³⁶ Osicka TM, Comper WD. (2004) Characterization of immunochemically nonreactive urinary albumin. *Clin Chem* 50: 2286-91.
- ¹³⁷ Strong KJ, Osicka TM, Comper WD. (2005) Urinary-peptide excretion by patients with and volunteers without diabetes. *J Lab Clin Med* 145: 239-46.
- ¹³⁸ Nakayama A, Sakatsume M, Kasama T, Kawara T, Gejyo F, Isobe M, Sato K, Shiba K. (2009) Molecular heterogeneity of urinary albumin in glomerulonephritis: comparison of cardiovascular disease with albuminuria. *Clin Chim Acta* 402: 94-101.
- ¹³⁹ Gudehithlu KP, Pegoraro AA, Dunea G, Arruda JA, Singh AK. (2004) Degradation of albumin by the renal proximal tubule cells and the subsequent fate of its fragments. *Kidney Int* 65: 2113-22.