

**A szelektív endothelin-A receptor gátlás  
kardiális és perifériás hemodinamikai hatásai**

**dr. Eszlári Edgár**

**Ph.D. tézis**  
(rövidített változat)

**Sebészeti Műtéttani Intézet és Kardiológiai Központ, Szívsebészeti Osztály,  
Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar**

2011

Szeged

## BEVEZETÉS

Az endothelinek rendkívül hatékony endogén vazóaktív peptidek, melyek közül a fő izoforma az endothelin-1 (ET-1). Ma már számos adat bizonyítja, hogy az ET-1 képződése és az endothelin receptorok aktiválódása döntő szerepet játszik a keringés élettani szabályozásában és a kardiovaszkuláris rendszer akut és krónikus rendellenességeiben egyaránt. Vizsgálataink általános célja az volt, hogy jellemezzük az ET receptorok szerepét a makro- és mikrokeringési mintázatok változásainak kialakításában, olyan állapotokban, melyek ET-1 túltermeléssel társulnak.

### A szív pumpafunkció szabályozása és analízise

A szívizom teljesítménye döntően az előterheléstől, utóterheléstől, szívfrekvenciától és a szívkontraktilitástól függ, illetve hatással vannak rá neurohormonális és lokális endothium eredetű faktorok. A szívkontraktilitás úgy definiálható, mint a szívizomrost egy adott rosthosszúságra vonatkozó összehúzódnási képessége, ill. annak mértéke. A kontrakció alatti erő kifejtés képességének változásait (a kontrakciós erő változtatásának képességét) a miozin és az aktin filamentumok közötti kötések eredményezik. Ennek az összetett paraméternek a közvetlen mérése kísérletes körülmények között lehetséges, ugyanakkor a szív kontraktilitásának vizsgálata a klinikumban is rendkívül hasznos lenne. A gyakorlatban alkalmazható, a szívkontraktilitást talán legpontosabban értékelő formulák a vég-szisztolés nyomás-térfogat összefüggés (ESPVR, end-systolic pressure-volume relationship), valamint a pre- és afterloadtól független vérőmunka-végdiasztolés volumen összefüggés (PRSW, preload recruitable stroke work). Az ESPVR és a PRSW klinikai alkalmazásának legjelentősebb akadályát a szívüregek volumenének méréséből adódó nehézségek, valamint a nyomás-térfogat hurok létrehozásához szükséges preload csökkentés kivitelezése jelentik.

### A mikrokeringés jellemzői és analízise

A keringési zavarok összes típusában a közös nevező a mikrokeringés károsodása, mely kezelés nélkül fatális kimenetelű. A mikrokeringés fenntartása nélkülözhetetlen a perfundált szövetek életben maradásához és működéséhez: oxigént, tápanyagokat, mediátorokat és hormonokat szállít a szövetekhez, eltávolítja az ott képződő anyagcsere-végtermékeket, biztosítja a megfelelő immunológiai funkciót. A kapilláris véráramlás fő meghatározói általánosságban a kapilláris nyomás, az arteriolák/venulák tónusa, hemorrheológiai tényezők, valamint a kapillárisok átjárhatósága. A mikrokeringési áramlást szabályozó mechanizmusokat miogén, metabolikus és neurohormonális csoportokba sorolhatjuk. A miogén szabályozás alatt a feszülés és a nyomás érzékelését értjük, a metabolikus szabályozás pedig az  $O_2$ ,  $CO_2$ , laktát és  $H^+$  lokális koncentrációjára épül. Ez az irányító rendszer autokrin és parakrin kölcsönhatások segítségével szabályozza a mikrokeringésben a véráramlást, amely fedezi a sejtek oxigénszükségletét. A keringési zavarokban, mint a hipovolémiás vagy hemorrágiás sokkban, csökken az oxigénszállítás a szövetek felé, ezért az oxigén extrakció növekedése kompenzálja a megnövekedett oxigén igény fenntartását. Ha az oxigénszállítás egy kritikus szint alá esik, az oxigén extrakció fokozódása már nem tudja biztosítani az oxigén igényt. Amennyiben a véráramlás nem igazodik az  $O_2$  igényhez, a kapillárisok egy része alul perfundált, míg a többi túl perfundált lesz, azaz egy heterogén, inszufficiens mintázatú szöveti keringésmintázat jön létre.

Az orvosi képalkotó technológia területén az utóbbi időben végbement fejlődés, valamint a klinikai vizsgálatokból származó eredmények vezettek el ahhoz a felismeréshez, hogy a mikrokeringés központi szerepet játszik a patológiás állapotokban. A legmeggyőzőbb eredmények az intravitális videomikroszkóppal végzett tanulmányokból származnak. Ez a technológia lehetővé teszi, hogy *in vivo* figyeljük meg a mikrokeringést és pontosan

meghatározzuk, hogy a keringési zavarok milyen következményekkel járnak. A mikrocirkulációban bekövetkező keringési zavarokat többek között a funkcionális kapilláris denzitással (FCD) és a vörösvérsejtek áramlási sebességével (RBCV) jellemezhetjük. A mikrokeringési zavarok fő okai a perfúzió és a vazoaktivitás változásai, endothel sérülések, rheológiai eltérések, celluláris aktivitás, pl. a komplementrendszer aktiválódása, gyulladásos folyamatok, leukocita-endotél sejt interakciók lehetnek. A károsodott mikrokeringés általánosan használt kifejezés ennek az állapotnak a leírására. Azonban ez eléggé félrevezető módon azt sugallhatja, hogy a mikrokeringési válaszreakciók egyforma természetűek és hasonló mértékűek. Az intravitális videomikroszkóppal végzett tanulmányok igazolták, hogy a hipovolémiás makrokeringés fokozott mikrokeringési heterogenitással társul, amely az oxigén eltérő disztribúciójához vezethet.

### **Az endotelinek vazoregulátor szerepe**

Az ET felszabadulást szabályozzák mind rheológiai, mind kémiai tényezők, mint a feszülés, a shear stressz és a pH. A hipoxiát tartják az ET szintézis egyik alapvető ingerének. A citokinek, az adhézios molekulák, illetve a vazoaktív anyagok szintén stimulálhatják az ET-produkciót. Élettani körülmények között az ET-t elsősorban az endotélium termeli, azonban patofiziológiás állapotokban egyéb sejtek, mint például a PMN sejtek, makrofágok, simaizomsejtek, szívizomsejtek és mezangeális sejtek szintén lehetnek az ET-1 felszabadulás forrásai. A különböző vaszkuláris és nem vaszkuláris szöveteknek az ET-1-el szemben mutatott érzékenysége eltérő. Hatásukat legalább két különböző receptor altípuson, az ET-A és ET-B receptorokon keresztül fejtik ki. A receptorok különböző keringési hatásokat közvetítenek a lokalizációjuktól függően: kimutatták, hogy a vazokonstrikció döntően az ET-A receptorokon keresztül érvényesül, míg az ET-B receptorok aktivációja mind vazodilatátor, mind vazokonstriktor választ ki tud váltani. A miokardium számos mediátora mellett, az ET-1 is befolyásolhatja a szívizom kontraktilitását. Emellett kimutatták, hogy a plazma ET-1 szintek egyenes irányú összefüggést mutatnak a hemorrhagiás sokk alatt veszített vérmennyiséggel. Így a vazokonstriktor ET receptorok aktivációja döntő szerepet játszhat a perifériás kardiovaszkuláris rendszer akut mikrokeringési zavaraiiban is. Az ET-ek krónikus kardiovaszkuláris és egyéb szervrendszeri megbetegedésekben betöltött szerepét támasztja alá a citokin termelés stimulálása, a hízósejtek degranulációja, a neutrofilok adhéziónak és a vérlemezkék aggregációjának a közvetlen előidézőse.

Az ET receptorok specifikus gátlása egy ígéretes farmakológiai eszköz lehet az ET-ek élettani szabályozásban és a különböző kórállapotokban játszott szerepének felderítésében. Vizsgálatainkban az ET-A receptorral szemben erőteljes gátló potenciállal rendelkező ETR-P1/fl peptidet alkalmaztuk a makro- és mikrokeringési zavarok ellensúlyozására.

### **A folyadék-reszuszcitáció jelentősége keringési elégtelenségben**

Az akut keringési elégtelenség kezelésében a gyors, hatékony és egyénre szabott folyadékpótlás létfontosságú. Az intravénás folyadékterápiával elkerülhetjük a dehidrációt, fenntarthatunk egy hatásos keringő volument, és megelőzhetjük a nem megfelelő szöveti perfúzió kialakulását, összességében biztosíthatjuk a szervek megfelelő oxigén-ellátását. Az elsődleges volumen reszuszcitáció célja a véráramlás aránytalan eloszlásának visszafordítása a makro-, és mikrokeringésben. Számos tanulmány igazolta, hogy a makrokeringés helyreállítása ellenére létrejön a mikrokeringés zavara, és a splanchnikus szerveket érintő áramlási hiány tartósan fennáll. A volumen terápia egyik alkalmazási módja, a kis volumenű folyadék reszuszcitáció során alkalmazott hiperozmotikus, kolloid-krisztalloid oldatok infundálása, amelyek hatékonyan javítják a kardiovaszkuláris funkciót. A hiperozmotikus oldatok plazma volumen expanziót okoznak az extracelluláris térből történő víz-elvonás

révén, amellyel csökkentik az extravaszkuláris nyomást, növelik a keringő volument, emelik a vérnyomást és a perctérfogatot, a mikrokeringés szintjén pedig növelik a szöveti oxigenizációt. A dextrán-alapú hiperozmotikus oldatok (7.2 % hipertóniás só – 10% dextrán; HSD) igen hatásosnak bizonyultak a vérzéses shock terápiájában, mivel a dextrán komponens megnövelte a hatás időtartamát és csökkentette az endotél sejtek duzzanatát. A folyadékpótlás elsődleges célszerve ugyanis az ér endothelium. Ez a felszín érzékeny a véráramlás mechanikai ingereire, és igen jelentős szerepet játszhat a reszuszcitációban, mivel számos endothel-eredetű vazoaktív mediátor felszabadulásának és termelődésének a helyszíne. A HSD infúzió jelentős mechanikai ingert jelent az endothel sejtek számára, egyrészt a hiperozmotikus hatása miatt, másrészt mivel növeli a felszínre ható nyíró erőt.

## CÉLKITŰZÉSEK

A vizsgálataink általános célja volt az ET-A receptor antagonizmus centrális és perifériás keringésre gyakorolt hatásának vizsgálata és jellemzése fiziológiás állapotban, valamint ET-1 túltermeléssel társult kóros körülmények között.

Az első kísérletsorozatunk célja volt megvizsgálni a perifériás véráramlás gyors változásainak a következményeit a balkamrai funkciókra ET-A receptor antagonista kezeléssel és anélkül.

A második kísérletsorozatunkban a nitrogén monoxid (NO) termelés farmakológiai gátlásával megvizsgáltuk az ET-A receptorok szerepét és jelentőségét a szív teljesítményére NO hiányos állapotban.

A harmadik kísérleti sorozatban megvizsgáltuk az akut haemorrhagiás shock okozta vékonybél nyálkahártya mikrokeringési elégtelenségét, annak jellemzőit, valamint az ET-A receptor antagonistával kiegészített folyadék terápia hatékonyságát a mikroperfúzió helyreállításában.

## MÓDSZEREK

Kísérleteinkben 74 (24+21+29) Na-pentobarbitállal altatott, lélegeztetett keverék kutyán végeztünk méréseket. Az I. és II. kísérletsorozatban thorakotomizált állatokon invazív technikával mértük az artériás középnyomást, a centrális vénás nyomást, a bal kamrai nyomást és átmérőt, valamint pulmonális katéter (Swan-Ganz katéter) segítségével kalkuláltuk a perctérfogatot, a teljes perifériás ellenállást. A szívkontraktilitását a balkamrai nyomás-átmérő összefüggésből számítottuk. A III. kísérletsorozatban laparotómia után ultrahangos áramlásmérőt helyeztünk a terminális ileumot ellátó artériára, valamint az antimezenterialis oldalon végzett enterotómia után a nyálkahártya mikrokeringését (funkcionális kapilláris denzitás, áramlási paraméterek) ortogonális polarizációs spektrális képalkotás (OPS) technikával vizsgáltuk, továbbá invazív technikával monitoroztuk az artériás középnyomást és Swan-Ganz katéter segítségével kalkuláltuk a perctérfogatot. Mindhárom sorozatban meghatároztuk az ET-1 plazma szintjét ELISA kit (Biomedica) segítségével.

## AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

- I. A HSD infúzió által előidézett pozitív inotrópia és perctérfogat növekedés ET-1 túltermeléssel és a reszuszcitáció késői fázisában, a szív teljesítményére potenciálisan kedvezőtlen NO-ET-1 egyensúly felborulásával társult. Az ET-A receptor antagonista előkezelés azonban csökkentette a HSD infúzió késői kedvezőtlen mellékhatásait.
- II. *In vivo* bizonyítottuk, hogy az NO szintézis gátlása ET-1 felszabadulást, ezáltal ET-A receptor dependens pozitív inotróp hatást és perctérfogat csökkenést eredményez.

- III. A HSD-vel végzett kis volumenű reszuszcitáció hatékonyan javítja a perifériás szövetek mikroperfúziós zavarát, heterogenitását kísérletes haemorrhagiás sokkot követően. Az ET-A receptor antagonistával kiegészített HSD infúzió további kedvező mikrokeringési hatása, a heterogén mikroperfúzióon belül, a gyors áramlású periódusok relatív időtartamának növelése, ezáltal a szöveti oxigenizáció javítása, a bélnyálkahárnya villusaiban a reszuszcitáció korai fázisában.

## MEGBESZÉLÉS

Az első vizsgálat eredményeit összegezve megállapítható, hogy a HSD infúzióval előidézett jelentős véráramlás növekedés egyrészt volumen expanzió, másrészt endotheliális NO produkció eredménye, amely ugyanakkor jelentős perifériás és kardiális ET-1 felszabadulással jár. A volumen reszuszcitáció korai fázisában, a HSD stimulálta ET-1 felszabadulás ET-A receptor dependens szívkontraktilitás fokozódást eredményez. Azonban a poszt-reszuszcitáció késői szakaszában a vazokonstriktor ET-1 túlsúlya, a HSD folyadékterápia kedvezőtlen mellékhatásaként jelentkezik, amely az ET-1 - NO egyensúly kedvezőtlen felborulásában és extrém perifériás érellenállás növekedés formájában nyilvánul meg.

A második vizsgálat demonstrálta, hogy az NO hiányos állapot ellentmondásosan befolyásolja a szív teljesítményét: a preload és a perctérfogat drámai csökkenése mellett a bal kamrai kontraktilitás fokozódása figyelhető meg. Az előbbi hatás a csökkent NO produkció közvetlen eredménye, míg az utóbbi, pozitív inotróp hatás az NO hiány miatt jelentkező ET-1 produkció indirekt következménye. Mindkét hatás létrejöttében az ET-A receptorok szerepe mutatható ki.

A harmadik vizsgálat eredményei igazolták, hogy a hipovolémiás makrokeringés fokozott mikrokeringési heterogenitással – időben váltakozó időtartamú és sebességű perfúzióval – jellemezhető a bélnyálkahárnya villusaiban. A különböző folyadék reszuszcitációs technikák (csak krisztalloiddal vagy hipertóniás-hiperonkotikus HSD-vel végzett volumen terápia) hatását összehasonlítva, a HSD hatékonyabban javította a mikroperfúzió egyes paramétereit. Azonban a mikrokeringés jelentős javulását az ET-A receptor antagonistával kiegészített HSD alkalmazása esetén érték el, amely a prekapillaris vazokonstrikció gátlásával növelte a gyors áramlású periódusok relatív időtartamát, ezáltal a vizsgált szövetnek globális mikroperfúzióját.