

Doktori értekezés

A hormonpótló terápia és az életmód hatásának vizsgálata kardiovaszkuláris kórképekben

Nagyné Hoffmann Alexandra

Témavezetők:

Dr. Varga Csaba, egyetemi docens

Dr. Pósa Anikó, egyetemi docens

Biológia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem

Természettudományi és Informatikai Kar

Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék

HR-Pharma Kft.



Szeged

2024

1 TARTALOMJEGYZÉK

1	Tartalomjegyzék.....	2
2	Rövidítések jegyzéke	4
3	Bevezetés	10
4	Irodalmi áttekintés	14
4.1	Az oxidáns és antioxidáns folyamatok résztvevői.....	14
4.2	A hem oxigenáz, mint antioxidáns enzim	16
4.3	Az oxidatív stressz és a kardiovaszkuláris kórfolyamatok kapcsolata	18
4.4	Az ösztrogén, mint kardioprotektív hatású hormon és a hormonpótló terápia jelentősége	19
4.5	Az elhízás és az életmód (testmozgás és étrend) adipokin profilra kifejtett, illetve kardiovaszkuláris hatásai	22
5	Célkitűzések.....	27
6	Anyagok és módszerek	28
6.1	Az öregedés a hormonpótló terápia hatásainak vizsgálata nőstény patkányok kardiovaszkuláris rendszerében	28
6.1.1	Vizsgált állatcsoportok	28
6.1.2	Szívszövetből történő HO enzimaktivitás meghatározás	29
6.1.3	A glutation tartalom meghatározása szívszövetből	30
6.1.4	Zselatin zimográfia.....	30
6.1.5	Fehérjetartalom mérése Bradford-módszerrel.....	31
6.1.6	Iszkémia-reperfúziós sérülés modellezése Langendorff perfúziós rendszerrel..	31
6.1.7	Infarktusz terület meghatározása	32
6.1.8	Az 1-es típusú kollagén és TIMP-2 koncentrációk meghatározása	32
6.1.9	Statisztikai analízis	32
6.2	Az életmód (fizikai aktivitás és étrend) hatása SHRSP patkányokban	33
6.2.1	Vizsgált állatcsoportok	33
6.2.2	Adiponektin, leptin, omentin és chemerin koncentrációk meghatározása ELISA módszerrel.....	34
6.2.3	Lipidperoxidáció meghatározás	34
6.2.4	Statisztikai analízis	35
7	Eredmények	36
7.1	Az öregedés és az E ₂ / RAL kezelés hatása nőstény patkányok kardiovaszkuláris rendszerében	36
7.1.1	A szív HO aktivitása	36
7.1.2	A szív teljes glutation tartalmának meghatározása	37

7.1.3	A szívszövet 1-es típusú kollagén koncentrációjának meghatározása	38
7.1.4	A szívszövet MMP-2 aktivitásának, illetve a TIMP-2 koncentrációjának meghatározása	39
7.1.5	A szív infarktusz területének meghatározása	40
7.2	Az életmód (étrend és fizikai aktivitás) hatásának vizsgálata	41
7.2.1	A zsírszövet és szérumban adiponektin koncentrációjának változása a magas zsírtartamú étrend és a szabadidős testmozgás hatására	41
7.2.2	A zsírszövet és szérumban leptin koncentrációjának változása a magas zsírtartamú étrend és a szabadidős testmozgás hatására	42
7.2.3	A zsírszövet és szérumban omentin koncentrációjának változása a magas zsírtartamú étrend és a szabadidős testmozgás hatására	43
7.2.4	A zsírszövet és szérumban chemerin koncentrációjának változása a magas zsírtartamú étrend és a szabadidős testmozgás hatására	44
7.2.5	A magas zsírtartamú étrend és a szabadidős testmozgás hatása a zsírszövetben fellépő lipidperoxidációra	45
8	Diszkusszió	46
9	Köszönetnyilvánítás	67
10	Irodalomjegyzék	68
11	Összefoglalás	83
12	Summary	86
13	Tudományos közlemények listája	89
13.1	A doktori eljárás alapját képező 2 db közlemény	89
13.2	Referált folyóiratban megjelent közlemények	89
13.2.1	A disszertáció témájához kapcsolódó közlemények	89
13.2.2	Egyéb közlemények	90
13.3	Egyéb szakmai anyagok	92
13.3.1	A disszertáció témájához kapcsolódó szakmai anyagok	92
13.3.2	Egyéb szakmai anyagok	93

2 RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

4-HNE: 4-hidroxy-2-nonenal

α -MSH: α -melanocita-stimuláló hormon

α -TO: α -tokoferoxil gyök

α -TOH: alfa-tokoferol, E-vitamin

AAR: rizikó zóna (area at risk)

ACTH: adrenokortikotropin hormon

AdipoR1: adiponektin receptor 1

AdipoR2: adiponektin receptor 2

AF-1: aktiválási funkciós domén 1

AF-2: aktiválási funkciós domén 2

AHA: Amerikai Szív Szövetség (American Heart Association)

Akt: protein kináz B

AMPK: 5'-adenozin-monofoszfát által aktivált protein kináz

BAT: barna zsírszövet (brown adipose tissue)

BMI: testtömeg index (body mass index)

BSA: marha szérum albumin (bovine albumin serum)

CF: szív fibroblaszt (cardiac fibroblast)

cGMP: ciklikus guanozin-monofoszfát

CMKLR1: kemokin-szerű receptor 1

CO: szén-monoxid

CO₂: szén-dioxid

CRP: C-reaktív fehérje

CTD: C-terminális domén

CTRL: kontroll

Cu: réz

CVD: kardiovaszkuláris betegségek (cardiovascular disease)

DBD: DNS kötő domén (DNA binding domain)

DNS: dezoxiribonukleinsav

DTNB: 5,5'-ditio-bisz-2-nitrobenzoésav

DTT: ditioneitol

E₁: ösztron

E₂: ösztrogén, 17 β -ösztradiol

E₃: ösztriol

E₄: ösztetrol

EC: endothel sejt (endotel cell)

EDCF: endothel-eredetű kontrakciós faktorok (endothelium derived constricting factor)

EDTA: etilén-diamin-tetraecetsav-dinátrium-só-dihidrát

ELISA: enzim kötött immunsorbens vizsgálat (enzyme-linked immunosorbent assay)

eNOS: endoteliális nitrogénmonoxid-szintáz

ER α : ösztrogénreceptor- α

ER β : ösztrogénreceptor- β

ERK: extracelluláris szignál által szabályozott kinázok (extracellular signal-regulated kinases)

ERK1: extracelluláris szignál által szabályozott kináz1 (extracellular signal-regulated kinase1)

ERK2: extracelluláris szignál által szabályozott kináz2 (extracellular signal-regulated kinase2)

Fe²⁺: két értékű vasion

FFA: szabad zsírsav

FGF21: fibroblaszt növekedési faktor 21

GPER: G-fehérjéhez kapcsolt ösztrogénreceptor

GPx: glutation-peroxidáz

GSH: redukált glutation

GSSG: oxidált glutation

H: csuklórégió

HDL: magas sűrűségű lipoprotein (high density lipoprotein)

HFD: 40 %-os zsírtartalmú étrend (high fat diet)

H₂O: víz

H₂O₂: hidrogén-peroxid

HMOX: hem oxigenáz-1 gén

HO: hem oxigenáz

HO-1: hem oxigenáz-1

HO-2: hem oxigenáz-2

HO-3: hem oxigenáz-3

\cdot HOO: hidroperoxil gyök

HRT: hormonpótló terápia (hormone replacement therapy)

hsCRP: nagy érzékenységű C-reaktív protein (high sensitive C-reactive protein)

ICAM-1: intercelluláris adhéziós molekula 1

IL-1 β : interleukin-1 β

IL-2: interleukin-2

IL-6: interleukin-6

IL-8: interleukin-8

IL-10: interleukin-10

IL-15: interleukin-15

iNOS: indukálható nitrogénmonoxid-szintáz

I/R: iszkémia/reperfúzió

IS: infarktus mérete (infarct size)

JAK2: Janus-kináz 2

L \cdot : lipidgyök

LAD: bal leszálló koronária artéria (left anterior descending artery)

LBD: ligandkötő domén (ligand-binding domain)

LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein (low density lipoprotein)

Lep, LEP: leptin gén

LO \cdot : alkilgyök

L-OH: lipid alkohol

LOO \cdot : lipidperoxi gyök

LOOH: lipid hidroperoxid

LOX-1: lektinszerű oxidált kis sűrűségű lipoprotein receptor 1

LpA: lipoprotein A

LRb: leptin receptor b

LV: bal kamra (left ventricle)

KCl: kálium-klorid

KH₂PO₄: kálium-foszfát

KSH: Központi Statisztikai Hivatal

MAPK: mitogén-aktivált protein kináz

MCP-1: monocita kemoattraktáns fehérje 1

MDA: malondialdehid

MDA-Lys: malondialdehid-lizin

MetS: metabolikus szindróma

MgCl₂: magnézium-klorid

MI: miokardiális infarktus

MMP-2: mátrix metalloproteináz 2

MMP-9: mátrix metalloproteináz 9

Mn: mangán

MPO: mieloperoxidáz

mRNS: hírvivő ribonukleinsav

NaCl: nátrium-klorid

NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid foszfát

NaHCO₃: nátrium-hidrogén-karbonát

NF- κ B: aktivált B-sejtek nukleáris faktor kappa-könnyűlánc-fokozója

nNOS: neuronális nitrogénmonoxid-szintáz

NO: nitrogén-monoxid

NOS: nitrogénmonoxid-szintáz

NOX: NADPH-oxidáz

Nrf2: nukleáris faktor eritroid 2-vel kapcsolatos 2-es faktor

NTD: N-terminális domén

O₂: oxigén

O₂^{•-}: szuperoxid-anion gyök

ob: elhízás gén

OD: optikai denzitás

OH[•]: hidroxil gyök

ONOO⁻: peroxinitrit

OS: oxidatív stressz

OVX: műtéti úton petefészkek eltávolított (ovariectomy)

oxLDL: oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein

PBS: foszfáttal pufferolt sóoldat

PI3K: foszfoinozitol-3-kináz

PMSF: fenilmetilszulfonil fluorid

RAL: raloxifen

RAS: patkány szarkóma vírus (rat sarcoma virus)

ROS: reaktív oxigén fajta (reactive oxygen species)

SASP: szenescenciával összefüggő szekretoros fenotípus

SDS: nátrium-dodecil-szulfát (sodium dodecyl sulfate)

SERM: szelektív ösztrogénreceptor-modulátor

sGC: guanil-cikláz

SHR: spontán hipertenzív patkány

SHRSP: spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos patkány

SMAD3: „anyak a dekapentaplegiás homológ ellen” 3

SOCS3: citokin jelátvitel szuppresszora 3

SOD: szuperoxid-dizmutáz

STAT3: jelátalakító és transzkripció aktivátor 3

TGFβ1: transzformáló növekedési faktor β1 (transforming growth factor beta 1)

Th1: 1-es típusú segítő T-sejt

Th2: 2-es típusú segítő T-sejt

TIMP: metalloproteináz szöveti inhibitor

TIMP-2: metalloproteináz szöveti inhibitor 2

TNF-α: tumor nekrozis faktor alfa

TTC: 2,3,5-trifenil - tetrazólium-klorid

VCAM-1: vaszkuláris sejt adhéziós fehérje 1 (vascular cell adhesion molecule 1)

VEGF-A: vaszkuláris endoteliális növekedési faktor A (vascular endothelial growth factor A)

VSMC: vaszkuláris simaizom sejt (vascular smooth muscle cell)

WAT: fehér zsírszövet (white adipose tissue)

WHO: Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization)

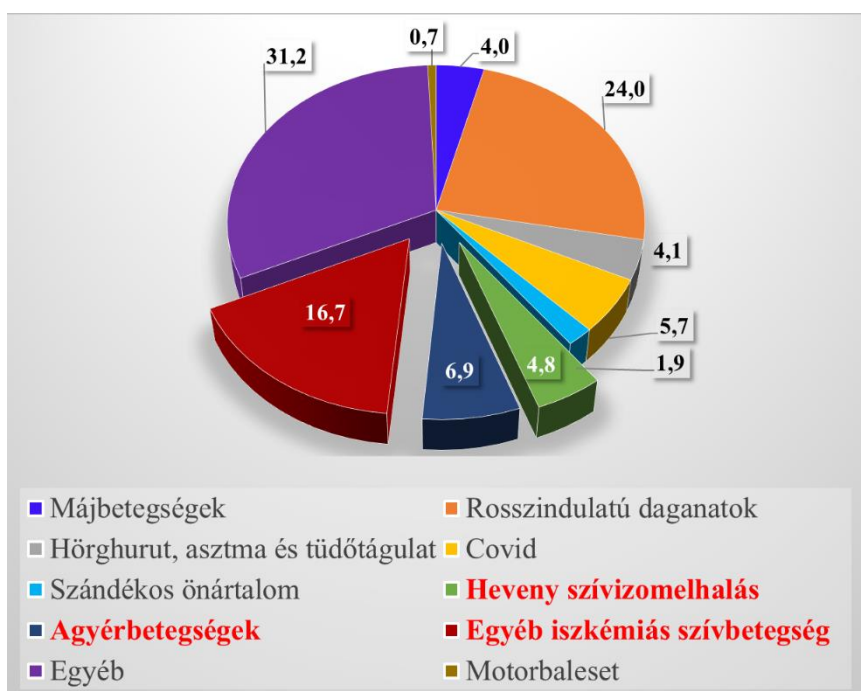
WKY: Wistar-Kyoto patkány

XO: xantin-oxidáz

Zn: cink

3 BEVEZETÉS

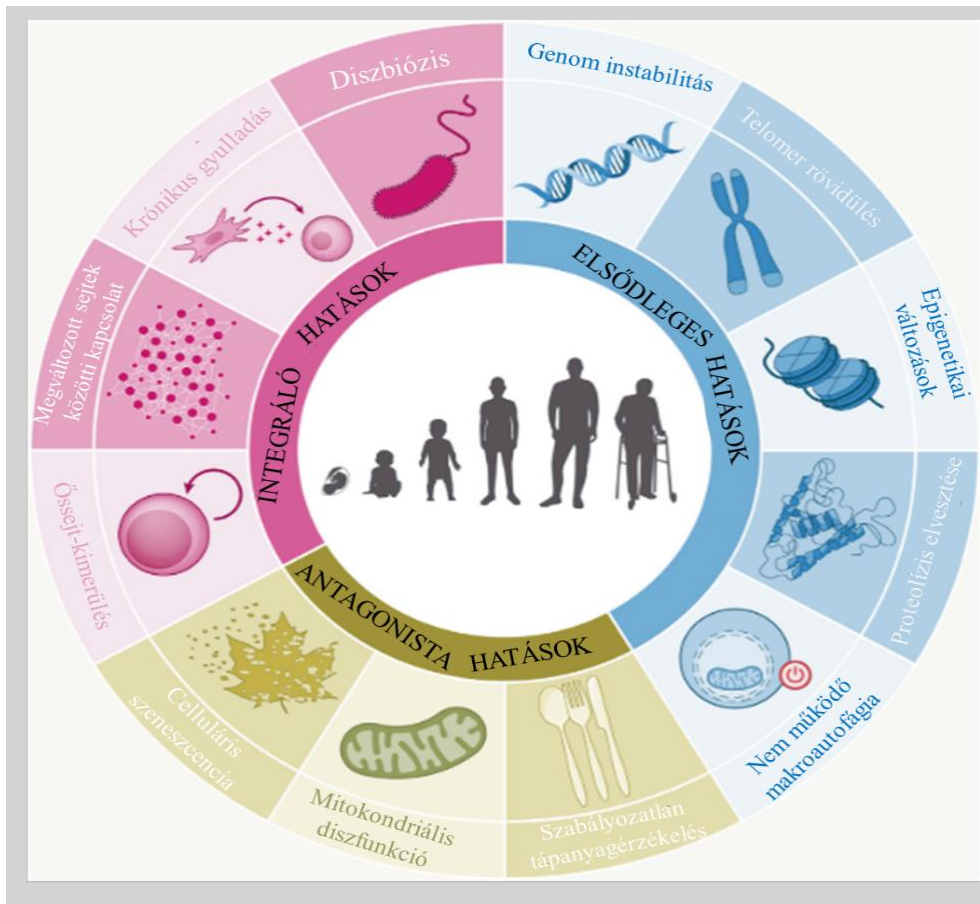
A WHO (Egészségügyi Világszervezet) szerint 2030-ra minden hatodik ember megéri a 60 éves életkort, sőt ez az idő is fokozatosan tolódik a 80 éves kor felé. Az életkor fokozatos kitolódása előre vetíti azt a tényt, hogy javítani kell az életminőséget, amely a pszichés károsodás – mint életcél, barát, társ elvesztése, társadalmi megszorítások – mellett, a sejt és szöveti szintű károsodás mérséklését, illetve megakadályozását jelenti. A szív- és érrendszeri betegségek a globális mortalitás és megbetegedések vezető okát képezik, amely szoros összefüggést mutat az időskorral társítható kórfolyamatok miatti leépüléshez [1]. A Központi Statisztikai Hivatal (KSH) 2022-ben végzett mérései szerint Magyarországon is fő halálóki tényezők között szerepel a szív- és érrendszeri megbetegedések száma. A százalékos eloszlások alapján az **1. ábra** diagramja jól szemlélteti, hogy a kardiovaszkuláris halálozások (heveny szívizomelhalás, agy-érbetegségek és egyéb iszkémiás szívbetegségek) az összes halálozás 28,4%-át teszik ki.



1. ábra

KSH statisztika: Halálozások a gyakoribb halálókók és nem szerint %-ban kifejezve [2]

Az öregedés egy progresszív soktényezős fiziológiás folyamat, amelyet a sejt és szöveti struktúrákban jellemző különböző degenerációs folyamatok felhalmozódása jellemez [3]. Két fő irányvonal elfogadott az öregedés elméletéről: a programozott és a károsodáson alapuló hiba elméletek [4]. Lopez-Otin és mtsi. 2022-ben 12 fő folyamatot jelölt meg, melyek részt vesznek az öregedés folyamatában, melyet a **2. ábra** tüntet fel részletesen.



2. ábra
Az öregedést meghatározó folyamatok
(Lopez-Otin és mtsi. nyomán [5])

Vannak elsődleges hatások az öregedés folyamatában, melyek a genom instabilitása, a telomer rövidülése, az epigenetikai változások, a proteolízis elvesztése és a nem jól, vagy egyáltalán nem működő makroautofágia. Az antagonista hatások közé sorolják a sejtöregedést, a mitokondriális diszfunkciót és a szabályozatlan tápanyag-érzékelést, míg az össejt-kimerülés, a megváltozott sejtek közötti kommunikáció, a diszbiózis és a krónikus gyulladás az integráló hatások közé tartoznak [5].

A krónikus gyulladás és az oxidatív stressz (OS) alapvető szerepet játszik az öregedési folyamatokban, elhízás kialakulásában és a degeneratív betegségekben [3]. Az OS-t általában a pro- és antioxidáns enzimek és egyéb molekulák közötti egyensúlyhiány következményeként írják le [6]. A reaktív oxigén fajták (ROS) - szabad gyökök és nem gyökös fajták - jótékony és káros hatásai közötti egyensúlyt a nem enzimatis és enzimatis méregtelenítési mechanizmusok együttes aktivitása hozza létre a sejtekben [7]. Az enzimatis hem oxigenáz (HO) által katalizált reakcióban a prooxidáns hem molekula lebontása történik meg ekvimoláris mennyiségű biliverdint és szén-monoxidot (CO) eredményezve. Antioxidáns és

gyulladáscsökkentő tulajdonságai mellett a HO megnövekedett aktivitása javítja a bal kamrai (LV) diszfunkciót, a hipertrófiát és az intersticiális fibrózist, valamint javítja a szöveti neovaszkularizációt, ami nagy hatással van a szív remodelling folyamataira [8]. Az egyik legfontosabb nem enzimatisz endogén antioxidáns a redukált glutation (GSH), amely közvetlen módon is részt vesz a ROS semlegesítésében, valamint segít az exogén antioxidánsok redukált formájának fenntartásában [9]. Az életkorral csökkenő GSH szint ROS túltermeléssel jár, ami a szívet sebezhetőbbé teszi a károsodásokkal szemben [10].

A minőségi öregedési folyamatok számos életmódbeli váltással elősegíthetők. Az egyik legfontosabb prevenciós és terápiás lehetőség a megfelelő testmozgás. A másik fontos tényező a helyes táplálkozási stratégia kialakítása, mely mögött meghúzódó feltételezett OS és a gyulladás csökkentése [11]. A kalória csökkentett étrend – miközben tartalmazza a megfelelő mikrotápanyag forrást – az egyik legjobban alátámasztott táplálkozási minta, amely kedvezően befolyásolja a szív- és érrendszert [12]. Számos tanulmány alátámasztja a magas nátrium-só fogyasztás negatív hatásait a kardiovaszkuláris rendszerre, csökkentése bizonyítottan javítja az endothel funkciót [11]. A megelőzés mellett terápiás lehetőségek is rendelkezésre állnak a jobb életminőség elérése érdekében. Egy tanulmányban a nitrogén-monoxid (NO) biológiai hozzáférhetőgének növelése a nitrát-nitrit-NO útvonalat megcélozva életképes terápiás lehetőség lehet a kardiovaszkuláris rendszer egészségének öregedéssel kialakuló hibáinak javítására [13].

Az öregedéssel sok esetben együtt jár a testsúly gyarapodása. A testtömeg változásai a testzsír növekedését és a zsírintes testtömeg csökkenését is jelentik [14]. Grevendonk és mtsi. tanulmányából az is kiderül, hogy az idősödő felnőttek kevésbé energiahatékonyak, mint a fiatalok edzés közben. A testzsír eloszlásának különbségei jelentős hatással lehetnek a metabolikus diszfunkció kialakulására [15]. A nyugati étrend során bevitt nagy mennyiségű zsír elraktározása a zsírszövetben kisebb az idősebb felnőttekben, mint a fiataloknál, viszont a sovány szövetekben ennek a fordítottja jellemző, ami hozzájárulhat a „lipotoxicitáshoz”. A testmozgás és az étrenden kívül a szexuális szteroidok zsírszöveti funkcióira gyakorolt hatásai is megfigyelhetők [16].

Az elhízást öregedést elősegítőnek tekintik, mert fokozott oxidatív stresszel és pro-inflammatorikus állapottal jár együtt [17]. Napjainkban az elhízás a metabolikus szindróma (MetS) és a kardiovaszkuláris betegség (CVD) prekurzora. Az elhízás, mint világjárvány méreteket öltő betegség miatt egyre több ismerettel rendelkezünk a zsírszövetről és annak funkciójáról [18]. A zsírszövet egy energiatároló és endokrin funkcióval rendelkező szerv, melynek 2 fő típusa ismert: a fehér zsírszövet (WAT) és a barna zsírszövet (BAT). A WAT

adipociták feladata főként az energiaraktározás, az endokrin funkció és az inzulinérzékenység, a BAT adipociták pedig a hőtermelés szabályozását végzik. A WAT képes alkalmazkodni a krónikus túlzott energiabevitelhez. Az WAT expanziót az jellemzi, hogy a zsírsejtek felhalmozzák a különböző lipideket, és megnövekedik a méretük (hipertrófia) vagy később a számuk (hiperplázia) [19]. Azonban megfigyelték, hogy a tápanyagtöbblet felszaporodása zsírszövetben véges, ami végső soron az adipociták elhalásával jár, ami pedig egy gyulladásos választ fog kiváltani a környező immunsejtekből [20]. Számos tanulmány foglalkozik a testmozgás hatására bekövetkező kedvező zsír tömegének csökkenésével, viszont a zsírszövet morfológiai és funkcióbeli változására gyakorolt hatásáról kevés információnk van, különösen az elhízás és más anyagcsere-betegségek összefüggésében [19]. Egyre több kutatási eredmény mutat kapcsolatot az adipokinek és az elhízás különböző állapotai között. A zsírszövet számos adipokint termel: adiponektin, leptin, vaspin, omentin, rezisztin, chemerin. Ezek a szekretált molekulák befolyásolhatják az elhízást az étkezési viselkedés közvetlen szabályozása révén [21].

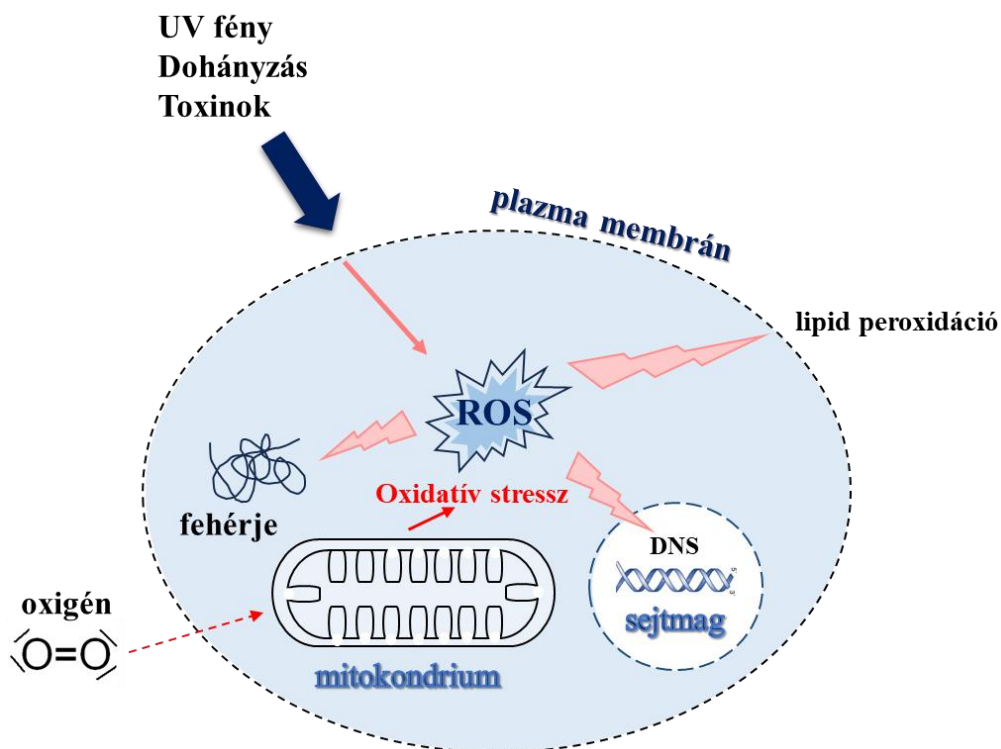
Az öregedés, biológiai nem / ösztrogéntelítettségi állapot mellett az életmód, mint a helyes táplálkozás és a testmozgás is nagyon fontos szerepet tölt be a kardiovaszkuláris kórképekben. Ennek fényében egyre nagyobb szükség van arra, hogy megfelelő kezelési módot találjunk, legyen az pl.: egy hormonpótló terápia vagy életmódváltás / fizikai aktivitás beillesztése a mindennapokba.

4 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

4.1 Az oxidáns és antioxidáns folyamatok résztvevői

A ROS-ák szerepe kettős a szív- és érrendszeri megbetegedések pathofiziológiájában. Alacsony koncentrációban jelentős mértékben hozzájárul a kardiovaszkuláris rendszer védelméhez, a pro-angiogenikus és anti-atherosclerotikus hatásaival. Magas koncentrációban azonban számos negatív hatást indukál. Stimulálja az endothel-eredetű kontrakciós faktorokat (EDCF), mellyel érlemeszesedést idéz elő; a szuperoxid-anion gyök ($O_2^{\cdot-}$) nagy mennyiségben reakcióba lép a NO^{\cdot} , így peroxinitrit ($ONOO^{\cdot}$) keletkezik, amely az endothel sejtek diszfunkcióját és halálát okozza [11].

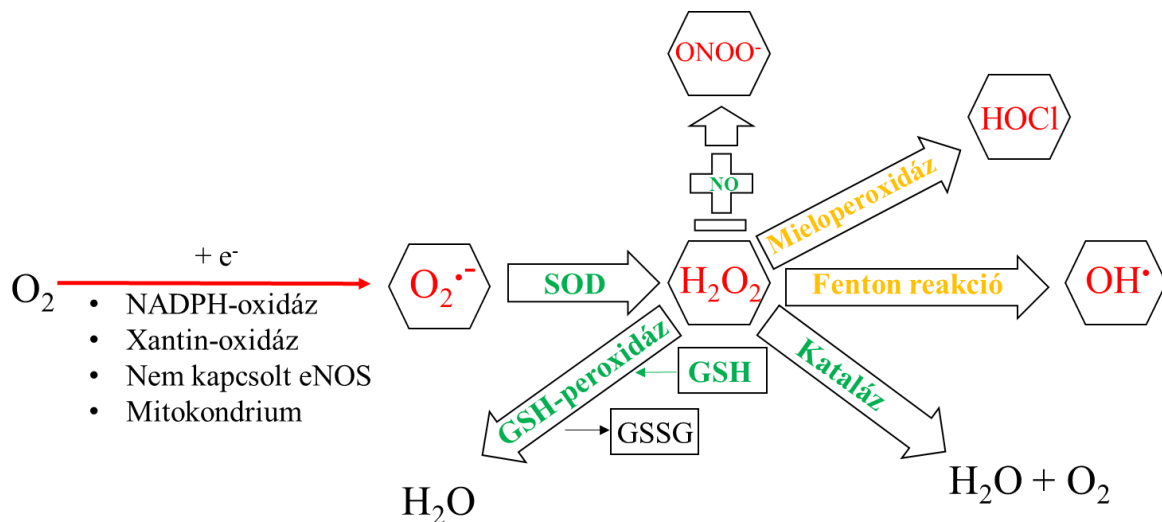
A szervezetben számos alapvető anyagcsere folyamat felelős a szabad gyökök termelődéséért, mindemellett olyan környezeti tényezők is jelentős hatással bírnak az oxidatív környezet kialakításában, mint például a légszennyező és -, mérgeanyagok, sugárzás és dohányzás (3. ábra).



3. ábra

Az oxidatív stressz általános hatásai
(ROS: reaktív oxigén fajta, DNS: deoxi-ribonukleinsav, UV: ultraibolya sugárzás)
(Leyane és mtsi. nyomán [3])

A szívben a fő ROS források (4. ábra) között említhetjük a mitokondriális elektrontranszport láncot, a xantin-oxidázt (XO), a nikotinamid-adenin-dinukleotid (NADPH) oxidázokat (NOX) és a nitrogénmonoxid-szintázokat (NOS) [22]. Az egész folyamat kiindulópontja az oxigén (O_2) molekula, amely egy elektron találkozásával átalakul $O_2^{\cdot-}$ -é, majd ez egy lánc folyamatot beindítva segít a többi gyökös – hidroxil- ($\cdot OH$), illetve hidroperoxil ($\cdot HOO$) – és nem gyökös – hidrogén-peroxid (H_2O_2) – reaktív fajták termelődésében (4. ábra).



4. ábra

A reaktív oxigén fajták kialakulása és átalakulás az szív- és érrendszerben
 (GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, H_2O : víz, $HOCl$: hipoklorit, H_2O_2 :
 hidrogénperoxid, NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid, NO : nitrogén-monoxid, O_2 : oxigén, $O_2^{\cdot-}$:
 szuperoxid anion gyök, $\cdot OH$: hidroxil gyök, $ONOO^-$: peroxinitrit, ROS: reaktív oxigén fajta, SOD:
 szuperoxid-dizmutáz)
 (Poprac és mtsi. (2017) nyomán [23])

A $O_2^{\cdot-}$ átalakulását H_2O_2 -dá a szuperoxid-dizmutázok (SOD) katalizálják. Számos szakirodalom igazolja, hogy a SOD, mint antioxidáns enzim, kiemelt szereppel bír a CVD-k pathofiziológiájában. A SOD-oknak 3 izoformája létezik: SOD1, SOD2, SOD3. A citoszolos SOD1 és az extracelluláris SOD3 réz (Cu) és cink (Zn) kofaktorokat használnak. A mitokondriális SOD2 pedig mangánt (Mn). SOD2 gátlásról írták le, hogy fokozott OS-t és a kardiomiociták hipertrófiáját okozta, míg a SOD2-knockout egerek a születést követő 10 napon belül kardiomiopátiában haltak meg [22].

Számos antioxidáns enzim képes a H_2O_2 -t vízzé (H_2O) méregteleníteni, ilyenek például: a kataláz, peroxiredoxinok és a peroxidázok. A glutation-peroxidáz (Gpx) megtalálható a sejtek citoplazmájában, a sejtmagban és a mitokondriumokban, működése során a H_2O_2 -t és a lipid peroxidokat képes semlegesíteni, mely reakcióhoz GSH-t használ fel mint redukáló komponenst. A redukált–oxidált glutation (GSH–GSSG) ciklus nagy szerepet játszik a

kardiomiociták H_2O_2 által kiváltott további szabadgyök elleni védelmében [24]. A GPx4 bizonyítottan alul működik a szívinfarktus korai és középső stádiumában [25]. Az oxidálódott glutation redukciójában a glutation-reduktázok játszanak szerepet. A GSH önmagában is egy antioxidáns fehérje, amely a cisztein szulfhidril csoportja révén képes közvetlen redukálni számos molekulát: pl.: a H_2O_2 -t, a szinglet oxigént, a $O_2^{\cdot-}$ -t, és a OH^{\cdot} -t. A lipid-peroxidáció során képződő acil-peroxidokat is képes a GSH eliminálni, így a sejtmembrán struktúra helyreállításában is részt vesz.

A mitokondrium az elektron transzportlánc révén vesz részt a ROS termelésében az O_2 részleges $O_2^{\cdot-}$ redukciójának révén. A mitokondriális dezoxiribonukleinsav (DNS) károsodás és az elektrontranszport funkció hibái miatt fokozódó OS fontos szerepet játszhat a szív LV-i remodelling kialakulásában és szívinfarktus progressziójában [26]. Korábbi kutatások igazolják, hogy szívkárosodás során a XO fehérje szintje növekszik [27].

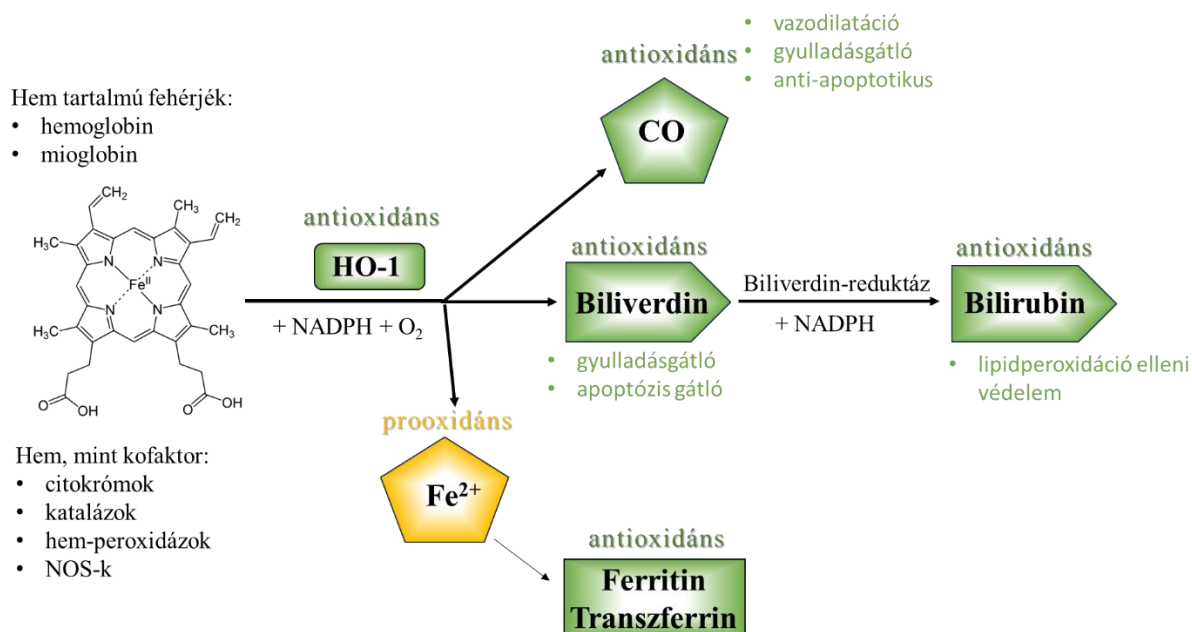
A NOS izoformák között említendő az endoteliális NOS (eNOS), indukálható NOS (iNOS) és neuronális NOS (nNOS). Az eNOS expresszió megfigyelhető a szívkoszorúerekben és az endokardium endothel sejtjeiben, valamint a szívizomsejtekben [28]. A szívizom nNOS elsősorban a szarkoplazmatikus retikulumban lokalizálódik. Az nNOS-eredetű NO gátolhatja a XO-k aktivitását, ezáltal korlátozza a szívizom OS-ét. Az iNOS eredetű NO-ra úgy tekintenek, mint káros hatású NO a szívizomra, patkánykísérletekben a túlexpresszált iNOS szívfibrozist, szívhipertrofiát és a szívizomsejtek pusztulását okozta [29].

A NOX-ok és a szív- és érrendszer főbb egyéb ROS forrásai, katalizálják a molekuláris O_2 redukcióját $O_2^{\cdot-}$ -ké. A NOX2 bőségesen expresszálódik a szívizomsejtekben, endothelsejtekben (EC), a NOX4 a kardiomiocitákban [30]. A NOX által felszabadított $O_2^{\cdot-}$ képes aktiválni a XO-t, ami még több ROS felszabaduláshoz vezet [31].

4.2 A hem oxigenáz, mint antioxidáns enzim

A NO / NOS rendszer és CO / HO rendszer közötti kölcsönös kapcsolatot írtak le, hiszen azt találták, hogy a NO stimulálja a HO-1 génexpressziót, a CO / HO útvonal pedig befolyásolja a NOS aktivitását [32]. A HO enzimrendszernek 3 tagját különíthetjük el: indukálható hem oxigenáz-1 (HO-1), a konstitutívan expresszálódó hem oxigenáz-2 és -3 (HO-2 és HO-3). A három izoforma szöveti eloszlása és funkciója is eltérő, a HO-1 és HO-2 a legaktívabb formák [33]. A legtöbb figyelem a HO-1-re összpontosul, mivel a humán HO-1 hiány többszörös gyulladási szövődménnyel és korai halállal jár, ami a HO-1 központi szerepét jelzi az antioxidáns védelmi mechanizmusokban [34]. A HO-kat a HO gének (HMOX) kódolják,

evolúciósan konzervált enzimek, amelyek citoprotektív szerepet töltenek be, mivel a hem katabolizmusában vesznek részt, mely során a hemet hasítják (5. ábra) ekvimoláris mennyiségű szabad vassá (Fe^{2+}), szén-monoxiddá (CO) és biliverdinné [35]. A CO egy sokoldalú jelátviteli molekula, amely képes a szervezetben lévő alapvető élettani és pathofiziológiai folyamatok szabályozására. A CO a NO hatását utánzó molekula, hiszen képes a szolubilis guanil-cikláz (sGC) hem részéhez kötődve azt aktiválni, ami a ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) szintjének megemelkedésével jár, ami végső soron értágító hatást vált ki [36].



5. ábra

A HO-1 és a hem váz lebontása során keletkező termékek citoprotektív hatásai
(CO: szén-monoxid, Fe^{2+} : két értékű vasion, HO-1: hem oxigenáz-1, NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid, NOS: nitrogénmonoxid-szintáz, O₂: oxigén)
(Haines és mtsi. 2020 nyomán [37])

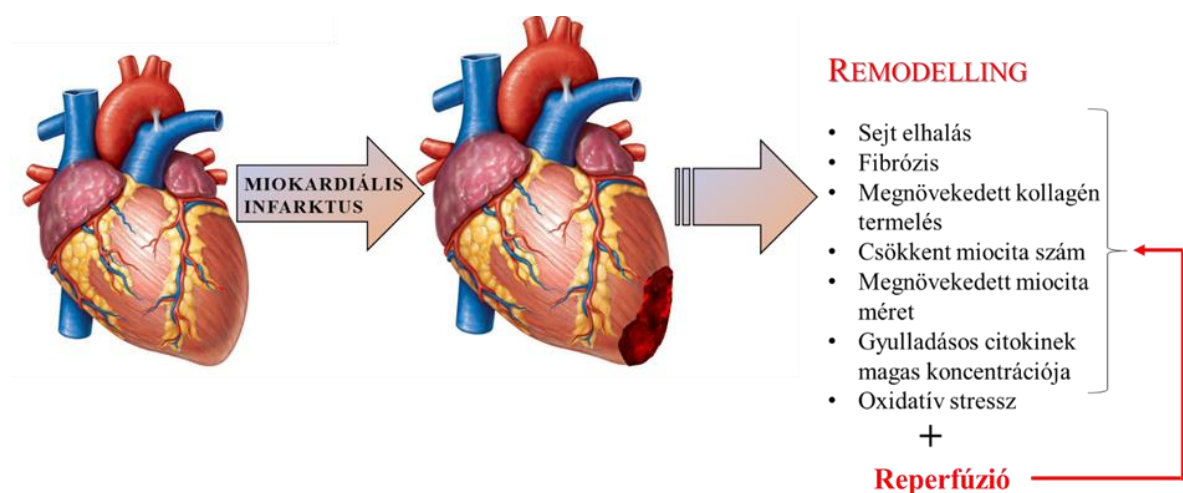
A CO gyulladásgátló hatása abban nyilvánul meg, hogy gátolja a gyulladást elősegítő citokinek képződését, valamint a hízósejtek és a bazofil granulociták aktiválódását, a trombociták aggregációját és adhézióját, valamint a fibrin képződését, viszont serkenti a gyulladásgátló citokinek szintézisét is [38]. Sarady-Andrews és mtsi. azt vizsgálták, hogy a biliverdin exogén beadása megvédte a patkányokat a belső toxikus sokktól, csökkentette az interleukin-6 (IL-6) szintjét és elősegítette az interleukin-10 (IL-10) expresszióját [39]. A biliverdint a citoszolikus biliverdin-reduktáz alakítja át NADPH felhasználásával bilirubinná. A bilirubin az egyik legerősebb nem-enzimatis antioxidáns, amelyet igazol Sedlak és Snyder által tapasztalt jelenség, hogy a bilirubin képes megvédeni a sejteket akár 10.000-szeres mennyiségű H₂O₂ növekedése által okozott oxidatív stressztől [40]. Ezenkívül kimutatták, hogy a bilirubin

hatékonyan képes megvédeni a lipideket a peroxidációtól [41]. Hou és mtsi azt találták, hogy a biliverdin és a CO anti-inflammatorikus hatásai segítenek az iszkémia/reperfúziós (I/R) sérülés enyhítésében [42]. A hem lebontásból felszabaduló szabad vasion prooxidánsként viselkedik, azonban fiziológias körülmények között hamar indukálódik a szervezet vas elimináló mechanizmusa, amely során kötődik az apoferritinhez ferritint alkotva, vagy az apotranszferrinhez transferrint alkotva [43]. A nukleáris faktor eritroid-2-vel kapcsolatos 2-es faktor (Nrf2)/HO-1 jelátviteli út vonal, mint az oxidatív stresszválasz nélkülözhetetlen jelátviteli út vonala, részt vesz a gyulladásgátló, antioxidáns, apoptotikus és egyéb folyamatokban, az atherosclerosis kezelésének egyik fontos célpontja [44].

4.3 Az oxidatív stressz és a kardiovaszkuláris kórfolyamatok kapcsolata

Számos környezeti és genetikai faktor befolyásolja az OS és a kardiovaszkuláris folyamatok közötti összefüggést. Az idő előrehaladtával egyre nagyobb az esély az I/R sérülés kialakulására és a magasvérnyomás megjelenésére mindkét nem esetén, ez az idős nők esetében a kimerülő ösztrogén raktárak miatt nagyobb arányban fordul elő, mint a fiatal nőkben.

A miokardiális infarktus (MI) után bekövetkező I/R során a szív vérellátása megszakad, majd helyreáll. A folyamat során egyidejűleg magas koncentrációban szabadulnak fel szabad gyökök, így megnövekedett OS tapasztalható. Az iszkémia kezdetén nagy mennyiségű ROS szabadul fel a mitokondriális elektrontranszportlánc károsodása, illetve a XO aktiválása révén, a reperfúzió során pedig a XO és a neutrofilek segítik a ROS további termelődését [24].



6. ábra
 Miokardiális infarktust kísérő progresszív folyamatok
 Leanca és mtsi. nyomán [45, 46]

Amennyiben sikeres volt a reperfúzió a SOD és GSH-peroxidáz szintje megemelkedik, míg azoknál a betegnél, ahol nem sikerült, ezen antioxidáns enzimek szintje még 1 hétig alacsony maradt [19]. Az I/R után bekövetkezhet a szív remodelling folyamata, amely során a szív szöveti szerkezete és funkciója is megváltozik (**6. ábra**) [47]. A magasvérnyomás betegségnek magasabb a prevalenciája az idősebb lakosság esetében, ez a betegség is differenciációt mutat a biológia nemet nézve, hiszen a természetes öregedési folyamat során szignifikánsan megnő a nők körében a hipertóniás megbetegedések száma [48, 49]. A gyulladás/OS és magas vérnyomás közötti kapcsolatot az endotel diszfunkcióval lehet összefüggésbe hozni [50-52]. A folyamatban a megnövekedett ROS koncentráció hozzájárul a NO-kaszád romlásához, így megzavarva a vaszkuláris jelátviteli útvonalakat, ezáltal pedig hozzájárul a magas vérnyomás kialakulásához, ami pedig újabb ROS felszabadulást okozva egy ördögi kört indít be [53]. Az egészséges endothelium gyulladásgátló hatást fejt ki, gátolja a leukocita aggregációt [54]. A NO felszabadulás a simaizom sejtek elernyedését okozza, amely értágulattal és végső soron vérnyomás csökkenésével jár [55].

Az oxidáns paraméterek fontosak lehetnek a CVD diagnosztizálásában és prognózisában. Jelenleg a GSH / GSSG arányt használják OS markerként, mivel ez az egyik legfontosabb ROS-eltávolító a szívben [56]. A mieloperoxidáz (MPO) is egy jó diagnosztikai és prognosztikai marker lehet például: a pangásos szívelégtelenségre, az akut miokardiális infarktusra és a koszorúér-betegségre. Továbbá, az alacsony sűrűségű lipoproteint (LDL) ma már rutinszerűen alkalmazzák a szív- és érrendszeri kockázatok klinikai felmérésére, magas szintje előre jelezheti a CVD kockázatát [57].

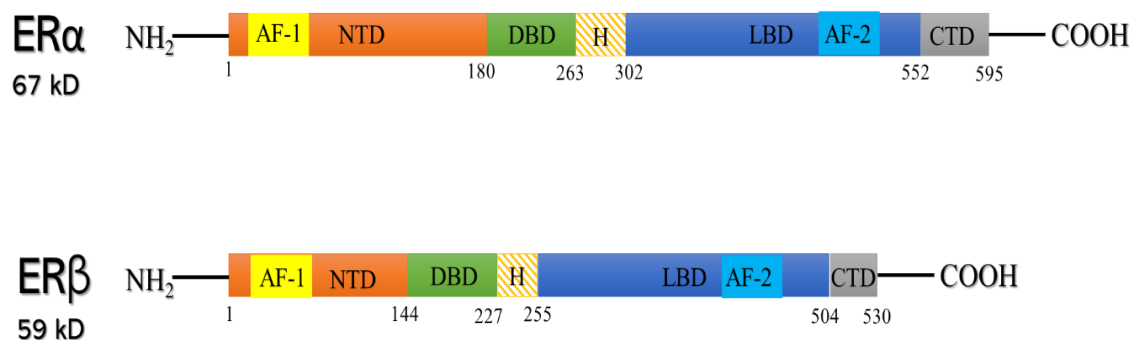
4.4 Az ösztrogén, mint kardioprotektív hatású hormon és a hormonpótló terápiák jelentősége

A biológiai nem is nagyban befolyásolja az öregedéssel járó folyamatokat [58]. A nők átlagosan magasabb életkort élnek meg, mint a férfiak [59]. Az a tény, hogy miért eltérő a nemek élettartama, ma is heves vita tárgya, így továbbra is számos kutatás célpontjává válik ez a kérdés. Az egyik okként a telomerek hosszát jelölik meg, hiszen azt találták, hogy férfiakban a telomerek nagyobb mértékű rövidülést mutatnak [60]. A női nemi hormon csökkenti a ROS-ák termelődését, ugyanakkor erős antioxidáns és antioxidáns gének szabályozója is [61]. Az intracelluláris glutation szintjét a biológiai öregedés egyik fontos biomarkerének tekintik, Vina és mtsi. eredményei alapján a mitokondriális glutation szint a férfiaknál megközelítőleg fele a nőknél tapasztaltnak [61]. Az életkor előrehaladtával azonban megfigyelhető, hogy a nők

kevésbé lesznek védettek a CVD-kel szemben. Villa és mtsi. igazolták, hogy a nemi hormonok csökkenése mind férfiak, mind pedig nők esetében növeli a CVD kockázatát [62]. Nők esetében az ösztrogén raktárak gyors kimerülése okozhatja a gyors progressziót [63].

Az ösztrogén egy zsírban oldódó szteroid hormon, mely főként a petefészekben, méhlepényben, de kis mértékben a zsírszövetben és a férfiak Leydig sejtjeiben is termelődik. Az endogén ösztrogénnek 4 fajtáját különítjük el: ösztroon (E_1), 17β -ösztradiol (E_2), ösztriol (E_3), ösztetrol (E_4). A legnagyobb biológiai aktivitással az E_2 rendelkezik [64].

Az ösztrogéneknek van egy gyors, nem génspecifikus hatása, ez a G-fehérjéhez kapcsolt ösztrogén receptorokon (GPER) keresztül valósul meg, illetve van egy lassúbb, génspecifikus hatásuk, mely pedig az ösztrogénreceptor- α ($ER\alpha$) és az az ösztrogénreceptor- β -n ($ER\beta$) mint transzkripciós faktor valósul meg, ezen hatások sejtspecifikusak lehetnek, és eltérőek lehetnek az ép és kóros szövetekben [64]. A két nukleáris receptor: az $ER\alpha$ és $ER\beta$ nagymértékű homológiát mutat egymással, az N-terminális doménben (NTD) mutatnak nagyfokú eltérést (7. ábra) [65].



7. ábra

Az E_2 nukleáris receptorainak domén struktúrája a megfelelő aminosav szekvencia pozíció feltüntetésével

(AF-1/2: aktiválási funkciós domén 1/2, CTD: C-terminális domén, DBD: DNS-kötő domén, H: csuklórégió, LBD: ligandkötő domén, NTD: N-terminális domén)

(Kumar és mtsi nyomán [66, 67])

Az NTD-ben található az aktiválási funkciós domén 1 (AF-1), amely hormonfüggetlen módon működik, a C-terminális domén tartalmazza az aktiválási funkciós domén 2-t (AF-2), amely működéséhez szükséges hormon vagy szteroid jelenléte. A DNS kötő doménnek (DBD) a receptor dimerizációjában van szerepe. A csuklórégió (H) a chaperon fehérjékhez kötődik, így megvalósítva a receptor-ligandum komplex transzlokációját a sejtmagba. Az ER-ok ligandkötő doménje (LBD) tartalmazza az E_2 kötőhelyet, illetve a koaktivátorok és korepresszorok kötőhelyeit [68].

Több kutatás megerősítette E₂ kardioprotektív hatását, amelyet mindhárom receptoron kifejt. Az ER α nagymértékben expresszálódik az EC-kben. Az E₂ az ER α - és ER β -hoz kötődve serkenti a NO termelését ezzel vazodilatációt okozva, mely csökkenti a vérnyomást [69, 70]. Zhu és mtsi. vizsgálataikban az ER β izoforma vizsgálatára fókuszáltak. ER β hiányos egereket vizsgálva azt tapasztalták, hogy tartós szisztolés és diasztolés magas vérnyomás alakult ki az életkor előrehaladtával [71]. A E₂ GPER-hez kötődése képes aktiválni a gyors jelátviteli útvonalakat, mint pl.: a foszfoinozítid-3-kináz / protein kináz B (PI3K/Akt) és mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) aktiválása révén [72]. Deschamps és mtsi. kimutatták, hogy a GPER aktiválása javítja a funkcionális helyreállítást és csökkenti az infarktus méretét izolált patkányszívekben az I/R után egy PI3K-függő, nemtől független mechanizmuson keresztül [73]. Nikolic és mtsi. 2007-ben kimutatták, hogy az ER β hiányában a vizsgált nőstény egerek nagyobb szív károsodást szenvedtek, mint a vad típusú egerek [74].

Az OS nem csak közvetett módon lehet negatív hatással az erek falára, hanem közvetlenül is aktiválhat gyulladásért felelős géneket. A ROS fajták közvetlenül megváltoztathatják az artériák falában lévő sejtek jelátviteli mechanizmusát is, amelyek szabályozzák az artériák megfelelő működését. Számos tanulmányban a biológiai nem és az OS közötti kapcsolatot írtak le. A 17 β -ösztradiolról leírták, hogy védelmi szereppel bír az OS ilyen káros hatásaival szemben, így védve a nőket a menopauza előtti szívinfarktustól [75, 76]. Pavón és mtsi. arról számoltak be, hogy kísérleteik eredményei alapján az E₂ védelmet nyújt az OS ellen, mely a lipidperoxidációból és a túlzott szabadgyök képződésből ered [77].

A menopauza után a domináns ösztrogén az E₁ lesz, ami kevésbé hatékony az E₂-hoz képest. Az E₂ jelentős csökkenése miatt megnövekedik a szabad zsírsavak (FFA) szintje, míg az antioxidánsok szintje lecsökken, ezen progresszív folyamatok miatt nő a menopauza alatti CVD kockázata [78]. Az E₂ képes csökkenteni a szívizom OS-t és javította az OS által kiváltott kardiomiocita-hipertrófiát, megelőzve ezzel a szívizom energia-diszregulációját [79]. Az E₂ késlelteti az oxidált LDL által kiváltott idő előtti öregedést, ezáltal gátolja az artériák öregedését és az érlemeszesedés kialakulását [80]. Az E₂ számos módon képes csökkenteni a CVD kockázatát. Jeanes és mtsi. leírták, hogy mind az E₂ terápia, mind pedig az ER α agonisták terápiás használata a szívizom lipidperoxidációjának csökkentése révén csökkentette az infarktus méretét az I/R során patkányokban [81]. Egy másik tanulmányban azt tapasztalták, hogy az E₂ csökkentette a kardiomiociták apoptózisát és a ROS termelést a MAPK aktivitás csökkentésével [76]. Az E₂ képes stabilizálni az atherosclerotikus plakkokat a mátrix metalloproteinázok (MMP) expressziójának csökkentése által [82]. Egy posztmenopauzás

nőkön végzett tanulmány eredményei alapján 1 éves orális E₂ szedése csökkentette az átlagos vérnyomást, az LDL-t, miközben növelte a nitrit- és nitrát szintet [83]. Az egyéb OS-re gyakorolt hatásait vizsgáló tanulmányok kimutatták, hogy csökken a szérum lipidperoxid szintje és nő az általános antioxidáns állapot [84]. Egyértelmű bizonyítékok vannak az E₂ és OS közötti kapcsolatra.

Kezdetben a hormonpótló terápiák (HRT) alkalmazása elsődlegesen a vazomotoros tünetek enyhítésére történt, majd a kutatások előrehaladtával a kardioprotektív hatásaik is előtérbe kerültek [85]. Számos vizsgálat kimutatta, hogy a HRT-k életkortól függően hatással lehetnek a különböző betegségek mortalitási arányára, így Salpeter és mtsi. vizsgálatai alapján a 60 év alatti korosztályban csökkent mortalitás volt tapasztalható, míg a 60 felettiiek körében nem volt szignifikáns változás [86]. A HRT bizonyítottan csökkenti a CVD kialakulását, hiszen csökkent LDL szint és alacsonyabb lipoprotein A (LpA) szint volt megfigyelhető ezen betegekben, továbbá növelte a magas sűrűségű lipoprotein (HDL) szintet [87-89]. Az E₂ monoterápián túl, ezen HRT negatív – endometriumrák, thrombózis, mellrák, megnövekedett sztrók hajlam - hatásait kiküszöbölve fejlesztettek ki számos szelektív ösztrogénreceptor-modulátor (SERM) gyógyszert, melyek sajátossága, hogy egyes szervekben agonista, másokban antagonistá hatással bírnak [90, 91]. Ferretti és mtsi. arra jutottak tanulmányukban, hogy a raloxifen (RAL) jelentősen javíthatja a plazma lipoprotein szintjét idősödő nőknél [92].

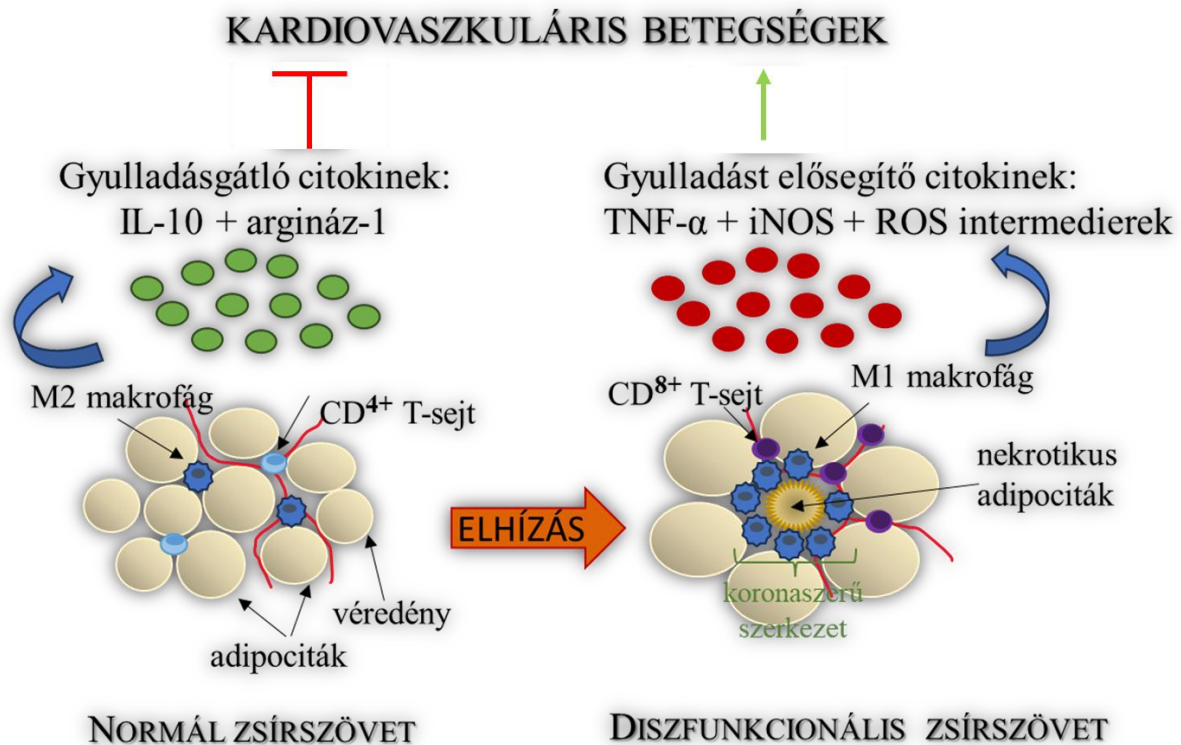
4.5 Az elhízás és az életmód (testmozgás és étrend) adipokin profilra kifejtett, illetve kardiovaszkuláris hatásai

A minőségi öregedéshez hozzátartozik az egész életen át tartó megfelelő mennyiségű és minőségű tápanyag bevitel, illetve testmozgás végzése is. A nyugatias életmódra jellemző a mozgás hiánya, illetve zsírban- és/vagy szénhidrátban gazdag étrend [93]. A WHO 2022 májusában megjelent jelentése alapján kimondható, hogy Európa területén járvány méretet öltött az elhízás, mivel az emberek 59%-a túlsúlyos vagy elhízott [53]. A nők esetében az elhízás magasabb prevalenciája figyelhető meg, illetve az életkorral is növekszik mindkét nemből az elhízás aránya [94]. Egy 1991 és 2015 közötti kohorsz-tanulmány adatai egyértelműen azt mutatja, hogy a megnövekedett zsírbevitel szignifikánsan növeli az elhízás és túlsúly kockázatát, ami pedig krónikus betegségek, mint a CVD, magas vérnyomás, 2-es típusú cukorbetegség kockázati tényezője [95, 96].

A zsírszövet egy endokrin szerv, számos metabolikusan aktív faktort és hormont termel, melyek autokrin és parakrin módon képesek hatni és számos fízológias folyamatot szabályoznak:

érrendszeri homeosztázis, inzulin rezisztenciát, étvágyat, lipid metabolizmust, angiogenezist, gyulladáshoz vezető paramétereket. A túlzott kalóriabevitel a zsírszövet expansziójával együtt járó folyamat, amely kezdetben a zsírsejtek számának növekedésével (hiperplázia) jár, majd a kor előrehaladtával ez a folyamat tompul és a zsírsejtek méretének növekedése (hipertrófia) tapasztalható [97-99]. A zsírszövet növekedésének folyamatát számos tényező befolyásolhatja: genetika, étrend, életkor, nemi hormonok, fizikai aktivitás [100]. Amennyiben a zsírszövet sejtjei, az adipociták túlterheltek lesznek a magas zsírbevitel miatt, a felesleges zsírsav a szisztémás keringésbe jutva ektópiás zsírfelhalmozódáshoz vezet [101]. Az elhízás során megnövekedett zsírszövet által negatív irányban változik az általa termelt adipokinek szintje is – a gyulladásgátló adipokinek koncentrációja csökken, míg a gyulladást elősegítőké nő -, mellyel fokozódik az elhízás miatt bekövetkező gyulladáshoz vezető állapot [102]. Az elhízás hatására a zsírszövet funkcionalitása is megváltozik, illetve a zsírsejtek mikroövezete is. A zsírszövet nagyrészt lipidekkel terhelt adipocitákból áll, de más sejttípusok is részt vesznek a szabályozásában: fibroblasztok, immunsejtek (pl.: CD4⁺ T-sejtek és makrofágok), illetve vaszkuláris sejtek is [103]. Az elhízás hatására végbemenő folyamatot a **8. ábra** foglalja össze. Az elhízás befolyásolja a T-sejtek azon csoportjait, melyek jelen vannak a zsírszövetben, szerepük van a makrofágok fenotípusos szabályozásában. Sovány egyének zsírszövetében a CD4⁺ szabályozó T-sejtek és a 2-es típusú segítő T-sejtek (T_{H2}) sejtek nagyobb mennyiségben találhatóak meg, melyek elősegítik a makrofágok gyulladásgátló aktivitását. Elhízás során a CD8⁺ effektor T-sejtek és a CD4⁺ 1-es típusú segítő T-sejtek (T_{H1}) sejtek felhalmozódása a zsírszövetben T_{H1} jeleket generál, amit a makrofágok toborzását és aktiválását indítja be, végső soron egy gyulladáshoz vezető kaszkádot [104, 105]. Nagy mennyiségű makrofág szivárog a zsírszövetbe, a mennyiségi változáson túl minőségi, fenotípusos változás is megfigyelhető, ami az javító fenotípusú (M2) makrofágok öltő fenotípusú (M1) makrofágokká differenciálódását jelenti. Az M2 fenotípusú makrofágok főként a sovány egyének zsírszövetében jellemző, gyulladásgátló citokineket expresszálnak, mint pl.: az IL-10-t, argináz-1 enzimet, mellyel a gyulladás megszüntetésében, angiogenezisben, inzulinrezisztencia elleni védelemben vesznek részt [106]. Az M1-szerű makrofágok az elhízottakban nagyobb mennyiségben fordulnak elő, pro-inflammatorikus citokineket termelnek: tumor nekrozis faktor alfát (TNF- α), illetve iNOS-t expresszálnak, valamint részt vesznek a reaktív oxigén és nitrogén intermedierek termelésében, így a gyulladást, nekrozist és inzulinrezisztenciát elősegítve [107]. Elhízottak zsírszövetében megfigyelhető morfológiai jelenség a koronászerű struktúrák kialakulása, amely központi magját a nekrotikus adipociták teszik ki, melyeket makrofágok vesznek körül, a koronászerű struktúrák száma korrelál a metabolikus szindrómában szenvedő betegek

gyulladásos szintjével [108, 109]. A zsírszövet gyulladása elősegítheti a szisztémás endothelsejtek aktiválódását a gyulladásos adipokinek, például a TNF- α endokrin hatásai révén, ami hozzájárulhat az elhízással összefüggő szív- és érrendszeri betegségekhez [98].



8. ábra

Az elhízás hatása az adipocitákra, illetve azok mikrokozonyzetére

*(IL-10: interleukin-10, iNOS: indukálható nitrogénmonoxid-szintáz, M1 makrofág: ölü fenotípusú, M2 makrofág: javító fenotípusú, ROS: reaktív oxigén fajták)
(Nakamura és mtsi. [98] nyomán)*

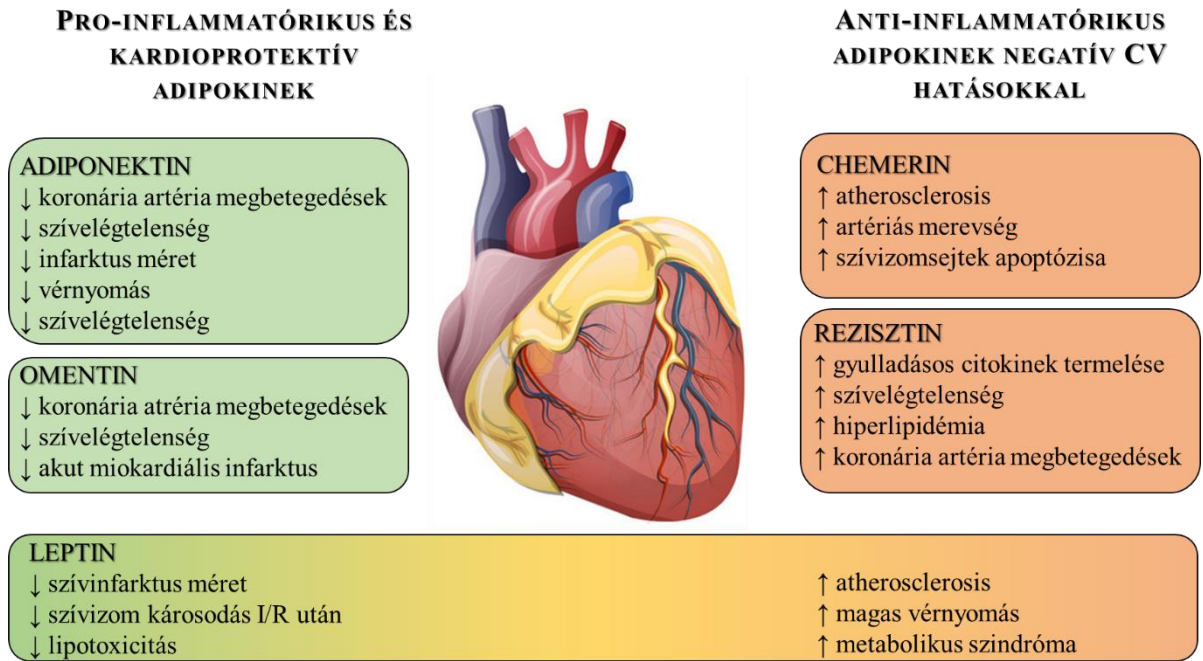
A farmakológiai terápiákon túl egészségünk megőrzése érdekében fontos a megfelelő étrend követése és megfelelő időtartamú és intenzitású mozgás beiktatása a mindennapokba. Az Amerikai Szív Szövetség (AHA) ajánlása szerint legalább 30 perces mérsékelt rendszeres testmozgás javasolt a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásának megelőzésére nemcsak a fiatal korosztályban, hanem a már idősebb - esetleg különböző betegségben szenvedő (metabolikus szindróma, 2-es típusú cukorbetegség) - korosztály számára is. A rendszeres testmozgás javítja a szívizom antioxidáns védőmechanizmusát több tényező által is: megnövekszik a Mn-SOD aktivitása, a szív hősokk fehérjéinek expressziója, a mitokondriális adaptációja, ami kevesebb ROS-át fog eredményezni, megemelkedik az eNOS aránya és működése, így nagyobb mértékű lesz a NO szintézis, ami szívvédelmet biztosít [110]. Számos klinikai tanulmány kimutatta, hogy a rendszeres fizikai aktivitás nemcsak hogy lassítja a CVD kialakulását, hanem

a kialakult betegség miatt bekövetkező halálozási arányt is szignifikánsan csökkenti [111]. A rendszeres testmozgás növeli a plazma teljes antioxidáns kapacitását, csökkenti a trombocita aggregációt, amely csökkenti a trombózis hajlamot, csökkenti továbbá a lipid-peroxidációs termékek mennyiségét, valamint megemelkedik a szérum HDL-koleszterin szintje is.

A helyes étrend megválasztása hasonlóan fontos a CVD kockázatának csökkentésében, mint a rendszeres testmozgás. A nyugati étrend nem kedvez a szív- és érrendszer számára, mert magas a telített zsírsav, a só és kalória tartalma. A megfelelő mennyiségű és minőségű zöldségek és gyümölcsök fogyasztása csökkenti a szívkoszorúér-betegség, illetve az akut szívinfarktus kockázatát, a bennük található antioxidáns polifenolok révén, melyek több kategóriába sorolhatók: flavonoidok (flavonok, antocianinok), fenolok (hidroxi-fahéjsav), sztilbének (rezveratrol), lignánok (sezamol), tanninok [112-114].

Az elhízás, főként a zsigeri elhízás olyan anyagcserezavarokkal jár, mint az inzulinrezisztencia, diszlipidémia. A zsírszövet megnövekedése és átrendeződése krónikus gyulladásos folyamatokat indít be, mely során megváltozik az adipokinek összetétele, mennyisége [115]. Az adipokinek a zsírszövet által kiválasztott bioaktív molekulák. Fontos szerepet játszanak az anyagcsere, a szív- és érrendszeri működés, a gyulladás és az immunitás szabályozásában [116]. A szervezetben lévő zsírraktárak WAT és a BAT állnak, ezen zsírszövet fajták eltérő morfológiai és funkcionalitásbeli tulajdonságokkal rendelkeznek. Mindkét típusú zsírszövetre jellemző, hogy endokrin funkcióval is rendelkeznek, de eltérő, hogy melyik milyen hormont, citokint termel [117]. A WAT adipociták által termelt adipokinek és citokinek: a leptin, adiposzin, adiponektin, omentin, TNF- α , IL-6, monocita kemoattraktáns fehérje-1 (MCP-1), rezisztin, visfatin. A BAT adipociták pedig: fibroblaszt növekedési faktor 21 (FGF21), vaszkuláris endoteliális növekedési faktor A (VEGF-A), irisin, nesfatin-1, chemerin, IL-6, interleukin-8 (IL-8), IL-10 adipokinek és citokinek termelnek [116].

Azokban a személyekben, akik normál anyagcsere státusszal rendelkeznek a gyulladásgátló és -keltő adipokinek aránya egyensúlyban van [118]. Számos kutatás bizonyította, hogy a magas zsírtartalmú étrend eltérő lipidlerakódást eredményez a nem zsírraktárakban (főként a viszcerális régiókban, izomban, májban), illetve megváltoztatja a zsírszövet által termelt adipokinek szintjét [119-122]. Néhány kiemelt gyulladáskeltő (adiponektin, omentin, leptin) és anti-inflammatórikus adipokinek (chemerin, rezisztin, leptin) és citokinek hatása a szív- és érrendszerre összegezve a **9. ábrán** látható. A leptin egy elhízás gén (ob) által kódolt fehérje, amelyet túlnyomórészt a szubkután WAT termel, szerepe van a súly- és energiaháztartás szabályozásában. Megfigyelték, hogy az elhízott egyének magas szintű keringő leptint mutatnak, és érzéketlenek az exogén leptin beadására, így leptinrezisztencia alakul ki.



9. ábra
Néhány kiemelt adipokin hatása a szív- és érrendszerre
(CV: kardiovaszkuláris, I/R: iszkémia / reperfüzió)
(Smekal és mtsi nyomán [123, 124])

Ahogy az a **9. ábrán** is jól látszik, a leptinnek vannak gyulladást gátló és elősegítő hatásai is. Csökkenti a szívinfarktus méretét, a NO-on keresztül csökkenti a szívizom reperfüziós károsodás mértékét, illetve antilipotoxikus (csökkenti a FFA-k felszabadulását a vérben) hatásokkal rendelkezik [125]. A magas leptin szintről leírták, hogy atherosclerosis, magas vérnyomással és metabolikus szindrómával társul [126, 127]. Az adiponektin a „jó” adipokinek közé sorolható minden tekintetben. Az adiponektin csökkenti a koronária artéria megbetegedéseket, a szívelégtelenséget, az infarktus méretét, a vérnyomást és a szívelégtelenséget. Az omentin csökkenti a koronária artéria megbetegedéseket, a szívelégtelenséget és az akut miokardiális infarktus méretét. A chemerin hozzájárul az atherosclerosis kialakulásához, fokozza az artériás merevséget, és a szívizomsejtek apoptózisát váltja ki. A rezisztin növeli a gyulladásos citokinek termelését, fokozza a szívelégtelenséget, a hiperlipidémiát és a koronária artéria betegségek kockázatát.

5 CÉLKITŰZÉSEK

Az életkor növekedésével egyre nagyobb az igény a minőségi öregedés elérésére. Az öregedéssel összefüggő hormonális folyamatok és azok pathológiás következményeinek mérséklésére összpontosító kutatások komoly preventív és terápiás célpontokat tárhatnak fel a CVD-k tekintetében. Doktori disszertációmban foglalt vizsgálataink célja, hogy feltérképezzük a hormonpótló terápia és az életmód közvetítette kardiovaszkuláris rendszerre és metabolikus folyamatokra kifejtett speciális változásokat.

1. Első kísérletsorozatunkban célul tűztük ki, hogy feltérképezzük a hormonpótló terápia (E_2 és RAL) és a szívben lejátszódó oxidatív/gyulladásos folyamatok közötti összefüggést idős (~20 hónapos) nőstény patkányokban.

Tisztázni kívántuk, hogy:

- Milyen különbségek mutatkoznak idős nőstény patkányok szívében megjelenő antioxidáns paraméterekben az E_2 és a RAL kezelés következtében?
- Tisztázni kívántuk, hogy a hormonpótló terápia miképpen hat a kardiovaszkuláris remodelling folyamataira? Kérdéseink megválaszolására szív szövetből meghatároztuk a mátrixmetalloproteináz-2 (MMP-2), a metalloproteináz-2 inhibitor fehérje (TIMP-2), továbbá az 1-es típusú kollagén koncentrációját szív szövetből.
- A hormonpótló terápia miképpen változtatja meg az iszkémia/reperfúziós (I/R) sérülés nagyságát idős nőstény patkányok szívében?

2. Második kísérletsorozatunkban az életmód (szabadidős testmozgás és zsírdús étrend) hatásait vizsgáltuk normotóniás Wistar-Kyoto (WKY), valamint spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos (SHRSP) hím állatokban, amely egy komplex vaszkuláris kórképpel (magasvérnyomás betegség és stroke) rendelkező genetikailag módosított patkánymodell.

Tisztázni kívántuk, hogy:

- Milyen különbségek mutatkoznak a normotóniás WKY, valamint a magasvérnyomással bíró SHRSP állatok adipokin mintázatában, valamint a lipidperoxidációt jelző malondialdehid szintjében?
- A 12 hetes életmódbeli változtatás miképpen változtatja meg a szérumból és zsírszövetből mérhető adipokin mintázatot, valamint a lipidperoxidációt jelző malondialdehid szintet olyan kardiovaszkuláris kórképben, mint a magasvérnyomás-betegség?

6 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

6.1 Az öregedés a hormonpótló terápia hatásainak vizsgálata nőstény patkányok kardiovaszkuláris rendszerében

6.1.1 Vizsgált állatcsoportok

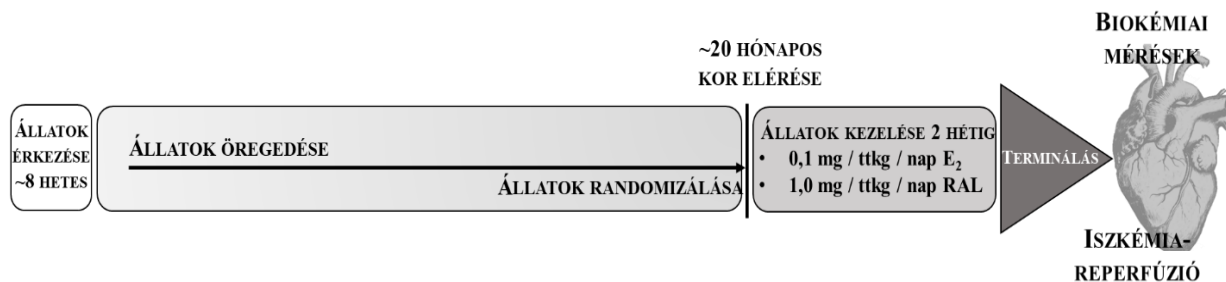
Kísérleteinkhez kontroll, valamint ovárium-intakt, 20 hónapos (idős) nőstény Wistar patkányokat (Toxicoop Zrt., Magyarország) használtunk (n=20). Az idős nőstények vizsgálata lehetővé teszi, hogy a természetes öregedési folyamattal társítható ösztrogénhiányos állapotot modellezni tudjunk. Az állatok tartása az Európai Parlament és a Tanács 2010/63/EU előírásai alapján, a magyar törvényi szabályozásnak (XXVIII/1998), a 40/2013. II. 14. kormányrendeletnek megfelelően történt, illetve az I.74-40/2017. MÁB előírásoknak megfelelően végeztük. A kísérletbe bevont állatok a beérkezést követően 2 hétig akklimatizálódtak. Az állattartási körülmények a következők voltak: 20-22 °C hőmérséklet, 40-50 %-os páratartalom, 12 órás világos-sötét ciklusokban. Az etetés *ad libitum* történt fitoösztrogénmentes táppal, az itatás pedig csapvízzel *ad libitum*. Kísérletünk során az állatokat, ahogy elérték a 20 hónapos életkort, hormonpótló terápiában részesítettük, amelynek célja az volt, hogy a természetes öregedési folyamat során lecsökkent ösztrogén hormonszintet pótoljuk. Ez alapján az idős állatok egy része kéthetes 0,1 mg/ttkg ösztradiol (Estrofem, E₂, Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Dánia) kezelésben, míg az állatok másik része 1,0 mg/ttkg dózisú raloxifen (RAL, Evista, München, Németország) gyomorszondával történő beadással kezelésben részesült.

Munkánk során 4 kísérleti csoportot alakítottunk ki:

- fertilis korú, kontroll csoport (10 hetes)
- 20 hónapos ovárium-intakt (idős) állatok
- 0,1 mg / ttkg / nap E₂ hormonpótlásban részesülő csoport
- 1,0 mg / ttkg / nap RAL hormonpótlásban részesülő csoport

A kísérleti protokollt a **10. ábra** szemlélteti [128]. A kéthetes kezelési periódust követően az állatokat 100 mg/kg dózisú intraperitoneálisan beadott tiopentállal termináltuk (B. Braun Medical SA, Barcelona, Spanyolország). A kísérleti protokollunk alapján az állatok egy részének szívét eltávolítottuk, a biokémiai mérések elvégzéséig -80 °C-on tároltuk. Biokémiai

méréseink során, az antioxidáns paraméterek közül meghatároztuk a szív HO aktivitását, illetve a teljes glutation tartalmat, továbbá vizsgáltuk az extracelluláris mátrix átalakulására vonatkozó paramétereket, beleértve a MMP-2 aktivitását, a TIMP-2 és az 1-es típusú kollagén koncentrációját. Az egyes csoportok további állatainak szív mintáit, az I/R sérülés vizsgálatának céljából Langendorff szívperfúziós oszlopra helyeztük.



10. ábra
Az öregedés és a hormonpótló terápiák hatásának vizsgálati protokollja
(E₂: ösztrogén, RAL: raloxifen)

6.1.2 Szívszövetből történő HO enzimaktivitás meghatározás

A szívszöveteket jéghideg homogenizáló pufferben (10,0 mM N-2-hidroxietyl piperazin-N'-2-etánszulfonsav, 32,0 mM szacharóz, 1,0 mM ditiotreitól (DTT), 0,10 mM etilén-diamin-tetraecetsav-dinátrium-só-dihidrát (EDTA) 10,0 µg/mL tripszin inhibitor, 10,0 µg/mL leupeptin, 2,0 µg/mL aprotinin; pH = 7,4) homogenizáltuk (Ultra Turrax T25; 13500 min⁻¹; 2 x 30 s), majd centrifugálást (15 000 × g-n 20 percig 4 °C-on) követően a kapott felülúszót szeparáltuk, és felhasználtuk a HO-aktivitás méréshez. A reakcióelegy 2,0 mM glükóz-6-foszfátból, 0,14 U/mL glükóz-6-foszfát-dehidrogenázból, 15,0 µM heminből, 2,0 mM MgCl₂ × 6 H₂O-ból, 100,0 mM KH₂PO₄-ből, 120,0 µg/mL (előzőleg patkány májból általunk preparált) biliverdin reduktazból és 150,0 µL minta felülúszóból állt. Két párhuzamosban mértük a HO-aktivitást, egy úgynevezett vak és NADPH vonalat lemérve. A reakció elindításához a NADPH mérés során a 100,0 µL redukált β-nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfátot (β-NADPH) adtunk a keverékhez, melyet 60 percen keresztül sötétben 37 °C-on inkubáltuk, majd 1 óra elteltével jégfürdőt alkalmaztunk a reakció leállításának érdekében. A vak vonal mérése során olyan reakcióelegyet mértünk össze, amelyben homogenizáló pufferrel helyettesítettük a β-NADPH-t. A mindkét vonalat (vak és NADPH) 465 nm-en és 530 nm-en spektrofotometriás módszerrel mértük; ezt követően a NADPH értékekből a vak mérési sorból kapott értékeket

kivontuk. A HO-aktivitást a képződött bilirubin mennyisége alapján, nmol/óra/mg fehérjeként ábrázoltuk [129].

6.1.3 A glutation tartalom meghatározása szívszövetből

Az eltávolított szívszöveteket először egy homogenizáló pufferben (0,25 M szacharóz, 1 mM DTT, 20 mM Tris), végig jégen tartva, 2×30 másodpercig homogenizáltuk, majd a kapott homogenizátumot (15 000 x g, 30 perc, 4 °C) centrifugálással tisztítottuk meg a sejttörmeléktől. A centrifugálást követően kapott felülúszóból 1 mL-t egy másik tiszta eppendorfban tovább homogenizáltunk 200 µl homogenizáló pufferrel (0,1 M CaCl₂, 0,25 M szacharóz, 20 mM Tris, 1 mM DTT). Az így kapott homogenizátumon 0 °C-on 30 perces inkubálás után újabb centrifugálást hajtottunk végre (21 450 x g, 60 perc, 4 °C), amely eredményeképpen egy tiszta citoszol frakciót kaptunk, és ezt használtuk fel az enzimvizsgálathoz. Egy 96 lyukú mikroplate-n külön well-kben 40 µL blank-et, szív mintát vagy standardot, 20 µL 5,5'-ditio-bisz-2-nitrobenzooesavat (DTNB) és 140 µL β-NADPH-t mértünk össze és az így kapott elegyhez 5 perces 25 °C-on történő inkubálást követően 10 µL glutation-reduktázt adtunk hozzá a reakció elindításához. Az így kapott reakcióelegyet 10 percig rázattóra helyeztük, majd a 2-nitro-5 tiobenzoesav képződését 405 nm-en mértük, a kapott glutation szinteket pedig nmol/mg fehérjeként fejeztük ki [130].

6.1.4 Zselatin zimográfia

A szív mintát folyékony nitrogénben lefagyasztottuk, majd -80°C-on tároltuk feldolgozásig. A szövetmintákat homogenizáltuk (Ultra-turrax, T25 modell, IKA (Janke&Kunkel), 13 500 fordulatszám, 2×30 másodperc, jégen) tris-mannit pufferben (Tris 7.9 2 mM/L, mannit 50 mM/L, fenilmetilszulfonil fluorid (PMSF) 100 µM/L, leupeptin 100 µg/L, aprotonin 5 U/mg 10 µg, 0,5 % triton X-100, 100 µL proteáz inhibitor koktél, pH=7,4), 250 µL / 70 mg minta térfogatban. A homogenizátumot centrifugáltuk 12 000 rpm-el, 2×20 sec, 4 °C -on. A felülúszót vizsgáltuk tovább, az összfehérje mennyiséget a 6.1.5 pont szerint határoztuk meg. Az elektroforézis során forralással denaturáltuk a fehérjeket, Laemli-féle (+ β-merkaptotanol) pufferben 5 percen keresztül [131]. Előzőleg a 6.1.5. pontban leírtak szerint meghatároztuk a minta összfehérje mennyiségét, és 70 µg összfehérje mennyiségnek megfelelően hígítottuk a mintákat, majd azonos térfogatban felvittük és futtattunk 8 %-os nátrium-dodecil-szulfát (SDS) tartalmú poliakrilamid gél és zselatin (20 mg/mL, A típusú sertésbőr, Sigma) kopolimerizációján, 90 V feszültséggel. A gélt ezután mostuk 2,5 % Triton-X-100 oldattal,

majd inkubáltuk 12 órát inkubáló pufferben, ami 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 5 mM CaCl₂ tartalmazott. A gélt ezután 0,05 % Comassie Brilliant Blue (Bio-Rad) festékkel festettük. A felesleges festéket eltávolítottuk festékmentesítő oldattal (4% metanol, 8 % ecetsav), ismételt mosásokkal mindaddig, amíg az MMP aktivitás helyén az elemésztett csíkok átlátszóan jelentek meg [132]. Ezután a géleket digitálisan olvastuk be LICOR CTM blot Scannerrel (Li-Cor Corporate) és Bio-Rad Quantity One 4.4.0 programmal elemeztük a felvételeket. Pozitív kontrollként MMP-2 humán rekombináns (Sigma-Aldrich, Magyarország) használtunk, az MMP-2 aktivitást intenzitás \times mm²-ban fejeztük ki [133].

6.1.5 Fehérjetartalom mérése Bradford-módszerrel

Az összfehérje meghatározására Bradford-módszert alkalmaztunk. A megfelelő hígítást követően a mintákból 20 μ L-t pipettáztunk 980 μ L desztillát vízbe, majd vortex-szel összekevertük. Marha szérum albuminból (BSA) elkészítettünk egy hígítási sort a standrd-hoz. Majd mind az elkészített standard sorhoz, mind pedig a megfelelően kihígított mintáinkhoz 200 μ L Bradford reagenst adtunk. Ezután mikroplate-be mértük 200 μ L-t, majd a fehérjekoncentrációt 595 nm-en mértük spektrofotométerrel. Eredményeinket μ g fehérje/mL koncentrációban kaptuk meg.

6.1.6 Iszkémia-reperfúziós sérülés modellezése Langendorff perfúziós rendszerrel

A kísérletbe bevont patkányok szívét az I/R sérülés vizsgálatához a lehető legnagyobb aorta kimetszéssel eltávolítottuk. Jéghideg Krebs-Henseleit puffert használva (mely 11,2 mM glükóz, 1,24 mM KH₂PO₄, 20,1 mM NaHCO₃, 119 mM NaCl, 4,7 mM KCl, 1,25 mM CaCl₂ és 1,24 mM MgSO₄) a szíveket az aortán keresztül felhelyeztük függőlegesen Langendorff perfúziós oszlopra. A szívek retrográd perfúzióját az alábbi körülmények között végeztük: 75 Hgmm nyomás, 5 % szén-dioxid (CO₂), 95 % O₂, 37 °C. 10 perces stabilizálás után az iszkémiás sérülést a bal leszálló koronária artéria (LAD) 30 perces lekötésével modelleztük, melyet 120 perces reperfúzió követett. Ezt követően a szíveket Evans-kék oldattal (1 %) mostuk át, majd -20 °C-on fagyasztottuk 12 órára a további vizsgálatok megkezdéséig [132].

6.1.7 Infarktusz terület meghatározása

Annak érdekében, hogy meghatározzuk az infarktusz terület nagyságát, a szíveket 2 mm vastag darabokra szeleteltük az apiko-bazális tengelyre merőlegesen, majd 37 °C-on, 10 percig 2 mL térfogatban annak érdekében, hogy jól elfedje a szív szeleteket, 1 %-os 2,3,5-trifenil-tetrazólium-klorid (TTC) oldattal festettük. A szeleteket ezt követően 10 %-os formalinoldatba merítettük, majd foszfáttal pufferolt sóoldattal (PBS) - melynek pH értékét 7,4-re állítottuk be - mostuk. A szív szeleteket két üveglemez közé helyezve szkenneltük, az infarktusz területet Image J programmal értékeltük, annak nagyságát a veszélyeztetett területekre vonatkozó százalékos arányban adtuk meg [132].

6.1.8 Az 1-es típusú kollagén és TIMP-2 koncentrációk meghatározása

A szív mintákat foszfát pufferben (pH=7,4) homogenizáltuk 20 másodpercig. A centrifugálás (2 500 rpm, 20 perc, 4 °C) után a felülúszót leszeperáltuk, majd enzim kötött immunszorbens vizsgálat (ELISA) (GenAsia, Shanghai) mérésekre tovább vittük és a leírás szerint jártunk el. A mérések során 40 µL vak, standard és felülúszó mintákat másodlagos biotinnal jelölt antitesttel inkubáltunk 60 percig 37 °C-on rázatva. Mosási lépések után a mintákat kromogén A, majd B oldatokkal inkubáltuk 10 percig 37 °C-on sötét helyen, majd a reakciót megállítottuk egy stop oldattal. Mind az 1-es típusú kollagén, mind pedig a TIMP-2 koncentrációja 450 nm-en lett meghatározva, értéke pedig ng/mg fehérjeként lett megadva [134].

6.1.9 Statisztikai analízis

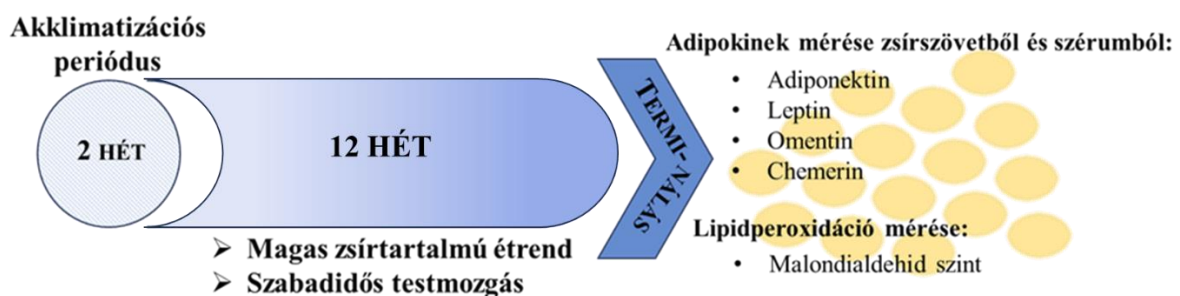
Az eredményeket átlag \pm S.E.M.-ként fejeztük ki. A csoportok közötti különbségeket egyutas ANOVA-val, határoztuk meg, Tukey Post-hoc teszttel kiegészítve. A kapott eltéréseket $p \leq 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

6.2 Az életmód (fizikai aktivitás és étrend) hatása SHRSP patkányokban

6.2.1 Vizsgált állatcsoportok

Kísérleteinkhez normotóniás hím Wistar-Kyoto (WKY) (n=6), valamint hím spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos (SHRSP) patkánytörzset (n=32) használtunk (Animalab Kft., Magyarország).-Az állatok tartása során az Európai Parlament és a Tanács 2010/63/EU előírásai alapján, a magyar törvényi szabályozásnak (XXVIII/1998) és a 40/2013. II. 14. kormányrendeletnek megfelelően, továbbá a XX./983/2021 MÁB előírásoknak megfelelően történt. A kísérletbe bevont állatok a szállítás után akklimatizálódnak 2 hétig. Az állattartási körülmények a következők voltak: 20-22 °C hőmérsékleten, 40-50 %-os páratartalom, 12 órás világos-sötét ciklusokban. Az etetés és itatás *ad libitum* történt. Az életmód hatásának vizsgálatához az SHRSP állatokat életmódbeli tényezők alapján tovább csoportosítottuk. A SHRSP állatokat az étrend jellege alapján hagyományos patkánytápon tartott, kontroll (CTRL), valamint 40 %-os zsírral dúsított étrenden (HFD) tartott csoportokra osztottuk. Mind a CTRL, mind pedig a HFD csoportok állataink egy részét futókerékkel felszerelt ketrecekbe helyeztük, számukra a testmozgást szabadidős testmozgásként definiáltuk, hiszen az állatok a nap 24 órájában szabadon hozzáférhettek a futóketrechez. A 12 hetes zsírdús etetés, valamint a futókerekes testmozgás protokollt egyszerre indítottuk az állatoknál. A protokoll részletei a **11. ábrán** összegezve látható. Az állatok randomizálása megtörtént, 5 csoportba osztottuk őket:

- WKY/kontroll csoport
- SHRSP + standard táp (CTRL)
- SHRSP + standard táp (CTRL) + futókerék
- SHRSP + 40% zsírtartalmú étrend (HFD)
- SHRSP + 40% zsírtartalmú étrend (HFD) + futókerék



11. ábra

Az életmód – fizikai aktivitás és étrend – hatásának vizsgálati protokollja SHRSP patkányokban (SHRSP: spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos patkány)

A 12 hetes kísérleti periódust követően az állatokat termináltuk, mely során zsírszövetet és vért távolítottunk el a biokémiai mérések céljából [135]. A zsírszövetet eppendorfban tároltuk -80 °C-on, a vérmintákat natív vérvételi csőbe vettük le, majd centrifugáltuk (18 °C-on, 3 200 rpm-en 10 percig), és a szérum mintákat -20 °C-on tároltuk további felhasználásig.

6.2.2 Adiponektin, leptin, omentin és chemerin koncentrációk meghatározása ELISA módszerrel

Az adiponektin, leptin, omentin és chemerin szintjének meghatározása ELISA-val (GenAsia, Shanghai, Kína) történt zsírszövetből és szérumból, az eljárás a 6.1.8. pontban leírtak szerint történt. A zsírszövet adipokin koncentrációjának meghatározásához a mintákat homogenizáltuk (Ultra-Turrax T8, 2 × 30 másodperc) jéghideg PBS-ben (pH=7,4), majd 20 percre centrifugába helyeztük 2000 fordulat/perc sebességgel, 4 °C-on. Szívpunkciót követően a vérmintákat natív csőbe helyeztük, majd centrifugáltuk (18 °C-on, 3 200 rpm-en 10 percig), majd a szérum frakciót használtuk az adipokin szintek meghatározására. A zsírszövetből mért adipokin koncentrációkat fehérjetartalomra normalizáltuk: a leptin- és omentin szinteket ng/mg fehérjeként, az adiponektin koncentrációkat µg/mg fehérjeként, a chemerin szintet pg/mg fehérjeként ábrázoltuk. A szérum adipokin koncentráció értékeléséhez az adiponektin szintet mg/L, a leptin szintet ng/mL-ben, az omentin- és chemerin koncentrációt ng/L-ben adtuk meg.

6.2.3 Lipidperoxidáció meghatározás

A lipidperoxidáció mértékét a malondialdehid (MDA) koncentrációjának mérésével határoztuk meg. A zsírszövet mintákat homogenizáltuk (Ultra-Turrax T8, 2 × 30 sec) 0,5% TritonX-100-zal kiegészített 20 mM PBS-ben (pH=3), majd 3 000 fordulat/perc sebességgel centrifugáltuk 20 percig. Ezt követően az olajos réteget eltávolítottuk, és a tiszta felülúszót egy másik csőben összegyűjtöttük. A vizsgálati eljárás során 50 µL standardot vagy 50 µL tesztmintát vittünk át egy 96 lyukú ELISA lemezre, majd 10 µL színreagens oldatot pipettáztunk a standard és a teszt mintákba. Az elegyet szobahőmérsékleten 20 percig inkubáltuk. A vizsgálat reakciófázisának indukálására 40 µL reakcióoldatot adtunk a vizsgálati térfogathoz, és a végső reakcióelegyet szobahőmérsékleten 45 percig inkubáltuk. Az optikai sűrűséget mikrolemez-leolvasóval (Thermo Scientific Multiskan Ex, Waltham, MA, USA) mértük 700 nm-en. Az MDA koncentrációját µM/ml-ben fejeztük ki.

6.2.4 Statisztikai analízis

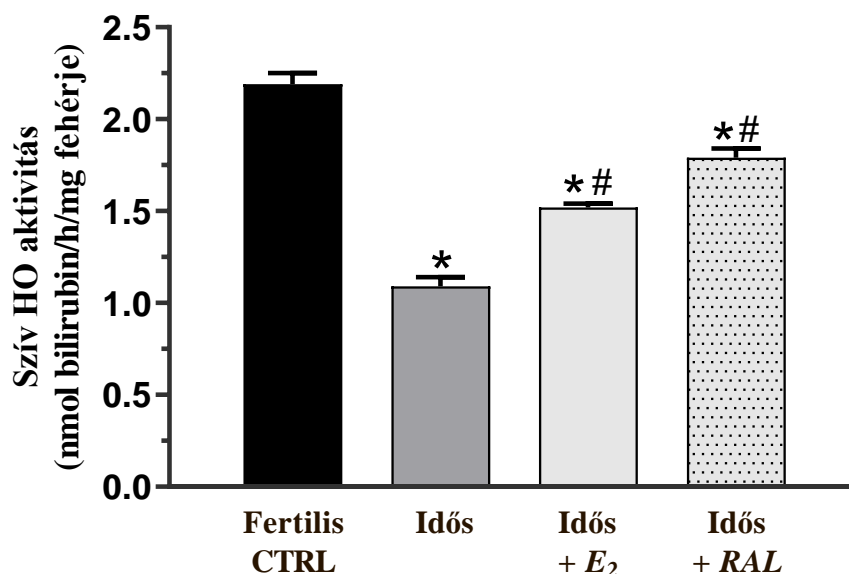
Az adatok normalitását és a variancia homogenitását Shapiro-Wilk teszttel igazoltuk. A WKY/CTRL és az SHRSP csoportok közötti különbségek elemzéséhez egyutas ANOVA-t alkalmaztunk Tukey post-hoc teszttel, és a $p \leq 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak. Annak érdekében, hogy az életmód befolyásoló hatását vizsgálhassuk, az SHRSP/CTRL és SHRSP/HFD, valamint a futó és nem futó csoportok közötti összehasonlításra kétutas ANOVA-t végeztünk Holm-Sidak többszörös összehasonlító teszttel, és a $p \leq 0,05$, valamint a $p \leq 0,05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak. A statisztikai elemzést a SigmaPlot 12.0 for Windows (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) programmal végeztük.

7 EREDMÉNYEK

7.1 Az öregedés és az E₂ / RAL kezelés hatása nőstény patkányok kardiovaszkuláris rendszerében

7.1.1 A szív HO aktivitása

Kísérletünk során a HO, mint antioxidáns enzim aktivitását az óránként termelt bilirubin (nmol) mennyiségeként határoztuk meg mg fehérjére vonatkoztatva. A **12. ábra** egyértelműen mutatja, hogy a HO aktivitása szignifikánsan csökkent az idős patkányok szívizom szövetében a kontroll, fertilis korú állatokhoz képest. Kéthetes E₂ és RAL kezelés egyaránt szignifikáns HO aktivitás emelkedést eredményezett a kezeletlen idős csoporthoz viszonyítva, ami a redox egyensúly javulását jelzi.



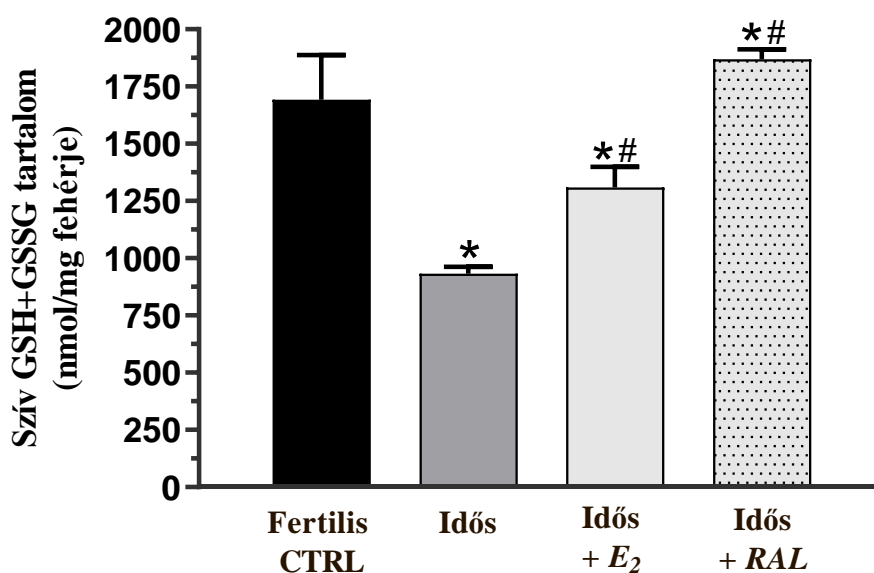
12. ábra

Az öregedés és az E₂/RAL kezelés hatása a szív HO aktivitására. A HO aktivitást nmol bilirubin / óra / mg fehérjére számolva lett kifejezve. Az értékek átlag ± S.E.M-ként kerültek megadásra, n=9-10.

* $p < 0,05$: szignifikáns különbség a fertilis CTRL csoporthoz viszonyítva. # $p < 0,05$: szignifikáns különbség az idős (20 hónapos) csoporthoz viszonyítva. (CTRL: kontroll, E₂: ösztrogén, RAL: raloxifen)

7.1.2 A szív teljes glutation tartalmának meghatározása

A GSH egy nem enzimatis antioxidáns molekula, amely védelmet nyújthat a szívet érintő oxidatív károsodás ellen. Eredményeink a teljes glutation tartalmat mutatják nmol/mg fehérjére vonatkoztatva. A természetes öregedési folyamat következtében szignifikáns csökkenést tapasztaltunk az idős nőstények szív glutation tartalmában a kontroll, fertilis korú csoporthoz képest. A kéthetes hormonpótló terápia szignifikánsan növelte a szívszövet glutation koncentrációját, ezt jól szemlélteti a **13. ábra**. A két hormon eltérő mennyiségben növelte a glutation tartalmat: az E₂ orális adagolása ~40 %-os növekedést eredményezett, a RAL pedig ~100 %-os hatékonysággal emelte meg az idős csoporthoz képest.

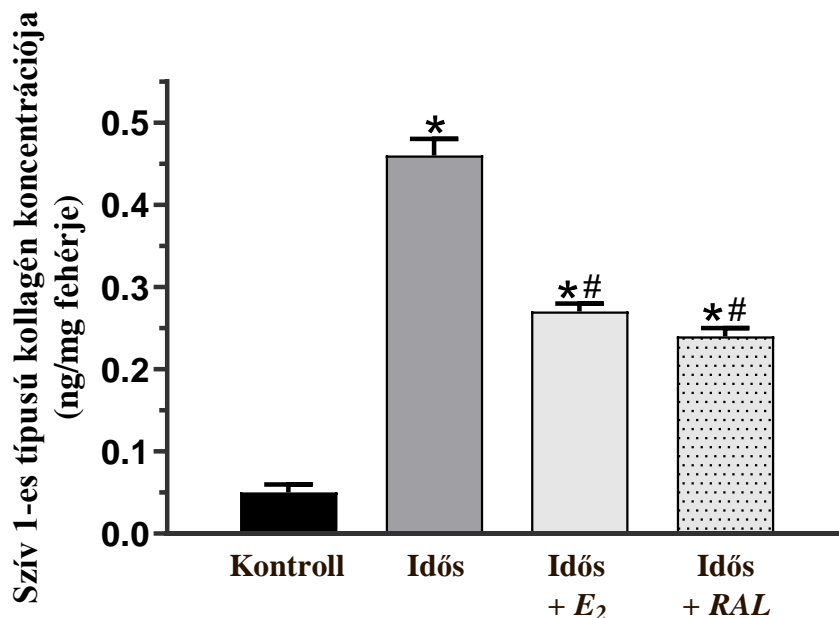


13. ábra

Az öregedés és az E₂/RAL kezelés hatása a szív GSH+GSSG tartalmára. A GSH+GSSG koncentrációt nmol / mg fehérjére vonatkoztatva adtuk meg. Az értékek átlag ± S.E.M-ként kerültek megadásra, n=9-10. *p<0,05: szignifikáns különbség a fertilis CTRL csoporthoz viszonyítva. #p<0,05: szignifikáns különbség az idős (20 hónapos) csoporthoz viszonyítva. (CTRL: kontroll, E₂: ösztrogén, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, RAL: raloxifen)

7.1.3 A szívszövet 1-es típusú kollagén koncentrációjának meghatározása

A szív fibrotikus folyamatainak életkor által kiváltott változásainak meghatározására és a hormonpótló terápiák lehetséges védőhatásának megfigyelésére a szívszövet 1-es típusú kollagén koncentrációját mértük. Méréseink azt mutatják, hogy jelentős átalakulások figyelhetők meg az öregedő szív fibrotikus folyamataiban (**14. ábra**). Az idős patkányok szívszövetében 9-szer magasabb 1-es típusú kollagén felhalmozódást mértünk a kontroll csoporthoz képest. A kéthetes E_2 és RAL kezelés hasonló mértékben csökkentette ezt a kóros kollagén tartalmat.

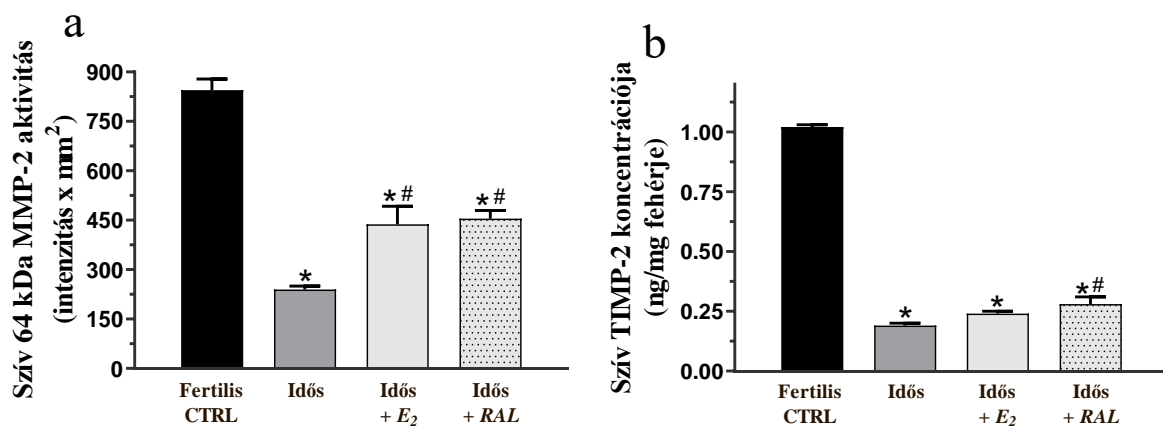


14. ábra

Az öregedés és az E_2 /RAL kezelés hatása a szív 1-es típusú kollagén tartalmára. Az 1-es típusú kollagén koncentrációt ng / mg fehérjére vonatkoztatva adtuk meg. Az értékek átlag \pm S.E.M-ként kerültek megadásra, $n=8-9$. * $p<0,05$: szignifikáns különbség a fertilis CTRL csoporthoz viszonyítva. # $p<0,05$: szignifikáns különbség az idős (20 hónapos) csoporthoz viszonyítva. (CTRL: kontroll, E_2 : ösztrogén, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, RAL: raloxifen)

7.1.4 A szívszövet MMP-2 aktivitásának, illetve a TIMP-2 koncentrációjának meghatározása

Az 1-es típusú kollagén felhalmozódásával az MMP-2 értékek negatív korrelációt mutatnak. Az MMP-2 aktivitása szignifikánsan, közel 70 %-kal csökkent az idős csoportban a fertilis korú kontroll csoporthoz képest (15/a ábra). Mind az E₂, mind pedig a RAL kezelések jelentősen növelték a szív MMP-2 aktivitását az idős állatok értékéhez viszonyítva. Annak vizsgálatára, hogy a hormonpótló terápia modulálja-e az MMP-2 aktivitását, kísérletünkben vizsgáltuk az MMP-2 inhibitorának koncentrációját is (15/b ábra). Az MMP-2 aktivitás csökkenésével korrelálva a TIMP-2 koncentrációja is szignifikánsan lecsökkent az idősödő állatok szívszövetében a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az E₂ és a RAL kezelés szignifikáns emelkedést mutatott a szöveti inhibitor koncentrációjában az idős csoporthoz képest.

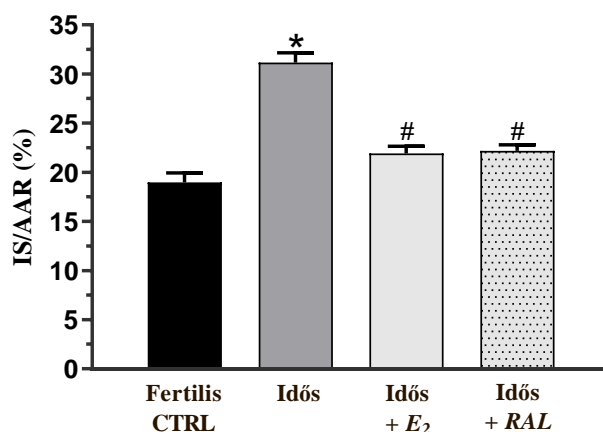


15. ábra

Az öregedés és az E₂/RAL kezelés hatása a szív MMP-2 aktivitására (a), illetve a TIMP-2 koncentrációjára (b). A 64 kDa MMP-2 aktivitás intenzitás x mm²-ben lett kifejezve (A), míg a TIMP-2 koncentrációja ng / mg fehérjére lett vonatkoztatva (B). Az értékek átlag ± S.E.M-ként kerültek megadásra, n=8-9. *p<0,05: szignifikáns különbség a fertilis CTRL csoporthoz viszonyítva. #p<0,05: szignifikáns különbség az idős (20 hónapos) csoporthoz viszonyítva. (CTRL: kontroll, E₂: ösztrogén, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, RAL: raloxifen)

7.1.5 A szív infarktusos területének meghatározása

Ahogy a **16. ábrán** látható, az infarktusnak kitett szívrészek területében szignifikáns növekedést figyeltünk meg az idős szívekben a kontroll csoporthoz képest. A kéthetes E_2 és RAL hormonpótlás szignifikáns csökkenést eredményezett az idősödő állatokhoz képest, ami a hormonpótló terápia szívizom I/R okozta sérülésekre gyakorolt védő hatására utal.



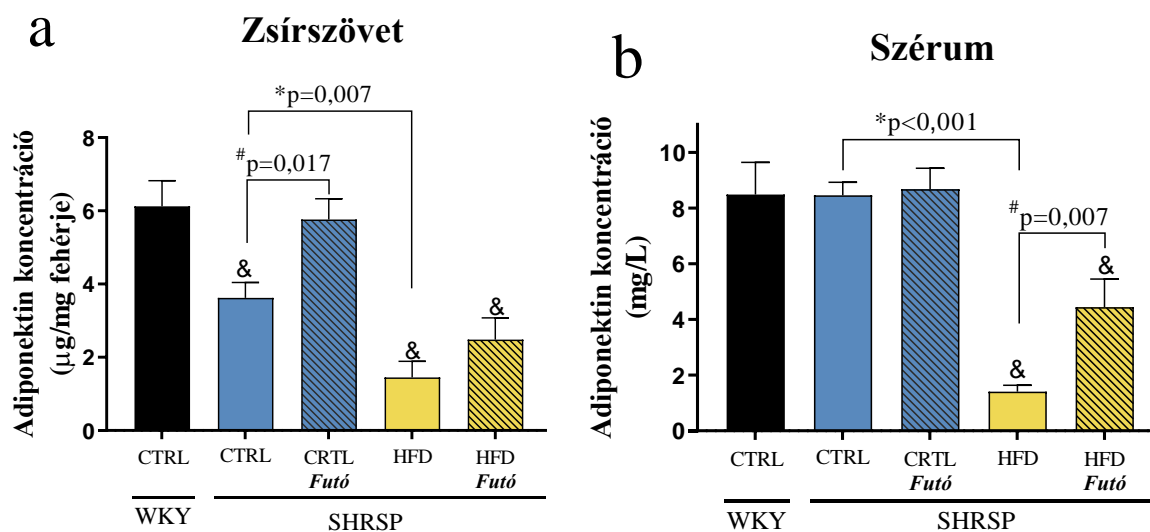
16. ábra

Az öregedés és az E_2 /RAL kezelés hatása az infarktus mértékére, melyet %-ban fejeztünk ki a rizikó zónára vonatkoztatva. Az értékek átlag \pm S.E.M-ként kerültek megadásra, $n=8-9$. * $p<0,05$: szignifikáns különbség a fertilis CTRL csoporthoz viszonyítva. # $p<0,05$: szignifikáns különbség az idős (20 hónapos) csoporthoz viszonyítva. (CTRL: kontroll, E_2 : ösztrogén, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, RAL: raloxifen, IS: infarktus mérete, AAR: rizikó zóna)

7.2 Az életmód (étrend és fizikai aktivitás) hatásának vizsgálata

7.2.1 A zsírszövet és szérumban adiponektin koncentrációjának változása a magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatására

A WKY/CTRL és SHRSP csoportok összehasonlítása azt mutatja, hogy a HFD okozta a legjelentősebb adiponektin koncentráció csökkenést mind a zsírszövet, mind a szérumban (17/a és 17/b ábra). Eredményeink továbbá egyértelműen mutatják azt is, hogy a 12 hetes zsírdús étrend szignifikánsan csökkentette a zsírszövet és szérumban adiponektin koncentrációját a SHRSP/CTRL állatokhoz képest. A szérumban adiponektin szintje negyedével csökkent, míg a zsírszövet esetében ~50 %-os csökkenés volt megfigyelhető a SHRSP/CTRL állatokhoz képest. A 12 hetes testmozgás protokoll enyhítette ezen kóros elváltozásokat, és statisztikailag is szignifikáns emelkedés volt megfigyelhető a SHRSP/CTRL futó csoportok zsírszövetében a SHRSP/CTRL nem futó csoportokhoz képest és a SHRSP/HFD futó csoportok vérmintájában a SHRSP/HFD nem futó csoportokhoz képest.

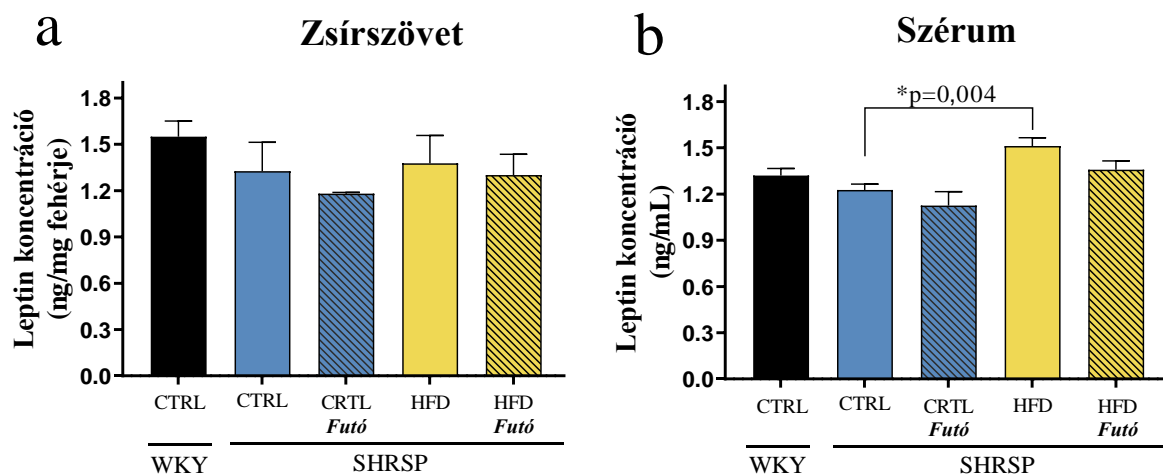


17. ábra

A magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatása a zsírszövet (a) és a szérumban (b) adiponektin szintjére. A zsírszövet esetében az értékek µg/mg fehérjére vonatkoztatva lettek ábrázolva (a), a szérumban pedig mg/L (b) mértékegységben. Az értékek átlag ± S.E.M-ként kerültek megadásra, n=3-5 (a), n=4-5 (b). &p<0,05: szignifikáns különbség a WKY/CTRL csoporthoz viszonyítva. *p<0,05: statisztikai összehasonlítás a SHRSP/CTRL és SHRSP/HFD csoportok között. #p<0,05: statisztikai összehasonlítás a futó és nem-futó csoportok között. (WKY: Wistar-Kyoto patkány, CTRL: standard tápon tartott patkány, HFD: 40 % zsírtartalmú étrend, SHRSP: spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos patkány)

7.2.2 A zsírszövet és szérumban lévő leptin koncentrációjának változása a magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatására

A WKY/CTRL és SHRSP patkányok összehasonlítása nem mutatott különbséget a leptin koncentrációkban sem a zsírszövet, sem pedig a szérumban tekintetében (18/a és 18/b ábra). Amikor az életmód hatását vizsgáltuk ezen paraméter esetében SHRSP állatokban, azt tapasztaltuk, hogy a 12 hetes HFD szignifikánsan megemelte a szérumban lévő leptin koncentrációját a SHRSP/CTRL értékekhez képest.

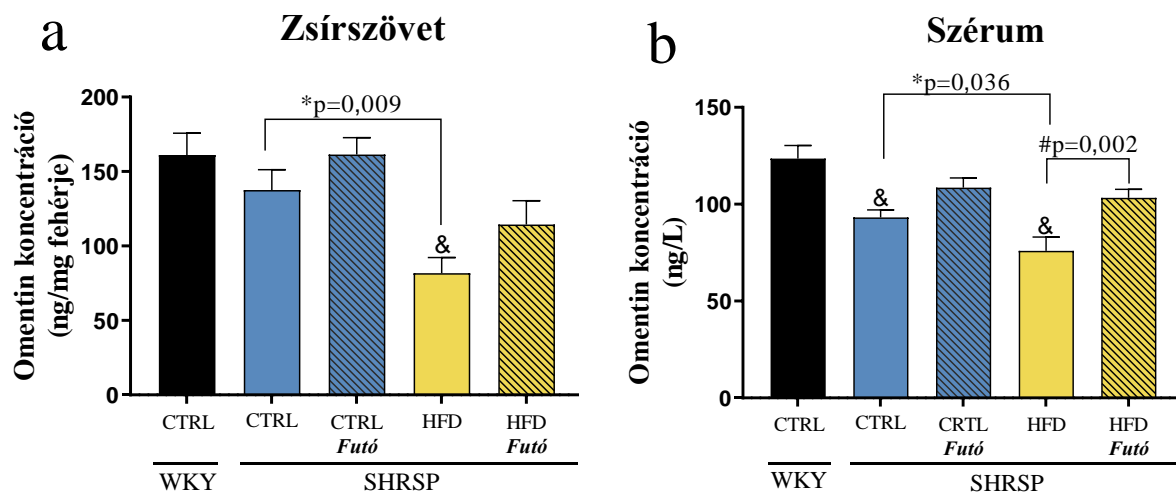


18. ábra

A magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatása a zsírszövet (a) és a szérumban (b) leptin szintjére. A zsírszövet esetében az értékek ng/mg fehérjére vonatkoztatva lettek ábrázolva (a), a szérumban pedig ng/mL (b) mértékegységben. Az értékek átlag \pm S.E.M-ként kerültek megadásra, $n=3-6$ (a), $n=5-6$ (b). * $p<0,05$: statisztikai összehasonlítás a SHRSP/CTRL és SHRSP/HFD csoportok között. (WKY: Wistar-Kyoto patkány, CTRL: standard tápon tartott patkány, HFD: 40 % zsírtartalmú étrend, SHRSP: spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos patkány)

7.2.3 A zsírszövet és szérumban omentin koncentrációjának változása a magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatására

Az omentin koncentrációk eredményét a 19/a és 19/b ábra szemlélteti. Az omentin koncentrációban a HFD által kiváltott szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a WKY/CTRL csoporthoz képest a zsírszövetben és szérumban egyaránt. Az életmódbeli változás az adiponektin koncentrációk eredményeihez hasonlóan jelentős hatást gyakorolt az omentin koncentrációkra is. 12 hetes magas zsírtartalmú étrend a SHRSP/HFD patkányok zsírszövetének és szérumának omentin koncentrációjában szignifikáns csökkenést eredményezett a SHRSP/CTRL csoporthoz képest. Eredményeink jól mutatják, hogy a HFD által kiváltott kedvezőtlen változások a szabadidős testmozgás hatására javultak, ami a szérumban minták esetében statisztikailag szignifikáns értéket ért el.

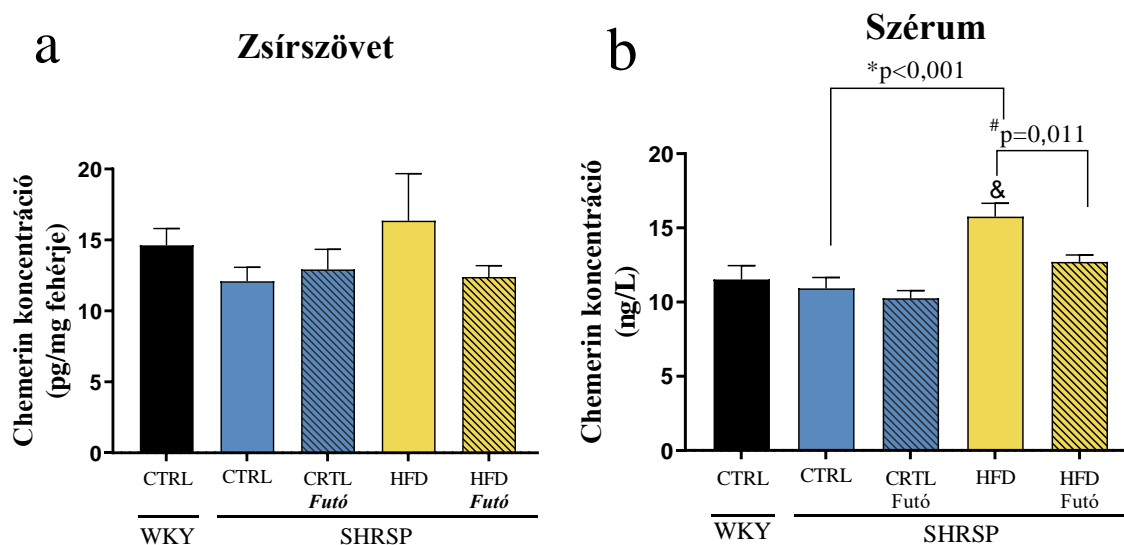


19. ábra

A magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatása a zsírszövet (a) és a szérumban (b) omentin szintjére. A zsírszövet esetében az értékek ng/mg fehérjére vonatkoztatva lettek ábrázolva (a), a szérumban pedig ng/L (b) mértékegységben. Az értékek átlag ± S.E.M-ként kerültek megadásra, n=3-5 (a) n=5-6 (b). &p<0,05: szignifikáns különbség a WKY/CTRL csoporthoz viszonyítva. *p<0,05: statisztikai összehasonlítás a SHRSP/CTRL és SHRSP/HFD csoportok között. #p<0,05: statisztikai összehasonlítás a futó és nem-futó csoportok között. (WKY: Wistar-Kyoto patkány, CTRL: standard tápon tartott patkány, HFD: 40 % zsírtartalmú étrend, SHRSP: spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos patkány)

7.2.4 A zsírszövet és szérumban chemerin koncentrációjának változása a magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatására

A SHRSP állatok zsírszövetéből mért chemerin szintjében sem az étrend, sem a szabadidős testmozgás nem okozott szignifikáns változást a WKY/CTRL csoporthoz viszonyítva (20/a ábra).



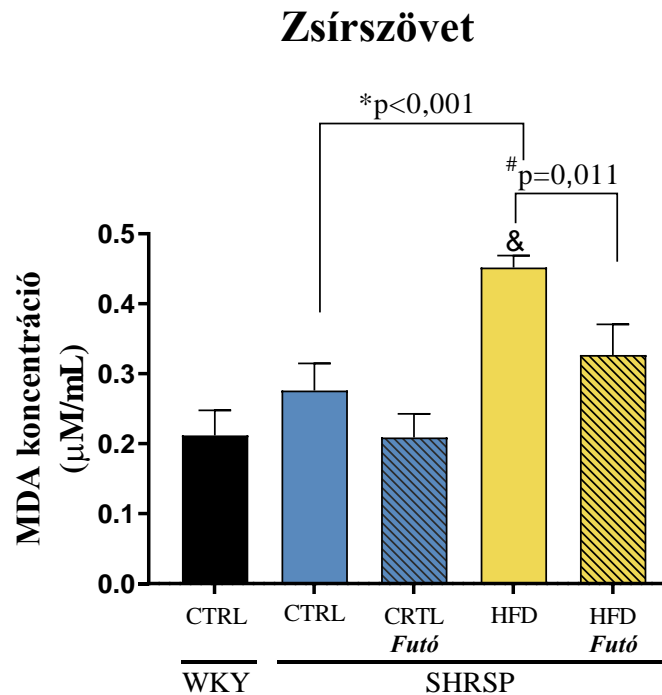
20. ábra

A magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatása a zsírszövet (a) és a szérumban (b) chemerin szintjére. A zsírszövet esetében az értékek pg/mg fehérjére vonatkoztatva lettek ábrázolva (a), a szérumban pedig ng/L (b) mértékegységben. Az értékek átlag \pm S.E.M-ként kerültek megadásra, $n=3-6$ (a) $n=4-6$ (b). & $p<0,05$: szignifikáns különbség a WKY/CTRL csoporthoz viszonyítva. * $p<0,05$: statisztikai összehasonlítás a SHRSP/CTRL és SHRSP/HFD csoportok között. # $p<0,05$: statisztikai összehasonlítás a futó és nem-futó csoportok között. (WKY: Wistar-Kyoto patkány, CTRL: standard tápon tartott patkány, HFD: 40 % zsírtartalmú étrend, SHRSP: spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos patkány)

Amint azt a 20/b ábra is jól mutatja a szérumban minták esetében a 12 hetes zsírdús étrend szignifikánsan növelte a chemerin koncentrációját a SHRSP állatokban a WKY törzshöz képest. Hasonló statisztikai emelkedést figyeltünk meg a SHRSP/CTRL és SHRSP/HFD csoportok között. A 12 hetes futókerekes szabadidős mozgás következtében szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a SHRSP/HFD futó csoportokban a nem futó állatokhoz képest.

7.2.5 A magas zsírtartamú étrend és a szabadidős testmozgás hatása a zsírszövetben fellépő lipidperoxidációra

A lipidperoxidáció mértékének meghatározásához a zsírszöveti mintákból határoztuk meg a MDA szintet (21. ábra).



21. ábra

A magas zsírtartalmú étrend és a szabadidős testmozgás hatása a zsírszöveti lipidperoxidációra, melyet MDA koncentrációként fejeztünk ki, µM/mL mértékegységben adtuk meg. Az értékek átlag ± S.E.M-ként kerültek megadásra, n=4-7. &p<0,05: szignifikáns különbség a WKY/CTRL csoporthoz viszonyítva. *p<0,05: statisztikai összehasonlítás a SHRSP/CTRL és SHRSP/HFD csoportok között. #p<0,05: statisztikai összehasonlítás a futó és nem-futó csoportok között. (MDA: malondialdehid, WKY: Wistar-Kyoto patkány, CTRL: standard tápon tartott patkány, HFD: 40 % zsírtartalmú étrend, SHRSP: spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos patkány)

A WKY/CTRL és SHRSP csoportok összehasonlítása szignifikáns különbséget mutat a MDA koncentrációkban a WKY/CTRL és SHRSP/HFD csoportok között. Az életmód által kiváltott hatás vizsgálata során kimutattuk, hogy a zsírdús étrend szignifikánsan megemelte az MDA szintet a SHRSP/HFD csoportokban a SHRSP/CTRL csoportokhoz képest is. A fizikai aktivitás képes volt csökkenteni a lipidperoxidáció mértékét mind a standard tápon, mind pedig a 40 % zsírdús étrenden tartott csoportokban.

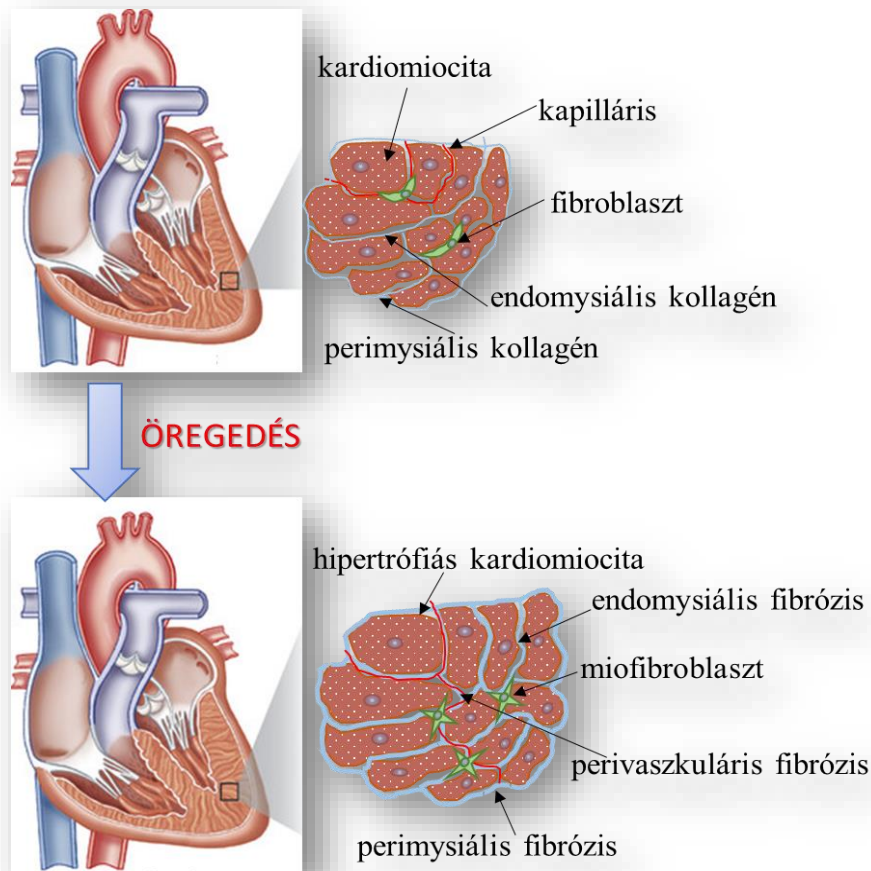
8 DISZKUSSZIÓ

A WHO 2019-es becslése szerint a CVD-k még mindig a vezető halálteki tényezők közé tartoznak, a globális halálozások 32 %-a CVD-k miatt következik be [136]. A szív- és érrendszeri halálozások egyharmada idő előtt történik meg, a 70 év alatti embereknél. A szívbetegségek közvetett és közvetlen kockázati tényezői közé tartozik az egészségtelen táplálkozás, fizikai inaktivitás, dohányzás, illetve maga az öregedés folyamata is [137]. A magas vérnyomásról 2019-ben jelent meg a WHO első jelentése, amely „csendes gyilkos”-ként említi ezt a betegséget, hiszen sokáig tünetmentes, viszont a CVD-ek egy magas kockázati tényezője [138]. A WHO 2022-es adatai alapján minden nyolcadik ember a világon elhízott vagy túlsúlyos, ez főként a nem megfelelő mennyiségű és minőségű táplálkozás és a fizikai aktivitás hiánya miatt következik be [139].

Első kísérletsorozatunkban a hormonpótló terápiák hatását vizsgáltuk 20 hónapos, öregedő patkánymodellben szív mintákon a kardiovaszkuláris rendszer antioxidáns / oxidáns állapotának tekintetében, továbbá a szív extracelluláris mátrix rendszerének átalakulásában. Eredményeink alapján elmondható, hogy a HO antioxidáns enzim aktivitása a szívizom szövetben csökkent az öregedés hatására. Az E₂, illetve RAL kezelés szignifikáns mértékben javított ezen értéken. A szív teljes GSH + GSSG tartalma az idős állatokban szignifikánsan csökkent, így a szervezet redox egyensúlya is az oxidánsok felé tolódott, mind a kétféle hormonpótlás szignifikánsan növelte ezen OS szabályozó molekula szintjét. A raloxifen kezelés szignifikánsan magasabb értéket is eredményezett még a kontroll állatokhoz képest is. Az öregedés hatására bekövetkező fibrotikus változások miatt szignifikánsabban magasabb 1-es típusú kollagén szintet mértünk, mint a kontroll nőstény állatokban, ezzel negatívan korrelálva szignifikánsan változott az MMP-2 aktivitása és a TIMP-2 szintje is. A HRT-k azonban hasonló mértékben szignifikánsan javították ezen progresszív folyamatokat.

Az öregedő szív kóros strukturális elváltozásokkal jár együtt, mint pl. a LV hipertrófia, fibroblasztok proliferációja, ezek pedig negatív irányban változtatják a szívfrekvenciát, lassítják az elektromos impulzus terjedését [140-142] (**22. ábra**). Az öregedés egy krónikus gyulladással járó folyamat. A szívizom sérülésére korai válaszként a kardiomiociták hipertrófiáját figyelték meg [143]. A kardiomiociták az életkor előrehaladtával érzékenyebbek lesznek a OS-re, így a megnövekedett ROS szint hatására a kardiomiociták száma csökken [144]. Sérülés hatására különböző gyulladással járó mediátorok szabadulnak fel, melyek hatására a

gyulladásos sejtek (monocita/makrofág, neutrofilek) aktiválódnak. A szív fibroblasztok (CF) felelősek a szív ECM homeosztázisának fenntartásáért.



22. ábra
Az öregedő szív szerkezetében bekövetkező változások
(Biernacka és mtsi., illetve Espeland és mtsi. nyomán [145, 146])

A CF-ok mintegy vészjelző érzékelőként szolgálnak, és fokozzák a gyulladásos választ pl.: I/R-ban [147]. A CF-ok aktiválódása után miofibroblasztokká transzdifferentiálódnak. A miofibroblasztok és endothelsejtek MMP-ket kezdenek el termelni, melynek hatására megbomlik az alapmembrán és a gyulladásos sejtek toborzása megy végbe. A neutrofilek és makrofágok által termelt citokinek aktiválják az endothelsejteket, új ereket alakítanak ki a károsodott szövetben. A miofibroblasztok nagy mennyiségű ECM-fehérjét kezdenek el termelni, amely folyamat végső soron fibrotikus heget hoz létre [148]. Az öregedő szívben a perimysialis és endomysialis kollagén fokozott lerakódása a sejtek közötti tér fibrózisát eredményezi, miközben perivaszkuláris fibrózis is kialakulhat. Mindezen fent leírt változások hozzájárulhatnak a szívelégtelenség kialakulásához [145]. A szívteljesítmény a korrallal csökken, ami a szívizomzat teljesítményfokozásával jár, viszont ez csak rövid távon nyújt segítséget a szív megfelelő működésének fenntartásához [149]. Az öregedéssel együtt járó érrendszeri

diszfunkció következtében egy adott szövet elvesztheti a megfelelő szöveti perfúzióját, ennek hatására bekövetkezhet egy iszkémiás állapot [150]. A fenti folyamatoknak megfelelő kísérleti eredményeket tapasztunk, ahol időskori állatoknál szignifikánsan nagyobb infarktusos területeket mértünk. Hormonpótlás hatására viszont szignifikánsan csökkenteni tudtuk az infarktusos területek nagyságát.

A szív ECM egy makromolekulákból - kollagénekből, hialuronsavból, szkleroproteinból, proteoglikánból, nem kollagén glikoproteinekből és proteinázokból - álló struktúra, amely számos folyamatot szabályoz sejt-ECM kommunikáció révén, így alapvető szerepe van a szívműködés programozásában és szabályozásában [151-153]. A szív mikrokörnyezetét tartják fenn a következő sejtek: mezenchimális sztrómasejtek, fibroblasztok, endotheliális sejtek, kardiomiociták és immunsejtek, melyek felelősek az ECM összetevők termeléséért [154-158]. Munkánk során vizsgáltuk a szívszövetben mérhető MMP-2 aktivitását, illetve a TIMP-2 koncentrációját öregedő patkánymodellben. Az LV remodellingnek egyik pathofiziológiai mechanizmusa lehet az ECM szabályozó proteázok és azok inhibitorainak változásai. Az MMP-k cinkfüggő enzimek, melyek lebontják a fibrilláris fehérjéket és aktiválják a biológiailag fontos molekulákat, így modulálva a dinamikusan változó ECM-et [145, 146]. A szívizom MMP-k közé tartoznak: MMP-2, MMP-7, MMP-9. A vizsgálatunk középpontjában az MMP-2 zselatináz állt - amely lebontja a IV-es típusú kollagént, a fibronektint, laminint, a fibrilláris kollagén peptideket -, hiszen ez a legfőbb MMP, amely szerepet játszhat kóros szív fibrózisban [159]. Dirk Bonnema és mtsi. tanulmányaival korrelálva, méréseink eredményei alapján elmondható, hogy az idősebb életkor alacsonyabb MMP-aktivitással társítható. Ezen tanulmány célpontjai voltak a TIMP-ek plazma koncentrációja is, nevezetesen a TIMP-1, -2 és -4, amelyek poszttranszlációs módosítás révén gátolják az MMP-k aktivitását, szintjükben az életkor előrehaladtával változás tapasztalható. Pechenino és mtsi. tanulmányában kísérletesen kialakított (petefészek eltávolítással (OVX)) E₂ hiányt hoztak létre idős patkányokban, melynek eredményeként vizsgálták a HRT hatásait. Eredményeik egy része korrelált a mi eredményeinkkel, hiszen OVX hatására emelkedett 1-es típusú kollagén szintet mértek, mely HRT hatására csökkent, illetve a TIMP-2 értékében is csökkenést tapasztaltak a HRT hatására a kontroll csoportokhoz viszonyítva [160].

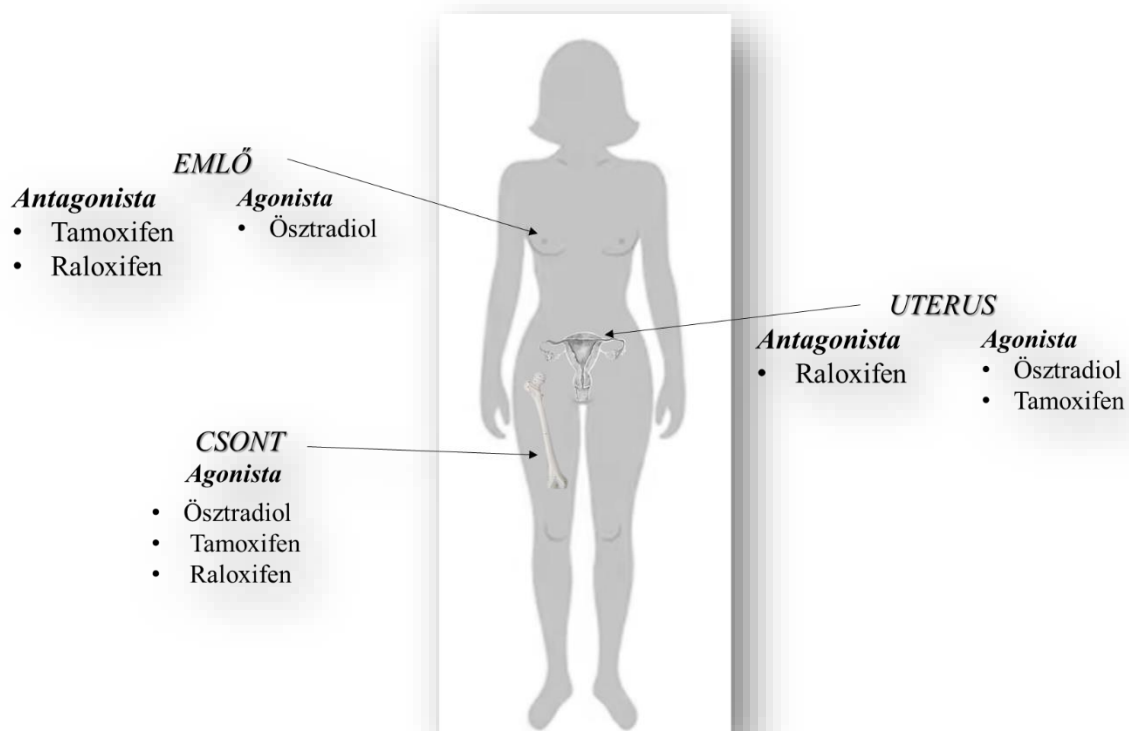
Az öregedő sejtekre jellemző a szenescenciával összefüggő szekretoros fenotípus (SASP), ami szisztémás gyulladáshoz vezet, és összefüggésben lehet az életkorral összefüggő CVD kialakulásával [161]. A SASP során a sejtek antioxidáns potenciálja csökken, és gyulladáshoz vezet.

citokineket és növekedési faktorokat kezdenek el termelni, melyek révén az öregedő sejtek megváltoztatják mikrokörnyezetüket, melyek többféle kórkép kialakulásához vezethetnek, mint pl.: a CVD [162]. A sejtek öregedésének egyik fontos tényezője az antioxidánsok mennyiségének, illetve aktivitásának csökkenése, így a túlzott OS kialakulása. A HO-1 egy citoprotektív faktor, amely alaphelyzetben alacsony expressziós szintet mutat, kardioprotektív hatásait egyre több bizonyíték támasztja alá. Sharma és mtsi. tanulmányukban leírták, hogy az I/R károsodás növelte a HO-1 enzim aktivitását, így alátámasztva azt a hipotézist, hogy a HO-1 szerepet játszhat a stressz elleni védekezésben [163]. A HO-1 fokozott expressziója és a szívműködés javulása volt megfigyelhető Shan és mtsi. kísérleteiben felhasznált MI-on átesett egerekben [164]. Transzgenikus egerekkel végzett vizsgálatban a HO-1 túlzott expressziója csökkentette az infarktus méretét és a gyulladás mértékét I/R-t követően [165]. Di Giulio és mtsi. vizsgálatai azt találták, hogy öregedés hatására magasabb volt a vizsgált egerek karotis testjének HO-1 expressziója, amely hipoxiás körülmények között tovább fokozódott, ez alátámasztja a HO-1 gyors ROS semlegesítésre való elméletét [166]. Lavrovsky és mtsi. munkájának eredményei egyértelműen azt mutatják, hogy a HO-1 expressziója a májban az életkorral nő [167]. Schipper Alzheimeres betegek neuronjaiban figyelte meg a HO-1 immunreaktivitásának nagymértékű fokozódását [168]. Vizsgálatunk során kimutattuk, hogy az öregedési folyamat szignifikánsan csökkentette a HO enzimaktivitást a kontroll/fertilis csoporthoz képest, ami arra utal, hogy a sejtek érzékenyebbek lettek az oxidatív inzultusra. Egy korábbi tanulmányban Ungvari és mtsi. egy Nrf2 redox-érzékeny transzkripció szabályozó szerepét vizsgálta a kardiovaszkuláris öregedésben [169]. Fiziológias körülmények között a Nrf2 különböző antioxidáns gének, például a HO-1 növekedéséhez vezet; az életkor előrehaladtával fokozódó ROS-termelés azonban gátolja a Nrf2-t, ami oxidatív károsodást és gyulladást eredményez. Egy másik tanulmányban Kwon és mtsi. értékelték a Nrf2/HO-1 jelátviteli útvonal hatását az antioxidáns kapacitásra [170]. Eredményeik azt mutatták, hogy a Nrf2/HO-1 jelátvitel a GSH tartalom növekedését eredményezte, míg a HO-1 aktivitás gátlása megszüntette a GSH citoprotektív hatását. Munkánk során az öregedési folyamat hasonló csökkenést okozott mind a HO aktivitásban, mind a GSH+GSSG tartalomban, ami arra utal, hogy ezek az antioxidáns mechanizmusok a Nrf2 jelátviteli útvonalon keresztül közvetíthetnek. Míg az öregedés/ösztrogénhiány a redox státusz megváltozásával járt, addig az ösztrogén és raloxifen kezelések védő hatást fejtenek ki a szív antioxidáns állapotára a HO aktivitás és a GSH szint növekedése révén. Ezek az eredmények összhangban vannak korábbi megfigyeléseinkkel, ahol az ösztrogén és a raloxifen antioxidáns szerepét igazoltuk petefészek-eltávolított patkánymodelleken [128].

A HO-1-hez hasonlóan más Nrf2 által szabályozott antioxidáns gének, mint pl.: a GPx védenek az érlemeszesedés ellen. A GPx-ok-a főként a H₂O₂-t és a lipid hidroperoxidokat (LOOH) redukálják, melyhez elektrondonorként glutationt használnak fel [171]. A glutation a legnagyobb mennyiségben (millimoláris) előforduló endogén intracelluláris antioxidáns, melynek kulcsszerepe van a ROS-ák által kialakított OS elleni védelemben. Számos kísérletes és klinikai tanulmány eredménye, a kísérleteink eredményeit megerősítve, ad bizonyítékot arra, hogy a glutation szintje csökken az öregedés hatására [172]. Farooqui és mtsi. azt találták, hogy az öregedő szövetek általános jellemzői közé tartozhat a GSH-tartalom csökkenése és a lipid-peroxidok növekedése [173]. Stohs és mtsi. számos egér szövetre kiterjedő vizsgálata bizonyíték az életkorral csökkenő GSH szintre [174]. Szignifikánsan alacsonyabb plazma GSH-t mutattak Samiec és mtsi. idősebb egyéneknél, mint a fiatalabb egyéneknél [175]. Erden-Inal és mtsi. munkája leírja: szignifikánsan alacsonyabb volt a glutation-reduktáz aktivitás a legidősebb csoportokban, ami feltételezi az alacsony GSH szintet is [176].

Az életkorban megfigyelhető nemi differenciáció az öregedés mitokondriális elméletével függ össze. Az ösztrogének az ösztrogénreceptorokhoz kötődnek, és ezt követően aktiválják a MAPK és az aktivált B-sejtek nukleáris faktor kappa-könnyűlánc-fokozója (NF-κB) jelátviteli útvonalaikat, ami az antioxidáns enzimek szabályozási folyamatainak erősítését eredményezi [177]. Az NF-κB ösztrogének általi aktiválása ezt követően aktiválja az Mn-SOD és a GPx expresszióját [178]. Az életkor előrehaladtával a csökkenő ösztrogén szint pótlására a HRT nyújthat lehetőséget, azonban a E₂ és E₂/progesztin terápiák jótékony hatásai mellett szerepet játszhatnak az emlőrák és a méh rákos elváltozások kockázatának növekedésében [179]. Azt is megfigyelték, hogy az öregedés hatására csökken a ER-k expressziója, így csökkentve a HRT jótékony hatását is [180]. Kutatócsoportunk korábbi munkái erős korrelációt mutattak a HO aktivitása és az endogén ösztrogéntelítettségi állapot között [128, 134]. Barp és mtsi. kísérletükben azt tapasztalták, hogy kasztrált nőstény állatokban fokozódik az oxidatív károsodás, magasabb H₂O₂ szintet mértek máj- és agy szövetből, míg E₂ pótlás hatására a H₂O₂ szintje normalizálódott [181]. James és mtsi. azt tapasztalták munkájuk során, hogy az idős, ovárium eltávolításon (mesterséges E₂ hiány) átesett patkányokból izolált miociták megnövekedett NF-κB aktivációt mutattak, ami elősegíti a gyulladáshoz vezető citokinek termelését és a csökkent ROS kezelés lehetőségét, ellenben, ha E₂ terápiában részesültek ezen állatok, ezen hatás megszűnik, így megvédve a szív működését a károsodástól [182]. Számos tanulmány alátámasztja az E₂ kardioprotektív szerepét, ami az életkor előrehaladtával csökkenő tendenciát

mutat. Javítja a mitokondriális szerkezetet és funkciót a GPER aktiválása révén. Aktiválja a kardioprotektív jelátviteli útvonalakat (PI3K/extracelluláris szignál által szabályozott kinázok 1/2 (ERK1/2)), csökkenti a ROS-ák termelődését [183, 184]. Patten és mtsi. munkájában bizonyítást nyert, hogy a kardiomiociták apoptózisa csökkent E₂ kezelés hatására OVX nőstényekben, amely hatást a PI3K/Akt útvonal aktiválásával éri el [185]. Az E₂ szabályozza a NOX-ok expresszióját vagy azok aktivitását a O₂⁻ termelésének csökkentése révén a vaszkuláris simaizom sejtekben [186]. Egy másik tanulmányban a női nemi hormon pótlása OVX patkányokban növelte a NO-termelést és csökkentette a lipid-peroxidáció mértékét [187]. A hagyományos HRT-ken kívül a szexuál hormonok helyettesítésére létezik a SERM terápia. A SERM-ok az ER ligandumaiként működnek, de szövetspecifikus módon antagonisták és agonisták hatással. Minden SERM-et külön kell vizsgálni, mert szintetizálásuk során más-más tulajdonságot kaptak. Napjainkban a SERM-k alkalmazása főként a csonttritkulás és emlőrák megelőzésére és kezelésére, illetve a kedvező lipidprofil fenntartására terjed ki posztmenopauzális nőkben [188]. Ilyen SERM-ek a következők: tamoxifen, RAL, lazofoxifen, bazedoxifen [189]. A SERM-ek agonista és antagonisták hatásait a női szervezetben a **23. ábra** foglalja össze.



23. ábra
A SERM-ek agonista és antagonisták hatásai a női szervezetben
(SERM: szelektív ösztrogénreceptor modulátor)

A tamoxifen egy első generációs, trifenil-etilén SERM, amelyet először alkalmaztak a mellrák megelőzésére és kezelésére, azonban kiderült, hogy csak az ER α pozitív emlőráksejtek proliferációját gátolja [190, 191]. A tamoxifen mellékhatásai a következők: az endometriumban indukálja a sejtek növekedését, hóhullámok előidézése, sztrók, tüdőembólia fokozott kockázata [192-196]. A RAL egy második generációs benzotiofén származék. Vogel és mtsi. azt is megállapították, hogy kevesebb káros mellékhatással rendelkezik, mint a tamoxifen [193]. Az E₂ és RAL hatásait a **24. ábra** foglalja össze. Számos tanulmány kimutatta a RAL közvetett és közvetlen jótékony hatásait a szív és érrendszerre. Walsh és mtsi. rávilágított arra, hogy a RAL pozitívan hat a lipidprofilra, hiszen nem változtatja meg a plazma triglicerid szintjét, viszont csökkenti az LDL és Lpa szinteket [197]. Egy másik kutatócsoport vizsgálatai megerősítették a HRT szérumban Lpa csökkentő hatását, ami arra utal, hogy a RAL csökkentheti a koszorúér betegség kockázatát [198]. A RAL egy kutatásban homocisztein szintet is csökkentet, ami egy kockázati tényező lehet a CVD kialakulásában [199]. Az E₂-ről kimutatták, hogy javítja a vaszkuláris funkciót, így felvetődött a kérdés, hogy a RAL-nek is lehet-e ilyen hatása. Morabito és mtsi. által közölt tanulmányban a RAL-nel végzett terápia növeli a plazma NO és csökkenti az endotelin-1 szintjét, így javítva az endothel-függő értágulatot [200]. Kutatócsoportunk korábbi vizsgálatai alapján már bizonyítást nyert a RAL HO rendszerre kifejtett hatása kísérletesen létrehozott ösztrogén-hiányos patkányokban [128].



24. ábra

Az E₂-hiány két lehetséges kezelési módjának összehasonlítása [90, 91]
 (E₂: ösztrogén, ER: ösztrogén receptor, RAL: raloxifen)

A fizikai inaktivitás, zsírdús étrend tovább növeli az egészségügyi kockázatok kialakulását. A fokozott egészségügyi kockázatok viszont az életkor hosszát s minőségét nagymértékben meghatározzák. Így a második kísérletsorozatunkban vizsgáltuk a zsírban dús étrend és a

fizikai aktivitás hatását normotóniás hím Wistar-Kyoto és hím SHRSP patkánymodellben. A méréseink során szérum és zsírszövet mintákat használtunk fel antioxidáns és gyulladást elősegítő adipokinek koncentrációjának meghatározására.

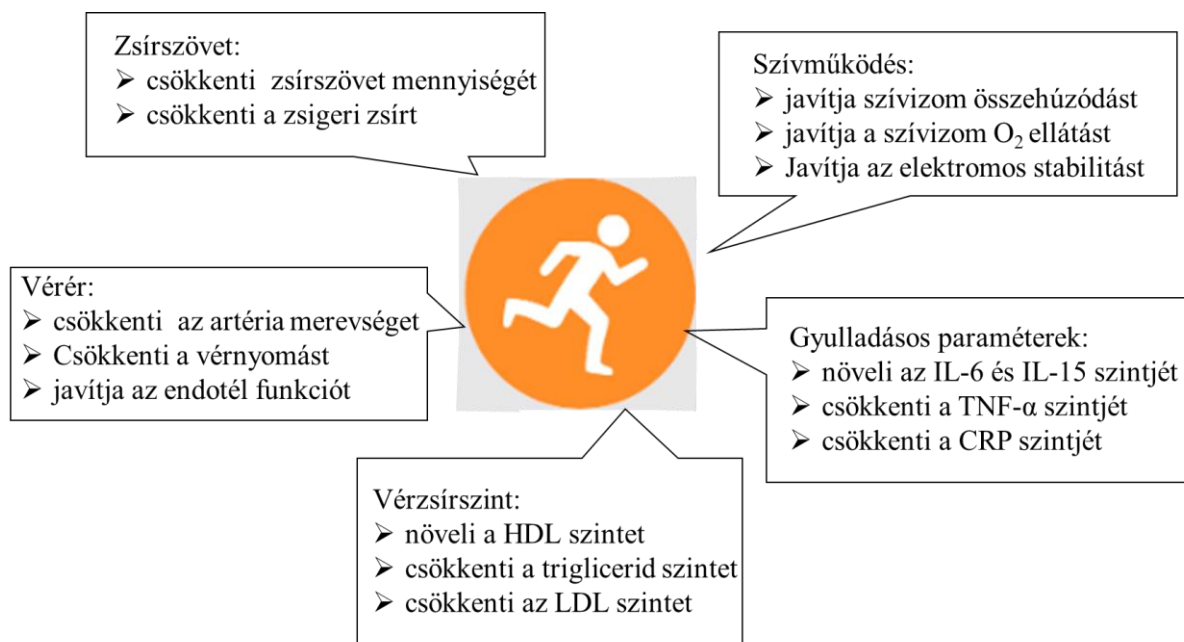
Az orvosi gyógyszeres terápiák mellett az életmódbeli módosítások is nagymértékben csökkenthetik vagy kiegészíthetik azok hatásosságát a CVD kialakulásában, illetve kezelésében javítva az életminőségen. Mivel a CVD-k globális anyagi és társadalmi terhet jelentenek minden régióban, ezért vizsgáltuk az életmód szerepét közvetve a CVD-re [201]. A módosítható kockázati tényezők közé tartozik az egészséges táplálkozás, a rendszeres testmozgás, a dohányzás és alkoholfogyasztás elkerülése vagy elhagyása, a stressz kezelése és az elhízás megelőzése, ezek mind csökkenthetik a CVD kialakulásának kockázatát [202].

Az AHA 2021-ben 7 célpontot határozott meg a szív egészségének megőrzése érdekében: megfelelő diéta, rendszeres testmozgás, vércukorszint szabályozás, testtömeg-, koleszterinszint-, vérnyomás-szabályozás, dohányzás elhagyása [203]. Lloyd és mtsi. 2022-ben kiegészítették még egy ponttal a listát, a megfelelő mennyiségű és minőségű alvás fontosságára hívták fel a figyelmet (25. ábra) [204].



25. ábra
Az AHA nyolc javasolt irányelve a szív egészségének megőrzésében
(AHA: Amerikai Szív Szövetség)
[205]

Az étrend mellett vagy inkább azzal együtt az aktív életmód fontossága is szerepel az AHA 8 irányelve között, mely fontosságát a CVD kockázatának csökkentésében számos tanulmány alátámasztja [206]. A fizikai aktivitás előnyei mind preventív jelleggel fellelhetők az egészséges kardiovaszkuláris rendszerrel rendelkezők körében, mind pedig a már CVD-ben szenvedő betegek számára terápiás céllal is szolgálhatnak [207, 208]. Ez a régi nézetekkel szemben áttörés volt, hiszen a CVD-ben szenvedők számára nagy mennyiségű pihenést és fizikai inaktivitást javasoltak [209]. A megfelelő mozgásformák kiválasztása és mennyisége közvetlen és közvetett módon is jótékonyan hat a szív- és érrendszerre. Közvetlen jótékony hatásai közé tartozik: javítja a szívizom összehúzódását, az O₂ ellátását és az elektromos stabilitását. Közvetett módon a CVD-k fő kockázati tényezőit módosítja, így csökkenti a vérnyomást, az atherogen lipoprotein szintet, a zsigeri zsírosodást, javítja az endothel funkciót és csökkenti a gyulladást [210]. A testmozgás és a CVD-re kifejtett jótékony hatásait a **26. ábra** foglalja össze [211].



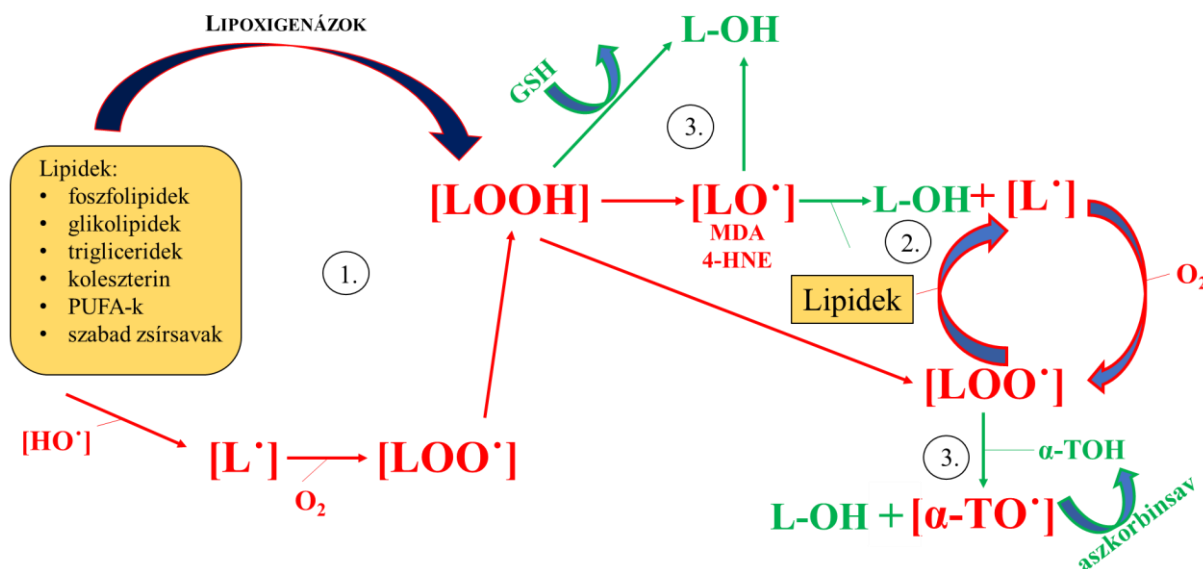
26. ábra

A fizikai aktivitás CVD-re kifejtett jótékony hatásai a különböző támadási pontokon (CRP: C-reaktív fehérje, HDL: magas sűrűségű lipoprotein, IL-6: interleukin-6, IL-15: interleukin-15, alacsony sűrűségű lipoprotein, O₂: oxigén, TNF- α : tumor nekrozis faktor alfa) (Belanger és mtsi. nyomán [211])

A testmozgás számos szervre, szervrendszerre van jótékony hatással. A sport csökkenti a zsír szövet mennyiségét, amivel a testtömeg index (BMI) csökkenése is megfigyelhető, valamint csökkenti a káros lipid lerakódásokat a viscerális szerveken. Hatással van a gyulladási paraméterekre is: egyes citokinek növeléséhez járul hozzá (IL-6, interleukin-15 (IL-15)), míg másikat csökkenti (TNF- α), valamint csökkenti a C-reaktív protein (CRP) gyulladási

metabolikus paraméter szintjét is. A vérsír szintet normalizálja, hiszen növeli a HDL szintet, míg csökkenti a trigliceridek és LDL koncentrációját a plazmában. Pozitív hatással van a vérerek funkcionalitására is, csökkenti az artéria merevségét, javítja az endothel funkciót és csökkenti a vérnyomást. Javítja a szív- és így egyéb szervek- oxigén ellátását, a szívizom összehúzódását, és ezek által az elektromos jelátviteli folyamatok is jobban működnek [211].

A lipidperoxidáció fontos szerepet játszhat a CVD-k kialakulásában, hiszen számos bizonyíték támasztja alá, hogy szerepet játszanak a CVD-k egyik legnagyobb kockázati tényezőjének kialakulásában, az érlemezésedés progressziójában, endothel diszfunkcióban, gyulladásban, magas vérnyomás pathofiziológiájában. A lipidperoxidáció egy endogén folyamat, amely során a különböző szervezetben lévő lipidek oxidálódnak enzimatikusan vagy szabadgyökök által. A lipideket számos enzim oxidálhatja: lipoxigenáz, ciklooxigenáz, citokróm P450 [212]. A lipidperoxidáció részletes folyamatát a **27. ábra** szemlélteti. A lipidperoxidáció 3 lépésből áll [213]. Az első iniciáció lépésben egy szabadgyök, mint a HO[•] képes a lipidektől egy allil hidrogént elvonni, amely során a lipidgyök (L[•]) keletkezik. A terjedés fázisban a L[•] reagál a molekuláris O₂-nel, amely hatására lipidperoxil gyök (LOO[•]) jön létre. Az LOO[•] képes reagálni újabb lipidekkel, mely során újabb L[•] képződik. A terminációban a LOO[•] semlegesítése következik be: pl.: egy antioxidáns, az E-vitamin (α-TOH) hatására, melyből egy kevésbé reaktív szabadgyök keletkezik: az α-tokoferoxil gyök (α-TO[•]), amelyet a C-vitamin fog semlegesíteni [214]. Amennyiben nem megfelelően zajlik le a lipidperoxidáció teljes folyamata, a LOO[•] képes reagálni újabb lipidekkel, mely során lánreakciót beindítva LOOH és L[•] termelődését teszi lehetővé. A lipidperoxidáció másodlagos melléktermékei keletkeznek, mint a malondialdehid, propanal, 4-hidroxy-2-nonenal (4-HNE) és újabb szabadgyökök, mint az alkilgyök (LO[•]) [215, 216]. Az LOOH és LO[•] semlegesítése a GPx-1 és a GPx-4 enzimek által történik az antioxidáns GSH kofaktoral, így stabil lipid alkoholok (L-OH) keletkeznek [217]. Az LOOH-ból képződő reaktív karbonil fajták, mint pl.: az MDA, 4-HNE, prosztaglandinok kovalens módon képesek kötődni a nukleinsavakhoz, fehérjékhez és foszfolipidekhez, így módosítva ezen molekulák működését [218]. Ezen fejlett lipoxidációs végtermékek számos ponton befolyásolhatják a CVD kialakulásban jelentős tényezőket.



27. ábra

A lipidperoxidáció lépései

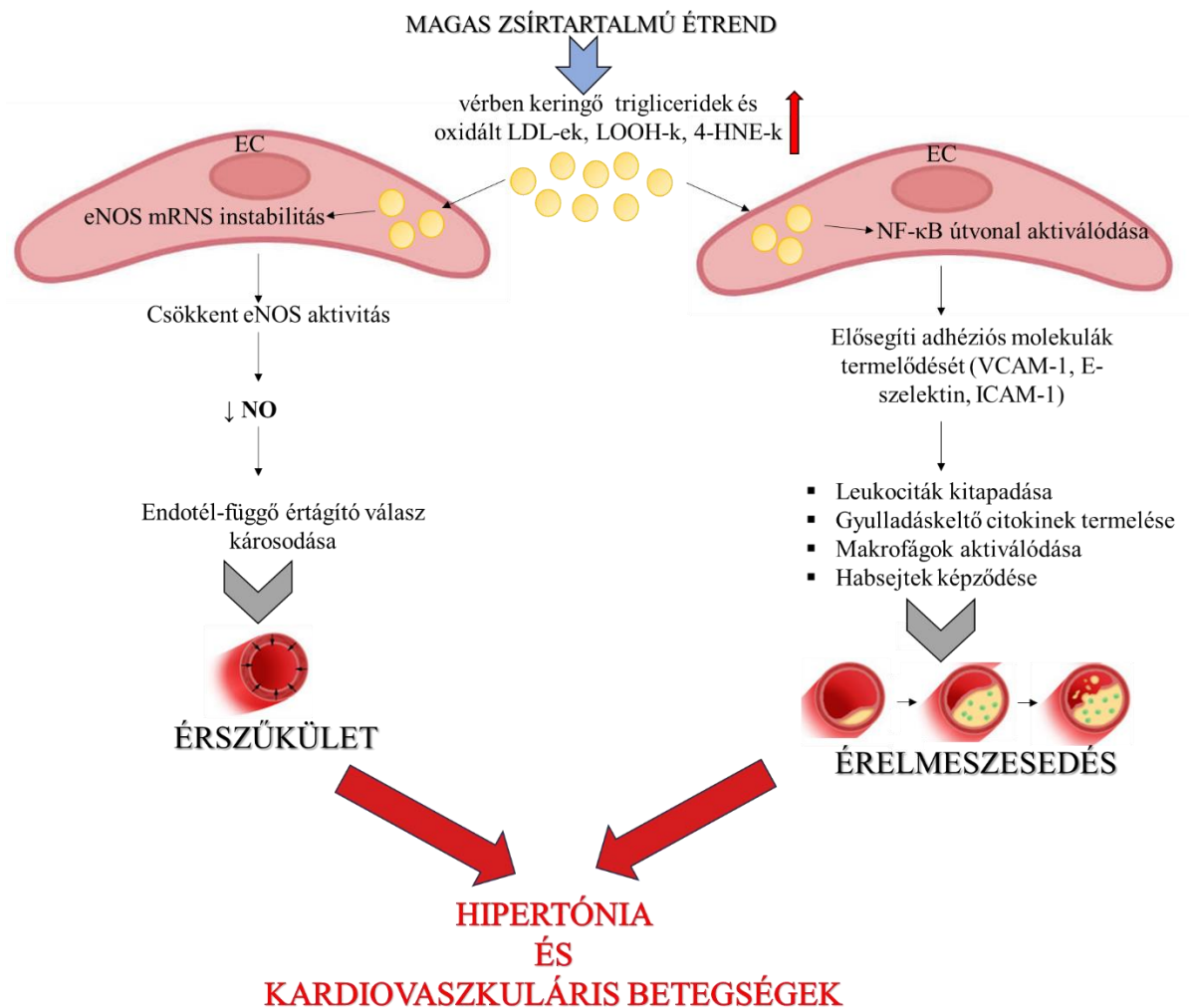
(4-HNE: 4-hidroxy-2-nonanal, α -TO·: α -tokoferoxil gyök, α -TOH: E-vitamin, GPx-1: glutation-peroxidáz-1, GPx-4: glutation peroxidáz-4, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, HO·: hidroxil gyök, L·: lipidgyök, LO·: alkilgyök, LOO·: lipidperoxil gyök, L-OH: lipid alkohol, LOOH: lipidhidroperoxid, MDA malondialdehid, O₂: oxigén, PUFA: többszörösen telítetlen zsírsav))

(Long és mtsi. nyomán [217])

A DNS adduktokról kimutatták, hogy gátolják az angiogenezist és jelen vannak a atherosclerotikus plakkokban [219]. A foszfolipidek közül a mitokondrium membránjában található kardiolipin módosítása miatt csökken a kardiolipin szintje, amely csökkenés számos kórfolyamatban megfigyelhető: öregedés, cukorbetegség, szívelégtelenség, I/R sérülésben [220]. A diszlipidémia egy gyakori kórkép a cukorbetegéknél, amelyben megfigyelhető a plazma magas lipoprotein szintje, ami pedig hozzájárul a lipidperoxidációhoz, és annak káros termékeinek előállításához [221]. A lipid peroxidációs végtermékek képesek a zsírszövetben található zsírfehérjéket is módosítani, így pl.: a MAPK útvonalat gátolni, aminek döntő szerepe lehet az elhízással összefüggő metabolikus szindróma és az azzal együtt járó CVD progressziójában [222].

A zsírdúsítrend hozzájárul az érlemezésedés és a CVD-k kialakulásához. A vérben keringő FFA-k és lipidperoxidációs termékek számos úton befolyásolhatják a szívszövetet és az érrendszert. A zsírban gazdag étrend hiperglikémiát okoz, mely bizonyítottan szabad gyökök generálásával jár együtt, ami pedig a lipidperoxidációt serkenti. Sprague-Dawley patkányokban kimutatták, hogy a magas zsírtartalmú étrend magasabb MDA szintet okoz májban, szérumban, vesében és aortában [223]. Munkánk során zsírdús étrend hatására mi is szignifikánsan magasabb lipidperoxidációs értékeket mértünk. Ezt az emelkedett értéket szignifikánsan

csökkenteni lehetett a rendszeres fizikai aktivitással. További munkákban kimutatták, hogy a malondialdehyd-lizin (MDA-Lys), mint Schiff-bázis addukt elősegíti az NF- κ B függő gének expresszióját: MCP-1, IL-8, iNOS, stb., ezzel fokozott monocita aktivációt eredményezve [224]. A magas zsírtartalmú étrend hatásait a magas vérnyomás kialakulására és CVD-re a **28. ábra** foglalja össze.



28. ábra

A magas zsírtartalmú étrend hatása a vérnyomás kialakulására és a CVD-re (4-HNE: 4-hidroxy-2-nonenal, EC: endothel sejt, eNOS: endoteliális nitrogénmonoxid-szintáz, ICAM-1: intracelluláris adhéziós molekula 1, LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein, LOOH: lipidhidroperoxid, mRNS: hírvivő ribonukleinsav, NF- κ B: aktivált B-sejtek nukleáris faktor kappa-könnyűlánc-fokozója, NO: nitrogén-monoxid, VCAM-1: vaszkuláris sejt adhéziós fehérje 1) (Jaffe és mtsi. nyomán [225])

A lipidek, főként az érzékenyebb lipoproteinek a különböző módosulások (oxidáció, acetiláció és aggregáció) következtében endothel károsodást váltanak ki [226]. Az oxidált LDL (oxLDL) nagy affinitással kötődni a lektinszerű oxidált kis sűrűségű lipoprotein receptor 1-hez (LOX-1) [227, 228]. Ennek hatására megindul az EC-k apoptózisa, indukálódik a vaszkuláris simaizom

sejtekben (VSMC) a MMP-k termelődése, illetve csökken az eNOS aktivitás és aktiválódik az NF- κ B út vonal. Az EC-kben felhalmozódó oxLDL az eNOS hírvivő ribonukleinsav (mRNS) instabilitását okozza, így nem történik meg az eNOS fehérje átíródása, csökken az EC-ben az eNOS aktivitás, ezáltal kevesebb NO termelődik, és károsodik az endothel-függő értágító válasz, amely folyamatos ér kontrakciót vált ki, ami érszűkülethez és végső soron magas vérnyomáshoz vezet [229]. Az oxLDL elősegíti a gyulladásos citokinek (TNF- α , interleukin-1 β (IL-1 β)) termelését és a gyulladásos sejtek adhézióját és a monociták makrofágokká történő differenciációját [230]. Az aktivált endothelium által kifejezett fő adhéziós molekulák: a vaszkuláris sejt adhéziós fehérje 1 (VCAM-1), E-szelektin, és az intercelluláris adhéziós molekula-1 (ICAM-1), elősegítve a leukociták és monociták adhézióját és migrációját. Az aktivált EC-ek fokozzák MCP-1 és a transzformáló növekedési faktor β 1 (TGF β 1) expresszióját [226]. Egyes tanulmányok összefüggésbe hozták a MCP-1-t - amely kemokin monocitákat toboroz a gyulladásos göcökben - CVD-vel [231, 232]. Kimutatták, hogy MCP-1 hiányos egerekben csökkent a lipidlerakódás, illetve kevesebb monocita migrált az artériás érfalba [233]. Gyulladáscsökkentő, immunmoduláló hatása miatt a TGF- β feltételezések szerint védő citokin a vérben az atherosclerosis ellen [234]. A VSMC-kben a TGF β 1 az „anyák a dekapentaplegiás homológ ellen” 3 (SMAD3) útvonalon keresztül elnyomja a gyulladásos markereket, pl.: iNOS-t és IL-6-t [235]. Grainger és mtsi. tanulmányukban azt találták, hogy azoknál a betegeknél, akiknél magas a TGF- β 1 plazmaszintje, nem alakul ki atherosclerotikus kardiovaszkuláris betegség [236]. A makrofágokká differenciálódott monociták MMP-eket, főként MMP-9-t választanak ki, hogy elbontsák az elasztint és a fibrint, így hozzájárulva a plakk destabilizációjához [237]. A makrofágok képesek a koleszterineket képesek felvenni, mely folyamat során habsejtek képződnek, ezek az atherosclerotikus plakkok prototípusos sejtjei [238]. A fenntartott gyulladásos állapot VSMC-k migrációját és proliferációját idézi elő, amelyek a gyulladásos területeken felhalmozódnak, így egyre növekvő plakkot létrehozva [239]. Ezen folyamatok összességében az érlemezés és hipertónia kialakulásával járnak, amelyek pedig a CVD-k incidenciáját vetítik előre. Az elhízással összefüggő magasvérnyomásos betegségek és CVD-k gyakorisága rohamosan nő [147]. Az elhízás során a megnövekedett vizcerális zsírszövetből nagy mennyiségű angiotenzin II és aldosteron szabadul fel, ami aktiválja a renin-angiotenzin rendszert, ami pedig fokozza az OS-t és a gyulladást. Az angiotenzin II érszűkítő hatású, és fokozza a vízvisszaszívást a vesében. Az aldosteron pedig fokozza a nátrium és víz visszaszívást a vérbe, ami a vérnyomás emelkedésével jár együtt.

A tartósan magas vérnyomás hatására a szív LV-jának excentrikus hipertrofiája következik be [148]. A szív LV hipertrófiájával együtt járó szívizom működés csökkenése végül a szívelégtelenség manifesztációjában nyilvánul meg [149].

Bár számos tanulmány vizsgálta már a magas zsírtartalmú étrend és fizikai aktivitás hatását a különböző metabolikus betegségekben, ezek többsége cukorbeteg vagy elhízott állatmodelleken történt [240-242]. Mindezek mellett továbbra is maradnak nyitott kérdések ezzel a témával kapcsolatban, így jelen kutatásunkban egy olyan genetikailag módosított patkánymodellt választottunk, amelyek esetében egy komplex vaszkuláris kórkép áll fenn, érintve mind a kardiovaszkuláris, mind a cerebrovaszkuláris rendszert. A SHRSP törzs a súlyos magas vérnyomás és sztrók genetikai modellje. A spontán hipertóniás patkány (SHR) modell fejlesztésével hozták létre, magas sztrók hajlammal (80 %) és magasvérnyomás betegséggel (220-240 Hgmm) [243]. Így a SHRSP egy jó modell lehet a sztrók, magasvérnyomás okozta CVD különböző aspektusainak vizsgálatára.

Cao és mtsi. bár nem vizsgálták az adipokinek profilját részletesen, de leírták, hogy egy ~4 hónapos magas zsírtartalmú étrend a gyulladáscsökkentő citokinek plazmaszintjének jelentős növekedését eredményezte, míg az adiponektin szintje csökkent a kezeletlen SHR patkányokhoz képest [244]. Ezekkel az eredményekkel összhangban, mi is azt tapasztaltuk, hogy a SHRSP patkányok mind a szérumban, mind pedig a zsírszövetének adiponektin szintje szignifikánsan alacsonyabb a WKY patkányokhoz képest. Ez az érték a magas zsírtartalmú étrend hatására még tovább csökkent szignifikánsan. A rendszeres fizikai aktivitás a SHRSP állatok adiponektin szintjét szignifikánsan fokozta az állatok zsírszövetében. A rendszeres fizikai aktivitás továbbá szignifikánsan javította a zsírdús étrend adiponektin szint csökkentő hatását mind zsírszövetben és a szérumban. Az adiponektin egy WAT által termelt, jótékony hatású – gyulladáscsökkentő, antiatherogén és kardioprotektív – adipokin, mely koncentrációja megfigyelések alapján csökken a CVD-ben [45, 46]. Az adiponektin számos izoformában előforduló fehérje, [245] amely három receptoron keresztül közvetíti hatását: az adiponektin receptor 1-n (AdipoR1), az adiponektin receptor 2 (AdipoR2), és T-cadherin [246, 247]. Szexuális dimorfizmus jellemző az expressziójára, férfiakban alacsonyabb szintet detektáltak, mint nőkben [248]. Anti-atherogén hatása révén elősegíti az angiogenezist és elnyomja a monociták adhézióját a vaszkuláris endotheliumhoz azáltal, hogy gátolja az adhéziós molekulák, például a VCAM-1, ICAM-1 és E-szelektin expresszióját az NF- κ B aktiváció gátlásán keresztül [249, 250]. Makrofágokban gátolja a TNF- α és az IL-6, mint proinflammatorikus citokinek termelését és szekrécióját, így csökkentve a monocita adhéziós

molekulák szintézisét az EC-kben, valamint gátolja a makrofágok habsejteké alakulását, továbbá megváltoztatja a makrofágok fenotípusát M1-ről M2-re, így gyulladáscsökkentő és érvédő hatást kifejtve [251-253]. Megfigyelték, hogy az adiponektin képes IL-10 termelést indukálni makrofágokban, ezzel elősegítve a TIMP-ek termelését, ami viszont legátolja az MMP-kat és gátolja a trombózis kialakulását [254]. A PI3K és 5'-adenozin-monofoszfát által aktivált protein kináz (AMPK) útvonalon keresztül szabályozza az eNOS aktivációt, így a felszabaduló NO mennyiségét [255]. Az adiponektin szintje pozitívan korrelál a plazma HDL szinttel és negatívan a trigliceridek szintjével [256]. Hipoadiponektinémias betegekben nagyobb valószínűségben alakul ki a metabolikus szindróma [257]. Magas vérnyomásos betegekben azt tapasztalták, hogy az adiponektin szintjük alacsonyabb, mint a normotenziós csoportokban. Az alacsony szérumszintű adiponektin az atherosclerosis és a szívinfarktus prognózisa lehet [258]. Ezzel az eredménnyel korrelálva mi is azt tapasztaltuk, hogy a normotenziós állatokhoz képest a SHRSP patkányok szérumszintű, illetve zsírszöveti adiponektin szintjei csökkennek, ezt viszont a zsírdús diéta tovább rontotta. Kadowaki és mtsi. a magas zsírtartalmú étrend hatását vizsgálták, melynek hatására azt tapasztalták, hogy ezen egerek adiponektin szintje csökken, mint a mi kísérletünkben is [259]. Állatkísérletek azt sugallják, hogy az adiponektin hiány összefüggésben áll a szívelégtelenséggel, szívhipertrófiával [125, 260].

A közelmúltban számos kutatás felhívta a figyelmet, hogy az adiponektin és a leptin szinteket együtt kell vizsgálni, vagyis az adiponektin/leptin arány növelése a cél. Az elégtelen adiponektin és leptin jelátvitel szív- és érrendszeri diszfunkcióhoz vezet [261]. A leptin egy zsírszövet által termelt 16 kDa-os, nem glikolizált peptid, melyet emberben a LEP, egérben a Lep gén kódolja [262]. Szintje pozitívan korrelál a fehér zsírszövet (WAT) tömegével és az inzulinszinttel [263, 264]. Elsődleges funkciója a jóllakottság érzésének kialakítása, a táplálékfelvétel csökkentése és az energiafogyasztás növelése [265]. A leptin étvágycsökkentő hatását a leptin receptor b-hez (LRb) való kötődése és a Janus-kináz 2 / jelátalakító és transzkripció aktivátor 3 (JAK2/STAT3) jelátviteli út aktiválásán keresztül valósul meg a hipotalamuszban [266]. Elhízás hatására ez az útvonal blokkolva van citokin jelátvitel szuppresszora 3 (SOCS3) révén, - mely folyamat során a SOCS3 aktiválódása gátolja a STAT3 foszforilációját, így a leptin jelátvitelt -, emiatt leptin rezisztencia alakul ki a [267, 268]. A leptin ezenkívül az AMPK és a PI3K/Akt, illetve MAPK jelátviteli útvonalon keresztül is kifejti hatását [269-271]. Befolyásolja a lipid metabolizmust, mivel csökkenti a triglicerid, növeli a HDL szintet [272]. Fokozza az α -melanocita-stimuláló hormon (α -MSH) szintézisét, amely

elnyomja az éhséget [273]. Expresszióját számos faktor befolyásolja: táplálékfelvétel, hormonok, gyulladásos mediátorok, illetve a nemi hormonok. Megfigyelték, hogy a tesztoszteron gátolja a leptin expresszióját, míg a női nemi hormonok serkentik [274]. A leptin befolyásolja a glükózmétabolizmust, kimutatták, hogy leptin hiányos egerekben hiperglikémia és inzulinrezisztencia alakul ki [275]. Ozata és mtsi. kísérletének eredményeként kiderült, hogy a leptin befolyásolja a plazma glükokortikoid szintjét, leptin hiányos egerekben emelkedett adrenokortikotropin (ACTH) és kortizol szintet mértek [276]. A leptin számos immunsejtre hat, elősegítve a gyulladásos citokinek termelődését [98]. A leptin korrelál a gyulladásos markerekkel, mint pl.: a CRP szintjével [277]. Eredményeink korrelálnak Grunfeld és mtsi. eredményeivel, miszerint a gyulladásos ingerek (a mi esetünkben a magas zsírtartalmú étrend) növelik a leptin szintet a zsírszövetben és a szérumban [278]. Fontos pro-atherogén hatásokkal rendelkezik, hiszen indukálja a mitokondriális szuperoxid-termelést és az MCP-1 expresszióját, mellyel beindítja a leukociták és makrofágok toborzását az endothel sejtekbe [279]. Stimulálja a VSMC-k hipertrófiáját és proliferációját, valamint a MMP-2 termelését, végül endothel diszfunkciót hoz létre [280]. Az érgyulladásban is részt vesz, hiszen fokozza az EC-kből a TNF- α , interleukin-2 (IL-2), IL-6, MCP-1 felszabadulást. Számos tanulmány összefüggésbe hozza a leptin szintet a CVD-vel. Fujimaki és mtsi. kimutatták, hogy MI-t követően megemelkedett a szérum leptin szintje [281]. Schulze és mtsi. hasonlóképpen magas szérum leptin szintet mértek kísérleteikben szívelégtelenség hatására [282]. Leptin hiányos egerekben nagyobb szív hipertrófiát mértek Barouch és mtsi. [283]. Pozitív hatásként Smith és mtsi. azt találták, hogy a leptin csökkenti az infarktus méretét egy patkánymodellben [284]. Egy másik tanulmányban a leptin kardioprotektív hatása abban nyilvánult meg, hogy megvédi a szívizomsejteket a hipoxia okozta károsodástól [285]. Zhang és mtsi. vizsgálták az életmód hatását, nevezetesen a magas zsírtartalmú diéta hatását az adipokinek szintjére, és a mi eredményeinkkel korrelálva hasonlóan magasabb szérum leptin szintet mértek a kontroll csoporthoz képest [286]. Eredményeink alapján viszont a fizikai aktivitás kismértékben csökkentette a leptin szintet SHRSP állatokban, de ez a hatás nem volt szignifikáns.

Feltételezhető, hogy a leptin és az omentin között a zsírosodás hatásain kívül szabályozó kapcsolat van. A legújabb tanulmányok kimutatták, hogy az omentin-1 szintje negatívan korrelál a BMI-vel, a leptinnel, az éhgyomri inzulinnal [256]. Az omentin egy oldható galaktofuranóz-kötő lektin, amely főként a zsigeri zsír által termelt adipokin [287]. Két omentin izoformát azonosítottak, az omentin-1 és omentin-2-t, a fő plazmában keringő izoforma az 1-es [288]. Az omentint nem a zsírsejtek választják ki, hanem a sztróma vaszkuláris sejtjei. Az

omentin specifikus receptorát azonban eddig nem azonosították [289]. A keringő omentin szintjéről azt írták le, hogy negatívan korrelál a testtömeg indexel az elhízás hatására állatmodellekben, ahogyan az adiponektin szintje is [49]. A fenti eredményeknek megfelelő adatokat kaptunk kísérleteinkben. A zsírdús diéta szignifikánsan csökkentette az omentin szintjét. Nemi differenciációt mutat a szintje: magasabb plazma omentin-1 szintet észleltek a nőknél, mint a férfiaknál [290]. Az adiponektin és omentin szintje is hasonlóan változik elhízás hatására, és mindkettő jótékony hatás fejt ki az elhízás negatív hatásai ellen, feltételezések szerint az omentin szintjét szabályozhatja az adiponektin [291]. Hasonló pozitív változásokat detektáltunk mi is, amikor a fizikai aktivitás hatására szignifikáns omentin szint-emelkedést tapasztaltunk az állatok szérumban. Herder és mtsi. pozitív összefüggést találtunk az omentin szint és a HDL-koleszterin között, fordított összefüggést a trigliceridszinttel, és nincs összefüggés az LDL-koleszterinnel [292]. Növeli az inzulin által kiváltott glükózfelvételt, így részt vesz az inzulinérzékenység szabályozásában [256]. Yang és mtsi. kimutatták, hogy az omentin fokozza az inzulin hatását in vitro azáltal, hogy serkenti az inzulin által közvetített glükózfelvételt adipocitákban [293]. Az omentin gyulladásgátló szerepét bizonyították, mivel gátolja a TNF- α által indukált ciklooxygenáz-2 expresszióját az endothel sejtekben [294]. Egy sejtvizsgálatok kimutatta, hogy az omentin-1 gátolja az oxLDL által kiváltott apoptózist és a gyulladós citokinek expresszióját a makrofágokban [295]. Az omentin szelektíven aktiválja a Akt-t, ami gátolja az alkalikus foszfatáz és az oszteokalcin mRNS expresszióját, így az artériás VSMC-k differenciációja oszteoblasztokká gátódik, ami csökkenti artériás vaszkuláris meszesedés kialakulását [296]. Greulich és mtsi. leírták, hogy az omentin kardioprotektív hatást fejt ki a NO termelés stimulálásán keresztül, amely pedig értágító hatással rendelkezik a vérerekben [297]. Cukorbeteg Goto-Kazaki patkányokon végzett kísérletből kiderül, hogy az omentin-1 kezelés csökkentette az OS folyamatokat, illetve javult a NO biohasznosulása [298]. A plazma omentin szintje csökken a koszorúér betegségben szenvedő, a MI-ban szenvedő betegekben [299, 300]. Az omentin által kiváltott AMPK foszforiláció csökkentheti a patkány szarkóma vírus/extracelluláris szignál által szabályozott kinázok (RAS/ERK) jelátviteli kaszkádot, ami végső soron a szívhipertrofia és a simaizomsejt proliferáció csökkenésével jár [301, 302]. A szérumban omentin szintje szignifikánsan csökkent olyan 2-es típusú cukorbetegségben, akiknél iszkémiás szívbetegség alakult ki [303]. Makiel és mtsi. kísérleteiben azt tapasztalták, hogy az omentin szintje növekvő tendenciát mutatott a fizikailag aktív csoportokban, amely eredményekkel a mi értékeink is pozitív korrelációt mutatnak, hiszen mi is azt tapasztaltuk, hogy mind a SHRSP/CTRL, mind pedig a HFD/CTRL csoportokhoz képest a futó állatok szérumban és zsírszöveti omentin szintje emelkedést mutatott [304]. Szydlo és mtsi.

azt találták, hogy cukorbetegségben szenvedőknél a szérumban omentin szintje csökken. A metabolikus szindróma kialakulásában szerepet játszó cukorbetegség mellett fontos tényező az elhízás, amely magas zsírtartalmú étrenddel jár együtt, ami a mi esetünkben az omentin szintek csökkenésével járt.

A cukorbetegség egy fontos összetevője a metabolikus szindrómának, amely végül a CVD-ben manifesztálódik [305]. Szydlo és mtsi. kísérletei arra világítanak rá, hogy az omentin és a chemerin egyaránt fokozza a szervezet inzulinérzékenységét, ami fokozott glükózfelvételt eredményez. Cukorbetegségben azonban az omentin szérumban koncentrációja csökken, míg a chemerin koncentrációja nő [306]. A chemerin egy 18 kDa méretű fehérje, amit a hepatociták és adipociták termelnek, számos biológiai folyamatot szabályoz: adipogenezist, a glükóz homeosztázist, a gyulladást, az angiogenezist, a miogenezist és az immunsejtek migrációját [307]. A chemerin receptora a kemokin-szerű receptor 1 (CMKLR1), amely számos sejtből mutat expressziót: makrofágok, kardiomiociták, adipociták, EC-k [308]. A chemerin adipokinként, kemoattraktánsként és növekedési faktorként is működhet. Adipokinként a chemerin modulálja a glükóz- és lipid szinteket, így befolyásolja a lipidlerakódást az endotheliumban és az atherosclerosis progresszióját [309]. A chemerin szintje pozitívan korrelál a testtömeg-indexszel, a vérnyomással, a szérumban LDL-koleszterinnel és a trigliceridekkel, és negatívan a szérumban HDL-koleszterinszinttel [310]. Yoo és mtsi. tanulmányukban leírták, hogy a szérumban chemerin szintje szignifikánsan megemelkedett elhízott egyéneknél a sovány kontrollokhoz képest, illetve a plazma chemerin szint szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a testtömeg-indexszel, a derékkörfogattal, a HOMA-IR-rel, valamint az alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin-, triglicerid- és nagy érzékenységű C-reaktív protein (hsCRP) -szintekkel [311]. Kemoattraktánsként gyulladásgömbösködéses immunsejtek toborzását segíti elő, majd elősegíti az endothel angiogenezist [308]. Mattu és mtsi. megállapították, hogy a chemerin aktiválja a PI3K/Akt és MAPK útvonalakat – a fő angiogén és sejttúlélési kaskádokat [126]. A chemerin hozzájárulhat az endothel diszfunkcióhoz, mert csökkenti az eNOS aktivitását, és így a NO szintjét [312]. A chemerinről kimutatták, hogy fokozza a különböző endotheliális gyulladásgömbösködéses faktorok, például az IL-6, a TNF- α és a CRP expresszióját, ami az érfa-gyulladást növelheti. Gu és mtsi. eredményei feltárják, hogy a plazma chemerin szintje szignifikánsan megemelkedett a hipertóniás csoportban a normotenzív csoporthoz képest [313]. A magas zsírtartalmú étrend, amely pl.: elhízáshoz vezet kísérleti állatokban, általában felfelé szabályozza a chemerint a vérben, a zsírszövetben [314]. Kísérleteinkben az SHRSP állatok szérumban a zsírdús étrend szignifikánsan emelte a chemerin szintet. Ez az értéket a

rendszeres fizikai aktivitás csökkentette. Eredményeinkkel korrelálva Kim és mtsi. vizsgálataikban azt tapasztalták, hogy egy intenzív életmód-beavatkozás, ami étrendi változtatásokból és rezisztencia edzésprogramokból áll, csökkenti a chemerint az elhízott alanyokban [315]. Feng és mtsi. csökkent omentin plazmakoncentrációról számolt be zsírdús étrendet követő csoportokban a kontrollhoz képest, amely tény alátámasztja a mi eredményeinket is [316].

Összefoglalva elmondható, a SERM-ek használata potenciális terápiás lehetőségnek bizonyult az életkorral összefüggésben kialakuló oxidatív stressz mérséklésére és a szív remodellingre. Közelebb jutottunk az öregedéssel együtt járó oxidáns/antioxidáns egyensúly felborulásában szerepet játszó folyamatok megismeréséhez. A HO aktivitás és a GSH tartalom növekedése, valamint a fibrotikus folyamatok javulása csökkenti az I/R által kiváltott szívinfarktus méretét. Ebben az értelemben azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a 2 hétig tartó, alacsony dózisu ösztrogén vagy raloxifen helyettesítő terápia hatékony megközelítésnek tűnik a sikeres szív- és érrendszeri öregedés lassításának elősegítésére.

Az öregedés során fokozottabban alakul ki a mozgáshiány, s így az elhízás esélye is fokozódik. Általánosan elfogadott tény és számos kutatási eredmény alátámasztja, hogy a magas zsírtartalmú étrend és a mozgáshiány számos szív- és érrendszeri betegségben ok-okozati összefüggést mutat. Eredményeink is alátámasztják az irodalmi adatokat, valamint az energiadús táplálékbevitel hozzájárul a zsírsejtekből származó adipokin mintázat kóros változásaihoz. A szabadidős testmozgás egy lehetséges nem-gyógyszeres terápiás stratégia lehet az adipokinprofil javítására és a lipid peroxidáció csökkentésére.

Mindezek alapján az alábbi következtetések vonhatók le:

Doktori disszertációmban a hormonpótló terápia és az életmód közvetítette kardiovaszkuláris rendszerre és metabolikus folyamatokra kifejtett speciális változásokra a következő eredményeket kaptam.

1. Első kísérletsorozatunkban célul tűztük ki, hogy feltérképezzük a hormonpótló terápia (E₂ és RAL) és a szívben lejátszódó oxidatív/gyulladásos folyamatok közötti összefüggést idős (~20 hónapos) nőstény patkányokban.

Tisztázni kívántuk, hogy:

- Milyen különbségek mutatkoznak idős nőstény patkányok szívében megjelenő antioxidáns paraméterekben az E₂ és a RAL kezelés következtében?
 - ✓ Öregedés hatására szignifikánsan csökkent a szívizom HO enzimek aktivitása, GSH+GSSG koncentrációja.
 - ✓ Kéthetes E₂ és RAL kezelés egyaránt szignifikáns HO aktivitás és GSH+GSSG emelkedést eredményezett.

- Tisztázni kívántuk, hogy a hormonpótló terápia miképpen hat a kardiovaszkuláris remodelling folyamataira? Kérdéseink megválaszolására szív szövetből meghatároztuk a mátrix metalloproteáz-2 (MMP-2), a metalloproteáz-2 inhibitor fehérje (TIMP-2), továbbá az 1-es típusú kollagén koncentrációját szív szövetből.
 - ✓ Öregedés hatására szignifikánsan csökkent a szívizom MMP-2 enzimek aktivitása és a TIMP-2 kettő koncentrációja, valamint szignifikánsan emelkedett a szív I-s típusú kollagén koncentrációja.
 - ✓ Kéthetes E₂ és RAL kezelés egyaránt szignifikáns MMP-2 enzim aktivitás és TIMP-2 koncentráció emelkedést, valamint szignifikánsan csökkent szív 1-es típusú kollagén tartalmat eredményezett.

- A hormonpótló terápia miképpen változtatja meg az iszkémia/reperfúziós sérülés nagyságát idős nőstény patkányok szívében?
 - ✓ Öregedés hatására szignifikánsan emelkedett a szívinfarktusos területek aránya.
 - ✓ Kéthetes E₂ és RAL kezelés egyaránt szignifikánsan csökkentette a szívinfarktusos területek arányát.

2. Második kísérletsorozatunkban az életmód (szabadidős testmozgás és zsírdús étrend) hatásait vizsgáltuk normotóniás Wistar-Kyoto (WKY), valamint spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos (SHRSP) állatokban, amely egy komplex vaszkuláris kórképpel (magasvérnyomás betegség és stroke) rendelkező genetikailag módosított patkánymodell.

Tisztázni kívántuk, hogy:

- Milyen különbségek mutatkoznak a normotóniás WKY, valamint a magasvérnyomással bíró SHRSP állatok adipokin mintázatában, valamint a lipidperoxidációt jelző malondialdehid szintjében?
 - ✓ Az SHRSP állatok adiponektin szérumszintje szignifikánsan csökkent mértékű a WKY állatokhoz képest.
 - ✓ A zsírdús diéta szignifikánsan csökkenti az SHRSP állatok szérumszintjét és a zsírszövet adiponektin, omentin szintjét.
 - ✓ A zsírdús diéta szignifikánsan emelte az SHRSP állatok szérumszintjét.
 - ✓ Az SHRSP állatok zsírszövetéből mért chemerin szintjében sem az étrend, sem a szabadidős testmozgás nem okozott szignifikáns változást a WKY/CTRL csoporthoz viszonyítva
 - ✓ A fizikai aktivitás szignifikánsan emeli a zsírszövet adiponektin, omentin szintjét SHRSP állatokban.
 - ✓ A fizikai aktivitás szignifikánsan emelte a magas zsírtartalmú diétán tartott SHRSP állatok adiponektin szintjét mind a zsírszövetben, mind pedig a szérumban.

- A 12 hetes életmódbeli változtatás miképpen változtatja meg a szérumból és a zsírszövetből mérhető adipokin mintázatot, valamint a lipidperoxidációt jelző malondialdehid szintet olyan kardiovaszkuláris kórképben, mint a magasvérnyomás-betegség?
 - ✓ A zsírdús étrend szignifikánsan megemelte az MDA szintet az SHRSP/HFD csoportokban az SHRSP/CTRL csoportokhoz képest.
 - ✓ A fizikai aktivitás képes volt csökkenteni a lipidperoxidáció mértékét mind a standard tápon, mind pedig a 40 % zsírdús étrenden tartott csoportokban.

9 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Varga Csaba ügyvezetőnek és egyben témavezetőmnek, hogy a PhD előtti éveimtől kezdve támogatott és biztosította számomra a munka és kutatás feltételeit a HR-Pharma Kft. telephelyein. Köszönettel tartozom továbbá bölcs tanácsaiért és gondolatébresztő meglátásaiért, melyekre mindig számíthattam kutatómunkám során.

Köszönöm Dr. Pósa Anikó egyetemi docensnek, hogy észrevételeivel hozzájárult a doktori munkám elkészítéséhez.

Mérhetetlen hálával tartozom Dr. Szabó Renáta egyetemi adjunktusnak, mint névlegesen harmadik témavezetőmnek nemcsak szakmai útmutatásáért, hanem őszinte barátságáért, támogatásáért és biztató szavaiért.

Köszönettel tartozom egykori és jelenlegi munkatársaimnak, Dr. Almási Nikolettának, Dr. Hegyköziné Dr. Veszélka Médeának, Dr. Matvon Denisenek, Dr. Török Szilviának, Magyarai Ferencnek és Magyariné Dr. Berkó Anikónak a kísérletekben nyújtott segítségükért és hasznos tanácsaikért.

Köszönöm továbbá Juhász Katalinnak és Veketyné Váradi Margitnak a sok adminisztrációs segítséget.

Nem fejezhetem ki eléggé hálámat Férjemnek, Gyermekemnek, Családomnak és Barátaimnak a határtalan támogatásukért és szeretetükért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm az SZTE, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék valamennyi munkatársának a barátságos légkört, valamint a HR-Pharma Kft. összes munkatársának a segítségét, támogatást és kitartást.

10 IRODALOMJEGYZÉK

1. Noto, S., *Perspectives on Aging and Quality of Life*. Healthcare (Basel), 2023. **11**(15).
2. https://www.ksh.hu/stadat_files/nep/hu/nep0010.html.
3. Leyane, T.S., S.W. Jere, and N.N. Houreld, *Oxidative Stress in Ageing and Chronic Degenerative Pathologies: Molecular Mechanisms Involved in Counteracting Oxidative Stress and Chronic Inflammation*. Int J Mol Sci, 2022. **23**(13).
4. Jin, K., *Modern Biological Theories of Aging*. Aging Dis, 2010. **1**(2): p. 72-74.
5. Lopez-Otin, C., et al., *Hallmarks of aging: An expanding universe*. Cell, 2023. **186**(2): p. 243-278.
6. Conti, V., et al., *Antioxidant Supplementation in the Treatment of Aging-Associated Diseases*. Front Pharmacol, 2016. **7**: p. 24.
7. Sies, H., *Strategies of antioxidant defense*. Eur J Biochem, 1993. **215**(2): p. 213-9.
8. Wang, G., et al., *Cardioprotective and antiapoptotic effects of heme oxygenase-1 in the failing heart*. Circulation, 2010. **121**(17): p. 1912-25.
9. Dringen, R., *Metabolism and functions of glutathione in brain*. Prog Neurobiol, 2000. **62**(6): p. 649-71.
10. Watanabe, Y., et al., *Chronic depletion of glutathione exacerbates ventricular remodelling and dysfunction in the pressure-overloaded heart*. Cardiovasc Res, 2013. **97**(2): p. 282-92.
11. Clayton, Z.S., et al., *Promoting healthy cardiovascular aging: emerging topics*. J Cardiovasc Aging, 2022. **2**.
12. Flanagan, E.W., et al., *Calorie Restriction and Aging in Humans*. Annu Rev Nutr, 2020. **40**: p. 105-133.
13. Rossman, M.J., et al., *Inorganic Nitrite Supplementation Improves Endothelial Function With Aging: Translational Evidence for Suppression of Mitochondria-Derived Oxidative Stress*. Hypertension, 2021. **77**(4): p. 1212-1222.
14. Palmer, A.K. and M.D. Jensen, *Metabolic changes in aging humans: current evidence and therapeutic strategies*. J Clin Invest, 2022. **132**(16).
15. Grevendonk, L., et al., *Impact of aging and exercise on skeletal muscle mitochondrial capacity, energy metabolism, and physical function*. Nat Commun, 2021. **12**(1): p. 4773.
16. Willcox, B.J., et al., *Caloric restriction, the traditional Okinawan diet, and healthy aging: the diet of the world's longest-lived people and its potential impact on morbidity and life span*. Ann N Y Acad Sci, 2007. **1114**: p. 434-55.
17. Fohr, T., et al., *Metabolic syndrome and epigenetic aging: a twin study*. Int J Obes (Lond), 2024. **48**(6): p. 778-787.
18. Grundy, S.M., *Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(6): p. 2595-600.
19. Richard, A.J., et al., *Adipose Tissue: Physiology to Metabolic Dysfunction*, in *Endotext*, K.R. Feingold, et al., Editors. 2000: South Dartmouth (MA).
20. Crewe, C., Y.A. An, and P.E. Scherer, *The ominous triad of adipose tissue dysfunction: inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis*. J Clin Invest, 2017. **127**(1): p. 74-82.
21. Wurfel, M., et al., *Interplay between adipose tissue secreted proteins, eating behavior and obesity*. Eur J Nutr, 2022. **61**(2): p. 885-899.
22. Dubois-Deruy, E., et al., *Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases*. Antioxidants (Basel), 2020. **9**(9).
23. Poprac, P., et al., *Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases*. Trends Pharmacol Sci, 2017. **38**(7): p. 592-607.

24. D'Oria, R., et al., *The Role of Oxidative Stress in Cardiac Disease: From Physiological Response to Injury Factor*. *Oxid Med Cell Longev*, 2020. **2020**: p. 5732956.
25. Park, T.J., et al., *Quantitative proteomic analyses reveal that GPX4 downregulation during myocardial infarction contributes to ferroptosis in cardiomyocytes*. *Cell Death Dis*, 2019. **10**(11): p. 835.
26. Ide, T., et al., *Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction*. *Circ Res*, 2001. **88**(5): p. 529-35.
27. Cappola, T.P., et al., *Allopurinol improves myocardial efficiency in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy*. *Circulation*, 2001. **104**(20): p. 2407-11.
28. Seddon, M., A.M. Shah, and B. Casadei, *Cardiomyocytes as effectors of nitric oxide signalling*. *Cardiovasc Res*, 2007. **75**(2): p. 315-26.
29. Nishino, T., et al., *Mammalian xanthine oxidoreductase - mechanism of transition from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase*. *FEBS J*, 2008. **275**(13): p. 3278-89.
30. Nishino, T., et al., *Mechanism of the conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase: identification of the two cysteine disulfide bonds and crystal structure of a non-convertible rat liver xanthine dehydrogenase mutant*. *J Biol Chem*, 2005. **280**(26): p. 24888-94.
31. Takimoto, E., et al., *Oxidant stress from nitric oxide synthase-3 uncoupling stimulates cardiac pathologic remodeling from chronic pressure load*. *J Clin Invest*, 2005. **115**(5): p. 1221-31.
32. Foresti, R. and R. Motterlini, *The heme oxygenase pathway and its interaction with nitric oxide in the control of cellular homeostasis*. *Free Radic Res*, 1999. **31**(6): p. 459-75.
33. Duvigneau, J.C., H. Esterbauer, and A.V. Kozlov, *Role of Heme Oxygenase as a Modulator of Heme-Mediated Pathways*. *Antioxidants (Basel)*, 2019. **8**(10).
34. Radhakrishnan, N., et al., *An interesting tetrad of asplenia, inflammation, hemolysis, and nephritis*. *Pediatr Hematol Oncol*, 2011. **28**(8): p. 723-6.
35. Tenhunen, R., H.S. Marver, and R. Schmid, *The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1968. **61**(2): p. 748-55.
36. Foresti, R., M.G. Bani-Hani, and R. Motterlini, *Use of carbon monoxide as a therapeutic agent: promises and challenges*. *Intensive Care Med*, 2008. **34**(4): p. 649-58.
37. Haines, D.D. and A. Tosaki, *Heme Degradation in Pathophysiology of and Countermeasures to Inflammation-Associated Disease*. *Int J Mol Sci*, 2020. **21**(24).
38. Bucolo, C. and F. Drago, *Focus on molecules: heme oxygenase-1*. *Exp Eye Res*, 2009. **89**(6): p. 822-3.
39. Sarady-Andrews, J.K., et al., *Biliverdin administration protects against endotoxin-induced acute lung injury in rats*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005. **289**(6): p. L1131-7.
40. Sedlak, T.W. and S.H. Snyder, *Bilirubin benefits: cellular protection by a biliverdin reductase antioxidant cycle*. *Pediatrics*, 2004. **113**(6): p. 1776-82.
41. Stocker, R., et al., *Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance*. *Science*, 1987. **235**(4792): p. 1043-6.
42. Hou, J., et al., *5-Aminolevulinic acid combined with ferrous iron induces carbon monoxide generation in mouse kidneys and protects from renal ischemia-reperfusion injury*. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013. **305**(8): p. F1149-57.
43. Fraser, S.T., et al., *Heme Oxygenase-1: A Critical Link between Iron Metabolism, Erythropoiesis, and Development*. *Adv Hematol*, 2011. **2011**: p. 473709.

44. Fiorelli, S., et al., *Activation of Nrf2/HO-1 Pathway and Human Atherosclerotic Plaque Vulnerability: an In Vitro and In Vivo Study*. *Cells*, 2019. **8**(4).
45. Leanca, S.A., et al., *Cardiac Reverse Remodeling in Ischemic Heart Disease with Novel Therapies for Heart Failure with Reduced Ejection Fraction*. *Life (Basel)*, 2023. **13**(4).
46. <https://oercommons.org/courseware/lesson/10511/overview>.
47. Burke, R.M., K.N. Burgos Villar, and E.M. Small, *Fibroblast contributions to ischemic cardiac remodeling*. *Cell Signal*, 2021. **77**: p. 109824.
48. Mozaffarian, D., et al., *Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association*. *Circulation*, 2015. **131**(4): p. e29-322.
49. Buford, T.W., *Hypertension and aging*. *Ageing Res Rev*, 2016. **26**: p. 96-111.
50. Briones, A.M. and R.M. Touyz, *Oxidative stress and hypertension: current concepts*. *Curr Hypertens Rep*, 2010. **12**(2): p. 135-42.
51. Dinh, Q.N., et al., *Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension*. *Biomed Res Int*, 2014. **2014**: p. 406960.
52. Wadley, A.J., J.J. Veldhuijzen van Zanten, and S. Aldred, *The interactions of oxidative stress and inflammation with vascular dysfunction in ageing: the vascular health triad*. *Age (Dordr)*, 2013. **35**(3): p. 705-18.
53. Rubio-Ruiz, M.E., et al., *Aging in blood vessels. Medicinal agents FOR systemic arterial hypertension in the elderly*. *Ageing Res Rev*, 2014. **18**: p. 132-47.
54. Kubes, P., M. Suzuki, and D.N. Granger, *Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. **88**(11): p. 4651-5.
55. Chrissobolis, S., et al., *Oxidative stress and endothelial dysfunction in cerebrovascular disease*. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2011. **16**(5): p. 1733-45.
56. Kurian, G.A., et al., *The Role of Oxidative Stress in Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury and Remodeling: Revisited*. *Oxid Med Cell Longev*, 2016. **2016**: p. 1656450.
57. Ye, J., et al., *Prognostic value of asymmetric dimethylarginine in patients with coronary artery disease: A meta-analysis*. *Nitric Oxide*, 2021. **109-110**: p. 50-56.
58. Phyto, A.Z.Z., et al., *Sex differences in biological aging and the association with clinical measures in older adults*. *Geroscience*, 2024. **46**(2): p. 1775-1788.
59. Austad, S.N., *Why women live longer than men: sex differences in longevity*. *Gend Med*, 2006. **3**(2): p. 79-92.
60. Stindl, R., *Tying it all together: telomeres, sexual size dimorphism and the gender gap in life expectancy*. *Med Hypotheses*, 2004. **62**(1): p. 151-4.
61. Vina, J., et al., *Why females live longer than males? Importance of the upregulation of longevity-associated genes by oestrogenic compounds*. *FEBS Lett*, 2005. **579**(12): p. 2541-5.
62. Villa, A., et al., *Estrogen accelerates the resolution of inflammation in macrophagic cells*. *Sci Rep*, 2015. **5**: p. 15224.
63. Rodgers, J.L., et al., *Cardiovascular Risks Associated with Gender and Aging*. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2019. **6**(2).
64. Xiang, D., et al., *Protective Effects of Estrogen on Cardiovascular Disease Mediated by Oxidative Stress*. *Oxid Med Cell Longev*, 2021. **2021**: p. 5523516.
65. Murphy, E., *Estrogen signaling and cardiovascular disease*. *Circ Res*, 2011. **109**(6): p. 687-96.
66. Kumar, R., et al., *The dynamic structure of the estrogen receptor*. *J Amino Acids*, 2011. **2011**: p. 812540.
67. Xin, Q.L., et al., *Transcriptional activation of nuclear estrogen receptor and progesterone receptor and its regulation*. *Sheng Li Xue Bao*, 2016. **68**(4): p. 435-54.

68. Ramirez-de-Arellano, A., et al., *Distribution and Effects of Estrogen Receptors in Prostate Cancer: Associated Molecular Mechanisms*. Front Endocrinol (Lausanne), 2021. **12**: p. 811578.
69. Weiner, C.P., et al., *Induction of calcium-dependent nitric oxide synthases by sex hormones*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(11): p. 5212-6.
70. Guo, X., et al., *Estrogen induces vascular wall dilation: mediation through kinase signaling to nitric oxide and estrogen receptors alpha and beta*. J Biol Chem, 2005. **280**(20): p. 19704-10.
71. Zhu, Y., et al., *Abnormal vascular function and hypertension in mice deficient in estrogen receptor beta*. Science, 2002. **295**(5554): p. 505-8.
72. Simoncini, T., et al., *Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase*. Nature, 2000. **407**(6803): p. 538-41.
73. Deschamps, A.M. and E. Murphy, *Activation of a novel estrogen receptor, GPER, is cardioprotective in male and female rats*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **297**(5): p. H1806-13.
74. Nikolic, I., et al., *Treatment with an estrogen receptor-beta-selective agonist is cardioprotective*. J Mol Cell Cardiol, 2007. **42**(4): p. 769-80.
75. Iorga, A., et al., *The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy*. Biol Sex Differ, 2017. **8**(1): p. 33.
76. Arias-Loza, P.A., M. Muehlfelder, and T. Pelzer, *Estrogen and estrogen receptors in cardiovascular oxidative stress*. Pflugers Arch, 2013. **465**(5): p. 739-46.
77. Pavon, N., et al., *Sexual hormones: effects on cardiac and mitochondrial activity after ischemia-reperfusion in adult rats. Gender difference*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2012. **132**(1-2): p. 135-46.
78. Kander, M.C., Y. Cui, and Z. Liu, *Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases*. J Cell Mol Med, 2017. **21**(5): p. 1024-1032.
79. Chen, Y., et al., *17beta-estradiol prevents cardiac diastolic dysfunction by stimulating mitochondrial function: a preclinical study in a mouse model of a human hypertrophic cardiomyopathy mutation*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2015. **147**: p. 92-102.
80. Sasaki, Y., et al., *Estrogen-SIRT1 Axis Plays a Pivotal Role in Protecting Arteries Against Menopause-Induced Senescence and Atherosclerosis*. J Atheroscler Thromb, 2020. **27**(1): p. 47-59.
81. Jeanes, H.L., et al., *Oestrogen-mediated cardioprotection following ischaemia and reperfusion is mimicked by an oestrogen receptor (ER)alpha agonist and unaffected by an ER beta antagonist*. J Endocrinol, 2008. **197**(3): p. 493-501.
82. Liu, S.L., et al., *Cardiovascular protection in females linked to estrogen-dependent inhibition of arterial stiffening and macrophage MMP12*. JCI Insight, 2019. **4**(1).
83. Nii, S., et al., *Hepatic Effects of Estrogen on Plasma Distribution of Small Dense Low-Density Lipoprotein and Free Radical Production in Postmenopausal Women*. J Atheroscler Thromb, 2016. **23**(7): p. 810-8.
84. Palmisano, B.T., et al., *Sex differences in lipid and lipoprotein metabolism*. Mol Metab, 2018. **15**: p. 45-55.
85. Rossouw, J.E., et al., *Postmenopausal hormone therapy and risk of cardiovascular disease by age and years since menopause*. JAMA, 2007. **297**(13): p. 1465-77.
86. Salpeter, S.R., et al., *Mortality associated with hormone replacement therapy in younger and older women: a meta-analysis*. J Gen Intern Med, 2004. **19**(7): p. 791-804.

87. *Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. The Writing Group for the PEPI Trial.* JAMA, 1995. **273**(3): p. 199-208.
88. Shlipak, M.G., et al., *Estrogen and progestin, lipoprotein(a), and the risk of recurrent coronary heart disease events after menopause.* JAMA, 2000. **283**(14): p. 1845-52.
89. Cushman, M., et al., *Effect of postmenopausal hormones on inflammation-sensitive proteins: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Study.* Circulation, 1999. **100**(7): p. 717-22.
90. Johnson, S.R., *Menopause and hormone replacement therapy.* Med Clin North Am, 1998. **82**(2): p. 297-320.
91. An, K.C., *Selective Estrogen Receptor Modulators.* Asian Spine J, 2016. **10**(4): p. 787-91.
92. Ferretti, G., et al., *Raloxifene Lowers Plasma Lipoprotein(a) Concentrations: a Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Placebo-Controlled Trials.* Cardiovasc Drugs Ther, 2017. **31**(2): p. 197-208.
93. Moreno-Fernandez, S., et al., *High Fat/High Glucose Diet Induces Metabolic Syndrome in an Experimental Rat Model.* Nutrients, 2018. **10**(10).
94. Boutari, C. and C.S. Mantzoros, *A 2022 update on the epidemiology of obesity and a call to action: as its twin COVID-19 pandemic appears to be receding, the obesity and dysmetabolism pandemic continues to rage on.* Metabolism, 2022. **133**: p. 155217.
95. Hariri, N. and L. Thibault, *High-fat diet-induced obesity in animal models.* Nutr Res Rev, 2010. **23**(2): p. 270-99.
96. Wang, L., et al., *Elevated Fat Intake Increases Body Weight and the Risk of Overweight and Obesity among Chinese Adults: 1991-2015 Trends.* Nutrients, 2020. **12**(11).
97. Arner, E., et al., *Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology.* Diabetes, 2010. **59**(1): p. 105-9.
98. Nakamura, K., J.J. Fuster, and K. Walsh, *Adipokines: a link between obesity and cardiovascular disease.* J Cardiol, 2014. **63**(4): p. 250-9.
99. Cartwright, M.J., T. Tchkonina, and J.L. Kirkland, *Aging in adipocytes: potential impact of inherent, depot-specific mechanisms.* Exp Gerontol, 2007. **42**(6): p. 463-71.
100. Horwitz, A. and R. Birk, *Adipose Tissue Hyperplasia and Hypertrophy in Common and Syndromic Obesity-The Case of BBS Obesity.* Nutrients, 2023. **15**(15).
101. Shulman, G.I., *Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease.* N Engl J Med, 2014. **371**(23): p. 2237-8.
102. Rokling-Andersen, M.H., et al., *Effects of long-term exercise and diet intervention on plasma adipokine concentrations.* Am J Clin Nutr, 2007. **86**(5): p. 1293-301.
103. Fantuzzi, G., *Adipose tissue, adipokines, and inflammation.* J Allergy Clin Immunol, 2005. **115**(5): p. 911-9; quiz 920.
104. Feuerer, M., et al., *Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters.* Nat Med, 2009. **15**(8): p. 930-9.
105. Nishimura, S., et al., *CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity.* Nat Med, 2009. **15**(8): p. 914-20.
106. Odegaard, J.I. and A. Chawla, *Alternative macrophage activation and metabolism.* Annu Rev Pathol, 2011. **6**: p. 275-97.
107. Gordon, S., *Alternative activation of macrophages.* Nat Rev Immunol, 2003. **3**(1): p. 23-35.
108. Murano, I., et al., *Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice.* J Lipid Res, 2008. **49**(7): p. 1562-8.

109. Apovian, C.M., et al., *Adipose macrophage infiltration is associated with insulin resistance and vascular endothelial dysfunction in obese subjects*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008. **28**(9): p. 1654-9.
110. Lavie, C.J., et al., *Exercise and the cardiovascular system: clinical science and cardiovascular outcomes*. *Circ Res*, 2015. **117**(2): p. 207-19.
111. Myers, J., et al., *Fitness versus physical activity patterns in predicting mortality in men*. *Am J Med*, 2004. **117**(12): p. 912-8.
112. Chong, M.F., R. Macdonald, and J.A. Lovegrove, *Fruit polyphenols and CVD risk: a review of human intervention studies*. *Br J Nutr*, 2010. **104 Suppl 3**: p. S28-39.
113. Borzsei, D., et al., *Resveratrol as a Promising Polyphenol in Age-Associated Cardiac Alterations*. *Oxid Med Cell Longev*, 2022. **2022**: p. 7911222.
114. Pandey, K.B. and S.I. Rizvi, *Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease*. *Oxid Med Cell Longev*, 2009. **2**(5): p. 270-8.
115. Jung, U.J. and M.S. Choi, *Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease*. *Int J Mol Sci*, 2014. **15**(4): p. 6184-223.
116. Clemente-Suarez, V.J., et al., *The Role of Adipokines in Health and Disease*. *Biomedicines*, 2023. **11**(5).
117. Rajan, S., et al., *Adipocyte transdifferentiation and its molecular targets*. *Differentiation*, 2014. **87**(5): p. 183-92.
118. Kirichenko, T.V., et al., *The Role of Adipokines in Inflammatory Mechanisms of Obesity*. *Int J Mol Sci*, 2022. **23**(23).
119. Shirai, T., et al., *High dietary fat-induced obesity in Wistar rats and type 2 diabetes in nonobese Goto-Kakizaki rats differentially affect retinol binding protein 4 expression and vitamin A metabolism*. *Nutr Res*, 2016. **36**(3): p. 262-70.
120. Hu, M.B., et al., *High-fat diet-induced adipokine and cytokine alterations promote the progression of prostate cancer in vivo and in vitro*. *Oncol Lett*, 2018. **15**(2): p. 1607-1615.
121. Catta-Preta, M., et al., *Modulation of cytokines, resistin, and distribution of adipose tissue in C57BL/6 mice by different high-fat diets*. *Nutrition*, 2012. **28**(2): p. 212-9.
122. Tan, L., et al., *The Role of Chemerin in Metabolic and Cardiovascular Disease: A Literature Review of Its Physiology and Pathology from a Nutritional Perspective*. *Nutrients*, 2023. **15**(13).
123. Smekal, A. and J. Vaclavik, *Adipokines and cardiovascular disease: A comprehensive review*. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2017. **161**(1): p. 31-40.
124. <https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/obesity-heart-vector-6597677>.
125. Karmazyn, M., et al., *Signalling mechanisms underlying the metabolic and other effects of adipokines on the heart*. *Cardiovasc Res*, 2008. **79**(2): p. 279-86.
126. Mattu, H.S. and H.S. Randeve, *Role of adipokines in cardiovascular disease*. *J Endocrinol*, 2013. **216**(1): p. T17-36.
127. Sierra-Johnson, J., et al., *Relation of increased leptin concentrations to history of myocardial infarction and stroke in the United States population*. *Am J Cardiol*, 2007. **100**(2): p. 234-9.
128. Posa, A., et al., *Cardioprotective Effect of Selective Estrogen Receptor Modulator Raloxifene Are Mediated by Heme Oxygenase in Estrogen-Deficient Rat*. *Oxid Med Cell Longev*, 2017. **2017**: p. 2176749.

129. Posa, A., I. Pavo, and C. Varga, *Heme oxygenase contributes to estradiol and raloxifene-induced vasorelaxation in estrogen deficiency*. *Int J Cardiol*, 2015. **189**: p. 252-4.
130. Szabo, R., et al., *Hormone Replacement Therapy and Aging: A Potential Therapeutic Approach for Age-Related Oxidative Stress and Cardiac Remodeling*. *Oxid Med Cell Longev*, 2021. **2021**: p. 8364297.
131. Horvath, K., et al., *The involvement of heme oxygenase-1 activity in the therapeutic actions of 5-aminosalicylic acid in rat colitis*. *Eur J Pharmacol*, 2008. **581**(3): p. 315-23.
132. Posa, A., et al., *Cardioprotective effects of voluntary exercise in a rat model: role of matrix metalloproteinase-2*. *Oxid Med Cell Longev*, 2015. **2015**: p. 876805.
133. Szabo, R., et al., *Role of Exercise-Induced Cardiac Remodeling in Ovariectomized Female Rats*. *Oxid Med Cell Longev*, 2018. **2018**: p. 6709742.
134. Posa, A., et al., *Endogenous Estrogen-Mediated Heme Oxygenase Regulation in Experimental Menopause*. *Oxid Med Cell Longev*, 2015. **2015**: p. 429713.
135. Szabo, R., et al., *Lifestyle-Induced Redox-Sensitive Alterations: Cross-Talk among the RAAS, Antioxidant/Inflammatory Status, and Hypertension*. *Oxid Med Cell Longev*, 2021. **2021**: p. 3080863.
136. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
137. https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_1.
138. https://reliefweb.int/report/world/global-report-hypertension-race-against-silent-killer?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwpZWzBhC0ARIsACvjWRNdzzO4ZvBaG9sMfrkCQggnwDnoPzmRSiwQooTvOBV9rsYESV34bjcaAj_AEALw_wcB.
139. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
140. Lakatta, E.G. and D. Levy, *Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease*. *Circulation*, 2003. **107**(1): p. 139-46.
141. Lakatta, E.G. and D. Levy, *Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease*. *Circulation*, 2003. **107**(2): p. 346-54.
142. Lakatta, E.G., *Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging*. *Circulation*, 2003. **107**(3): p. 490-7.
143. Coelho-Filho, O.R., et al., *Quantification of cardiomyocyte hypertrophy by cardiac magnetic resonance: implications for early cardiac remodeling*. *Circulation*, 2013. **128**(11): p. 1225-33.
144. Chimenti, C., et al., *Senescence and death of primitive cells and myocytes lead to premature cardiac aging and heart failure*. *Circ Res*, 2003. **93**(7): p. 604-13.
145. Biernacka, A. and N.G. Frangogiannis, *Aging and Cardiac Fibrosis*. *Aging Dis*, 2011. **2**(2): p. 158-173.
146. Espeland, T., et al., *Myocardial fibrosis*. *Tidsskr Nor Laegeforen*, 2018. **138**(16).
147. Kawaguchi, M., et al., *Inflammasome activation of cardiac fibroblasts is essential for myocardial ischemia/reperfusion injury*. *Circulation*, 2011. **123**(6): p. 594-604.
148. Travers, J.G., et al., *Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens*. *Circ Res*, 2016. **118**(6): p. 1021-40.
149. Levy, D., et al., *Echocardiographically detected left ventricular hypertrophy: prevalence and risk factors. The Framingham Heart Study*. *Ann Intern Med*, 1988. **108**(1): p. 7-13.
150. Collins, C. and E. Tzima, *Hemodynamic forces in endothelial dysfunction and vascular aging*. *Exp Gerontol*, 2011. **46**(2-3): p. 185-8.

151. Song, R. and L. Zhang, *Cardiac ECM: Its Epigenetic Regulation and Role in Heart Development and Repair*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(22).
152. Jarvelainen, H., et al., *Extracellular matrix molecules: potential targets in pharmacotherapy*. Pharmacol Rev, 2009. **61**(2): p. 198-223.
153. Frantz, C., K.M. Stewart, and V.M. Weaver, *The extracellular matrix at a glance*. J Cell Sci, 2010. **123**(Pt 24): p. 4195-200.
154. Gunthel, M., P. Barnett, and V.M. Christoffels, *Development, Proliferation, and Growth of the Mammalian Heart*. Mol Ther, 2018. **26**(7): p. 1599-1609.
155. Hortells, L., A.K.Z. Johansen, and K.E. Yutzey, *Cardiac Fibroblasts and the Extracellular Matrix in Regenerative and Nonregenerative Hearts*. J Cardiovasc Dev Dis, 2019. **6**(3).
156. Horton, E.R., et al., *Extracellular Matrix Production by Mesenchymal Stromal Cells in Hydrogels Facilitates Cell Spreading and Is Inhibited by FGF-2*. Adv Healthc Mater, 2020. **9**(7): p. e1901669.
157. Segers, V.F.M., D.L. Brutsaert, and G.W. De Keulenaer, *Cardiac Remodeling: Endothelial Cells Have More to Say Than Just NO*. Front Physiol, 2018. **9**: p. 382.
158. Alfonso-Jaume, M.A., et al., *Cardiac ischemia-reperfusion injury induces matrix metalloproteinase-2 expression through the AP-1 components FosB and JunB*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **291**(4): p. H1838-46.
159. Tayebjee, M.H., et al., *Effects of age, gender, ethnicity, diurnal variation and exercise on circulating levels of matrix metalloproteinases (MMP)-2 and -9, and their inhibitors, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP)-1 and -2*. Thromb Res, 2005. **115**(3): p. 205-10.
160. Pechenino, A.S., et al., *Impact of aging vs. estrogen loss on cardiac gene expression: estrogen replacement and inflammation*. Physiol Genomics, 2011. **43**(18): p. 1065-73.
161. Boccardi, V. and P. Mecocci, *The Importance of Cellular Senescence in Frailty and Cardiovascular Diseases*. Adv Exp Med Biol, 2020. **1216**: p. 79-86.
162. Coppe, J.P., et al., *The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression*. Annu Rev Pathol, 2010. **5**: p. 99-118.
163. Sharma, H.S., et al., *Coordinated expression of heme oxygenase-1 and ubiquitin in the porcine heart subjected to ischemia and reperfusion*. Mol Cell Biochem, 1996. **157**(1-2): p. 111-6.
164. Shan, H., et al., *Heme oxygenase-1 prevents heart against myocardial infarction by attenuating ischemic injury-induced cardiomyocytes senescence*. EBioMedicine, 2019. **39**: p. 59-68.
165. Yet, S.F., et al., *Cardiac-specific expression of heme oxygenase-1 protects against ischemia and reperfusion injury in transgenic mice*. Circ Res, 2001. **89**(2): p. 168-73.
166. Di Giulio, C., et al., *Aging and expression of heme oxygenase-1 and endothelin-1 in the rat carotid body after chronic hypoxia*. J Physiol Pharmacol, 2009. **60 Suppl 5**: p. 41-4.
167. Lavrovsky, Y., et al., *Age-dependent increase of heme oxygenase-1 gene expression in the liver mediated by NFkappaB*. Mech Ageing Dev, 2000. **114**(1): p. 49-60.
168. Schipper, H.M., *Heme oxygenase-1: role in brain aging and neurodegeneration*. Exp Gerontol, 2000. **35**(6-7): p. 821-30.
169. Ungvari, Z., et al., *Vascular oxidative stress in aging: a homeostatic failure due to dysregulation of NRF2-mediated antioxidant response*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(2): p. H363-72.
170. Kwon, D.H., et al., *Protective Effect of Glutathione against Oxidative Stress-induced Cytotoxicity in RAW 264.7 Macrophages through Activating the Nuclear Factor*

- Erythroid 2-Related Factor-2/Heme Oxygenase-1 Pathway*. Antioxidants (Basel), 2019. **8**(4).
171. Araujo, J.A., M. Zhang, and F. Yin, *Heme oxygenase-1, oxidation, inflammation, and atherosclerosis*. Front Pharmacol, 2012. **3**: p. 119.
 172. Sekhar, R.V., et al., *Deficient synthesis of glutathione underlies oxidative stress in aging and can be corrected by dietary cysteine and glycine supplementation*. Am J Clin Nutr, 2011. **94**(3): p. 847-53.
 173. Farooqui, M.Y., W.W. Day, and D.M. Zamorano, *Glutathione and lipid peroxidation in the aging rat*. Comp Biochem Physiol B, 1987. **88**(1): p. 177-80.
 174. Stohs, S.J., T. Lawson, and W.A. Al-Turk, *Changes in glutathione and glutathione metabolizing enzymes in erythrocytes and lymphocytes of mice as a function of age*. Gen Pharmacol, 1984. **15**(3): p. 267-70.
 175. Samiec, P.S., et al., *Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes*. Free Radic Biol Med, 1998. **24**(5): p. 699-704.
 176. Erden-Inal, M., E. Sunal, and G. Kanbak, *Age-related changes in the glutathione redox system*. Cell Biochem Funct, 2002. **20**(1): p. 61-6.
 177. Borrás, C., J. Gambini, and J. Vina, *Mitochondrial oxidant generation is involved in determining why females live longer than males*. Front Biosci, 2007. **12**: p. 1008-13.
 178. Vina, J., et al., *Females live longer than males: role of oxidative stress*. Curr Pharm Des, 2011. **17**(36): p. 3959-65.
 179. Perkins, M.S., R. Louw-du Toit, and D. Africander, *Hormone Therapy and Breast Cancer: Emerging Steroid Receptor Mechanisms*. J Mol Endocrinol, 2018. **61**(4): p. R133-R160.
 180. Li, T., et al., *Age and sex differences in vascular responsiveness in healthy and trauma patients: contribution of estrogen receptor-mediated Rho kinase and PKC pathways*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014. **306**(8): p. H1105-15.
 181. Barp, J., et al., *Myocardial antioxidant and oxidative stress changes due to sex hormones*. Braz J Med Biol Res, 2002. **35**(9): p. 1075-81.
 182. Stice, J.P., et al., *17beta-Estradiol, aging, inflammation, and the stress response in the female heart*. Endocrinology, 2011. **152**(4): p. 1589-98.
 183. Babiker, F.A., et al., *17beta-estradiol antagonizes cardiomyocyte hypertrophy by autocrine/paracrine stimulation of a guanylyl cyclase A receptor-cyclic guanosine monophosphate-dependent protein kinase pathway*. Circulation, 2004. **109**(2): p. 269-76.
 184. Javed, A., et al., *The Relationship Between Myocardial Infarction and Estrogen Use: A Literature Review*. Cureus, 2023. **15**(9): p. e46134.
 185. Patten, R.D., et al., *17beta-estradiol reduces cardiomyocyte apoptosis in vivo and in vitro via activation of phospho-inositide-3 kinase/Akt signaling*. Circ Res, 2004. **95**(7): p. 692-9.
 186. Zhang, P., et al., *Estradiol inhibits fMLP-induced neutrophil migration and superoxide production by upregulating MKP-2 and dephosphorylating ERK*. Int Immunopharmacol, 2019. **75**: p. 105787.
 187. Yazgan, B., et al., *Raloxifene and Tamoxifen Reduce PARP Activity, Cytokine and Oxidative Stress Levels in the Brain and Blood of Ovariectomized Rats*. J Mol Neurosci, 2016. **60**(2): p. 214-22.
 188. Martinkovich, S., et al., *Selective estrogen receptor modulators: tissue specificity and clinical utility*. Clin Interv Aging, 2014. **9**: p. 1437-52.
 189. Archer, D.F., *The gynecologic effects of lasofoxifene, an estrogen agonist/antagonist, in postmenopausal women*. Menopause, 2011. **18**(1): p. 6-7.

190. Veronesi, U., et al., *Breast cancer*. *Discov Med*, 2005. **5**(27): p. 271-7.
191. Jordan, V.C., *Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine*. *Nat Rev Drug Discov*, 2003. **2**(3): p. 205-13.
192. Gottardis, M.M., et al., *Effect of steroidal and nonsteroidal antiestrogens on the growth of a tamoxifen-stimulated human endometrial carcinoma (EnCa101) in athymic mice*. *Cancer Res*, 1990. **50**(11): p. 3189-92.
193. Vogel, V.G., et al., *Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial*. *JAMA*, 2006. **295**(23): p. 2727-41.
194. Jordan, V.C., *Selective estrogen receptor modulation: concept and consequences in cancer*. *Cancer Cell*, 2004. **5**(3): p. 207-13.
195. Fisher, B., et al., *Endometrial cancer in tamoxifen-treated breast cancer patients: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-14*. *J Natl Cancer Inst*, 1994. **86**(7): p. 527-37.
196. van Leeuwen, F.E., et al., *Risk of endometrial cancer after tamoxifen treatment of breast cancer*. *Lancet*, 1994. **343**(8895): p. 448-52.
197. Walsh, B.W., et al., *Effects of raloxifene on serum lipids and coagulation factors in healthy postmenopausal women*. *JAMA*, 1998. **279**(18): p. 1445-51.
198. Mijatovic, V., et al., *Raloxifene lowers serum lipoprotein(A) in healthy postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled comparison with conjugated equine estrogens*. *Menopause*, 1999. **6**(2): p. 134-7.
199. Mijatovic, V., et al., *Randomized, double-blind, placebo-controlled study of the effects of raloxifene and conjugated equine estrogen on plasma homocysteine levels in healthy postmenopausal women*. *Fertil Steril*, 1998. **70**(6): p. 1085-9.
200. Saitta, A., et al., *Randomized, double-blind, placebo-controlled study on effects of raloxifene and hormone replacement therapy on plasma no concentrations, endothelin-1 levels, and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001. **21**(9): p. 1512-9.
201. Ghodeswar, G.K., A. Dube, and D. Khobragade, *Impact of Lifestyle Modifications on Cardiovascular Health: A Narrative Review*. *Cureus*, 2023. **15**(7): p. e42616.
202. Rippe, J.M., *Lifestyle Strategies for Risk Factor Reduction, Prevention, and Treatment of Cardiovascular Disease*. *Am J Lifestyle Med*, 2019. **13**(2): p. 204-212.
203. Lichtenstein, A.H., et al., *2021 Dietary Guidance to Improve Cardiovascular Health: A Scientific Statement From the American Heart Association*. *Circulation*, 2021. **144**(23): p. e472-e487.
204. Lloyd-Jones, D.M., et al., *Life's Essential 8: Updating and Enhancing the American Heart Association's Construct of Cardiovascular Health: A Presidential Advisory From the American Heart Association*. *Circulation*, 2022. **146**(5): p. e18-e43.
205. <https://www.heart.org/en/healthy-living/healthy-lifestyle/lifes-essential-8>.
206. *Correction to: Status of Cardiovascular Health in US Adults and Children Using the American Heart Association's New "Life's Essential 8" Metrics: Prevalence Estimates From the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2013 Through 2018*. *Circulation*, 2022. **146**(20): p. e298.
207. Wannamethee, S.G., A.G. Shaper, and M. Walker, *Physical activity and mortality in older men with diagnosed coronary heart disease*. *Circulation*, 2000. **102**(12): p. 1358-63.
208. Jolliffe, J.A., et al., *Exercise-based rehabilitation for coronary heart disease*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2001(1): p. CD001800.
209. Warburton, D.E., C.W. Nicol, and S.S. Bredin, *Health benefits of physical activity: the evidence*. *CMAJ*, 2006. **174**(6): p. 801-9.

210. *Physical Activity Guidelines Advisory Committee report, 2008. To the Secretary of Health and Human Services. Part A: executive summary.* Nutr Rev, 2009. **67**(2): p. 114-20.
211. Belanger, M.J., P. Rao, and J.M. Robbins, *Exercise, Physical Activity, and Cardiometabolic Health: Pathophysiologic Insights.* Cardiol Rev, 2022. **30**(3): p. 134-144.
212. Massey, K.A. and A. Nicolaou, *Lipidomics of oxidized polyunsaturated fatty acids.* Free Radic Biol Med, 2013. **59**(100): p. 45-55.
213. Yin, H., L. Xu, and N.A. Porter, *Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis.* Chem Rev, 2011. **111**(10): p. 5944-72.
214. Kumar, A., A. Prasad, and P. Pospisil, *Formation of alpha-tocopherol hydroperoxide and alpha-tocopheroxyl radical: relevance for photooxidative stress in Arabidopsis.* Sci Rep, 2020. **10**(1): p. 19646.
215. Girotti, A.W., *Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems.* J Lipid Res, 1998. **39**(8): p. 1529-42.
216. Sies, H., *Biochemistry of oxidative stress.* Angewandte Chemie International Edition in English, 1986. **25**(12): p. 1058-1071.
217. Long, H., et al., *Iron homeostasis imbalance and ferroptosis in brain diseases.* MedComm (2020), 2023. **4**(4): p. e298.
218. Pamplona, R., *Advanced lipoxidation end-products.* Chem Biol Interact, 2011. **192**(1-2): p. 14-20.
219. Nair, J., et al., *Lipid peroxidation-derived etheno-DNA adducts in human atherosclerotic lesions.* Mutat Res, 2007. **621**(1-2): p. 95-105.
220. Chicco, A.J. and G.C. Sparagna, *Role of cardiolipin alterations in mitochondrial dysfunction and disease.* Am J Physiol Cell Physiol, 2007. **292**(1): p. C33-44.
221. Kennedy, A.L. and T.J. Lyons, *Glycation, oxidation, and lipoxidation in the development of diabetic complications.* Metabolism, 1997. **46**(12 Suppl 1): p. 14-21.
222. Bost, F., et al., *The role of MAPKs in adipocyte differentiation and obesity.* Biochimie, 2005. **87**(1): p. 51-6.
223. Dobrian, A.D., et al., *Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension.* Hypertension, 2001. **37**(2 Pt 2): p. 554-60.
224. Bayarsaikhan, G., et al., *Targeting Scavenger Receptors in Inflammatory Disorders and Oxidative Stress.* Antioxidants (Basel), 2022. **11**(5).
225. Jaffe, I.Z. and S.A. Karumanchi, *Lipid droplets in the endothelium: The missing link between metabolic syndrome and cardiovascular disease?* J Clin Invest, 2024. **134**(4).
226. Gianazza, E., et al., *Lipoxidation in cardiovascular diseases.* Redox Biol, 2019. **23**: p. 101119.
227. Xu, S., et al., *LOX-1 in atherosclerosis: biological functions and pharmacological modifiers.* Cell Mol Life Sci, 2013. **70**(16): p. 2859-72.
228. Yoshimoto, R., et al., *The discovery of LOX-1, its ligands and clinical significance.* Cardiovasc Drugs Ther, 2011. **25**(5): p. 379-91.
229. Kim, B., et al., *Endothelial lipid droplets suppress eNOS to link high fat consumption to blood pressure elevation.* J Clin Invest, 2023. **133**(24).
230. Parthasarathy, S., D. Steinberg, and J.L. Witztum, *The role of oxidized low-density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis.* Annu Rev Med, 1992. **43**: p. 219-25.
231. Ajuebor, M.N., et al., *Endogenous monocyte chemoattractant protein-1 recruits monocytes in the zymosan peritonitis model.* J Leukoc Biol, 1998. **63**(1): p. 108-16.
232. Deshmane, S.L., et al., *Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview.* J Interferon Cytokine Res, 2009. **29**(6): p. 313-26.

233. Boring, L., et al., *Decreased lesion formation in CCR2^{-/-} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis*. *Nature*, 1998. **394**(6696): p. 894-7.
234. Metcalfe, J.C. and D.J. Grainger, *Transforming growth factor-beta and the protection from cardiovascular injury hypothesis*. *Biochem Soc Trans*, 1995. **23**(2): p. 403-6.
235. Feinberg, M.W., et al., *Transforming growth factor-beta1 inhibition of vascular smooth muscle cell activation is mediated via Smad3*. *J Biol Chem*, 2004. **279**(16): p. 16388-93.
236. Grainger, D.J., et al., *The serum concentration of active transforming growth factor-beta is severely depressed in advanced atherosclerosis*. *Nat Med*, 1995. **1**(1): p. 74-9.
237. Gough, P.J., et al., *Macrophage expression of active MMP-9 induces acute plaque disruption in apoE-deficient mice*. *J Clin Invest*, 2006. **116**(1): p. 59-69.
238. Yu, X.H., et al., *Foam cells in atherosclerosis*. *Clin Chim Acta*, 2013. **424**: p. 245-52.
239. Basatemur, G.L., et al., *Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis*. *Nat Rev Cardiol*, 2019. **16**(12): p. 727-744.
240. Suk, M. and Y. Shin, *Effect of high-intensity exercise and high-fat diet on lipid metabolism in the liver of rats*. *J Exerc Nutrition Biochem*, 2015. **19**(4): p. 289-95.
241. Speretta, G.F., et al., *The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats*. *Clinics (Sao Paulo)*, 2012. **67**(12): p. 1469-77.
242. Kibenge, M.T. and C.B. Chan, *The effects of high-fat diet on exercise-induced changes in metabolic parameters in Zucker fa/fa rats*. *Metabolism*, 2002. **51**(6): p. 708-15.
243. Nabika, T., et al., *The stroke-prone spontaneously hypertensive rat: still a useful model for post-GWAS genetic studies?* *Hypertens Res*, 2012. **35**(5): p. 477-84.
244. Cao, J., et al., *High fat diet enhances cardiac abnormalities in SHR rats: Protective role of heme oxygenase-adiponectin axis*. *Diabetol Metab Syndr*, 2011. **3**(1): p. 37.
245. van An del, M., A.C. Heijboer, and M.L. Drent, *Adiponectin and Its Isoforms in Pathophysiology*. *Adv Clin Chem*, 2018. **85**: p. 115-147.
246. Yamauchi, T., et al., *Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(4): p. 2461-8.
247. Hug, C., et al., *T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. **101**(28): p. 10308-13.
248. Daniele, A., et al., *Analysis of adiponectin gene and comparison of its expression in two different pig breeds*. *Obesity (Silver Spring)*, 2008. **16**(8): p. 1869-74.
249. Ouchi, N., et al., *Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin*. *Circulation*, 1999. **100**(25): p. 2473-6.
250. Ouchi, N., et al., *Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway*. *Circulation*, 2000. **102**(11): p. 1296-301.
251. Ouchi, N. and K. Walsh, *Adiponectin as an anti-inflammatory factor*. *Clin Chim Acta*, 2007. **380**(1-2): p. 24-30.
252. Ouchi, N., et al., *Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages*. *Circulation*, 2001. **103**(8): p. 1057-63.
253. Ohashi, K., et al., *Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype*. *J Biol Chem*, 2010. **285**(9): p. 6153-60.
254. Kumada, M., et al., *Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages*. *Circulation*, 2004. **109**(17): p. 2046-9.
255. Chen, M.M., et al., *Novel role for the potent endogenous inotrope apelin in human cardiac dysfunction*. *Circulation*, 2003. **108**(12): p. 1432-9.

256. de Souza Batista, C.M., et al., *Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity*. Diabetes, 2007. **56**(6): p. 1655-61.
257. Kondo, H., et al., *Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a candidate gene for the insulin resistance syndrome*. Diabetes, 2002. **51**(7): p. 2325-8.
258. Nigro, E., et al., *New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases*. Biomed Res Int, 2014. **2014**: p. 658913.
259. Kadowaki, T. and T. Yamauchi, *Adiponectin and adiponectin receptors*. Endocr Rev, 2005. **26**(3): p. 439-51.
260. Shibata, R., et al., *Adiponectin-mediated modulation of hypertrophic signals in the heart*. Nat Med, 2004. **10**(12): p. 1384-9.
261. Zhao, S., C.M. Kusminski, and P.E. Scherer, *Adiponectin, Leptin and Cardiovascular Disorders*. Circ Res, 2021. **128**(1): p. 136-149.
262. Lago, F., et al., *Adipokines as novel modulators of lipid metabolism*. Trends Biochem Sci, 2009. **34**(10): p. 500-10.
263. Boden, G., et al., *Effects of prolonged hyperinsulinemia on serum leptin in normal human subjects*. J Clin Invest, 1997. **100**(5): p. 1107-13.
264. Vazquez-Vela, M.E., N. Torres, and A.R. Tovar, *White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity*. Arch Med Res, 2008. **39**(8): p. 715-28.
265. Otero, M., et al., *Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin*. Rheumatology (Oxford), 2006. **45**(8): p. 944-50.
266. Allison, M.B. and M.G. Myers, Jr., *20 years of leptin: connecting leptin signaling to biological function*. J Endocrinol, 2014. **223**(1): p. T25-35.
267. Enriori, P.J., et al., *Diet-induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons*. Cell Metab, 2007. **5**(3): p. 181-94.
268. Lubis, A.R., et al., *The role of SOCS-3 protein in leptin resistance and obesity*. Acta Med Indones, 2008. **40**(2): p. 89-95.
269. Minokoshi, Y., et al., *Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase*. Nature, 2002. **415**(6869): p. 339-43.
270. Ren, J., *Leptin and hyperleptinemia - from friend to foe for cardiovascular function*. J Endocrinol, 2004. **181**(1): p. 1-10.
271. Fruhbeck, G., *Intracellular signalling pathways activated by leptin*. Biochem J, 2006. **393**(Pt 1): p. 7-20.
272. Chan, J.L., et al., *Clinical effects of long-term metreleptin treatment in patients with lipodystrophy*. Endocr Pract, 2011. **17**(6): p. 922-32.
273. Al-Hussaniy, H.A., A.H. Alburghaif, and M.A. Naji, *Leptin hormone and its effectiveness in reproduction, metabolism, immunity, diabetes, hopes and ambitions*. J Med Life, 2021. **14**(5): p. 600-605.
274. Blum, W.F., et al., *Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(9): p. 2904-10.
275. Kamohara, S., et al., *Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment*. Nature, 1997. **389**(6649): p. 374-7.
276. Ozata, M., I.C. Ozdemir, and J. Licinio, *Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects*. J Clin Endocrinol Metab, 1999. **84**(10): p. 3686-95.
277. Hontsariuk, D.O., et al., *Incides of C-Reactive Protein, Tumor Necrosis Factor-alpha, Adiponectin, Leptin and Resistin in the Blood of Patients Suffering from Chronic Pancreatitis and Type 2 Diabetes Mellitus*. J Med Life, 2020. **13**(4): p. 568-571.

278. Grunfeld, C., et al., *Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters*. J Clin Invest, 1996. **97**(9): p. 2152-7.
279. Yamagishi, S.I., et al., *Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A*. J Biol Chem, 2001. **276**(27): p. 25096-100.
280. Beltowski, J., *Leptin and atherosclerosis*. Atherosclerosis, 2006. **189**(1): p. 47-60.
281. Fujimaki, S., et al., *The significance of measuring plasma leptin in acute myocardial infarction*. J Int Med Res, 2001. **29**(2): p. 108-13.
282. Schulze, P.C., et al., *Dynamics in insulin resistance and plasma levels of adipokines in patients with acute decompensated and chronic stable heart failure*. J Card Fail, 2011. **17**(12): p. 1004-11.
283. Barouch, L.A., et al., *Disruption of leptin signaling contributes to cardiac hypertrophy independently of body weight in mice*. Circulation, 2003. **108**(6): p. 754-9.
284. Smith, C.C., et al., *Leptin, the obesity-associated hormone, exhibits direct cardioprotective effects*. Br J Pharmacol, 2006. **149**(1): p. 5-13.
285. Erkasap, N., et al., *Leptin protects the cardiac myocyte cultures from hypoxic damage*. Life Sci, 2006. **78**(10): p. 1098-102.
286. Zhang, J., et al., *Effects of high-fat diet-induced adipokines and cytokines on colorectal cancer development*. FEBS Open Bio, 2019. **9**(12): p. 2117-2125.
287. Ouchi, N., et al., *Protective Roles of Adipocytokines and Myokines in Cardiovascular Disease*. Circ J, 2016. **80**(10): p. 2073-80.
288. Dec, P., et al., *The Role of Omentin-1 in Cancers Development and Progression*. Cancers (Basel), 2023. **15**(15).
289. Zhou, Y., et al., *Omentin-A Novel Adipokine in Respiratory Diseases*. Int J Mol Sci, 2017. **19**(1).
290. Tan, B.K., et al., *Omentin-1, a novel adipokine, is decreased in overweight insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome: ex vivo and in vivo regulation of omentin-1 by insulin and glucose*. Diabetes, 2008. **57**(4): p. 801-8.
291. Zhou, J.Y., L. Chan, and S.W. Zhou, *Omentin: linking metabolic syndrome and cardiovascular disease*. Curr Vasc Pharmacol, 2014. **12**(1): p. 136-43.
292. Herder, C., et al., *Adiponectin may mediate the association between omentin, circulating lipids and insulin sensitivity: results from the KORA F4 study*. Eur J Endocrinol, 2015. **172**(4): p. 423-32.
293. Yang, R.Z., et al., *Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. **290**(6): p. E1253-61.
294. Yamawaki, H., et al., *Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels*. Biochem Biophys Res Commun, 2010. **393**(4): p. 668-72.
295. Lin, X., et al., *Omentin-1 Modulates Macrophage Function via Integrin Receptors alphavbeta3 and alphavbeta5 and Reverses Plaque Vulnerability in Animal Models of Atherosclerosis*. Front Cardiovasc Med, 2021. **8**: p. 757926.
296. Duan, X.Y., et al., *Omentin inhibits osteoblastic differentiation of calcifying vascular smooth muscle cells through the PI3K/Akt pathway*. Amino Acids, 2011. **41**(5): p. 1223-31.
297. Greulich, S., et al., *Cardioprotective properties of omentin-1 in type 2 diabetes: evidence from clinical and in vitro studies*. PLoS One, 2013. **8**(3): p. e59697.
298. Dong, Q., et al., *Tetrahydroxystilbene glycoside improves endothelial dysfunction and hypertension in obese rats: The role of omentin-1*. Biochem Pharmacol, 2021. **186**: p. 114489.

299. Shibata, R., et al., *Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men*. *Atherosclerosis*, 2011. **219**(2): p. 811-4.
300. Kadoglou, N.P., et al., *Serum levels of novel adipokines, omentin-1 and chemerin, in patients with acute myocardial infarction: KOZANI STUDY*. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2015. **16**(5): p. 341-6.
301. Watanabe, K., et al., *Counteractive effects of omentin-1 against atherogenesis*. *Cardiovasc Res*, 2016. **110**(1): p. 118-28.
302. Matsuo, K., et al., *Omentin functions to attenuate cardiac hypertrophic response*. *J Mol Cell Cardiol*, 2015. **79**: p. 195-202.
303. El-Mesallamy, H.O., M.O. El-Derany, and N.M. Hamdy, *Serum omentin-1 and chemerin levels are interrelated in patients with Type 2 diabetes mellitus with or without ischaemic heart disease*. *Diabet Med*, 2011. **28**(10): p. 1194-200.
304. Makiel, K., et al., *Impact of Two Types of Exercise Interventions on Leptin and Omentin Concentrations and Indicators of Lipid and Carbohydrate Metabolism in Males with Metabolic Syndrome*. *J Clin Med*, 2023. **12**(8).
305. Aschner, P., *Metabolic syndrome as a risk factor for diabetes*. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2010. **8**(3): p. 407-12.
306. Szydło, B., et al., *Role of omentin and chemerin in metabolic syndrome and tumor diseases*. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2016. **70**(0): p. 844-9.
307. Macvanin, M.T., et al., *Role of Chemerin in Cardiovascular Diseases*. *Biomedicines*, 2022. **10**(11).
308. Kaur, J., et al., *Identification of chemerin receptor (ChemR23) in human endothelial cells: chemerin-induced endothelial angiogenesis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010. **391**(4): p. 1762-8.
309. Goralski, K.B., et al., *Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism*. *J Biol Chem*, 2007. **282**(38): p. 28175-88.
310. Maghsoudi, Z., R. Kelishadi, and M.J. Hosseinzadeh-Attar, *The comparison of chemerin, adiponectin and lipid profile indices in obese and non-obese adolescents*. *Diabetes Metab Syndr*, 2016. **10**(2 Suppl 1): p. S43-6.
311. Yoo, H.J., et al., *Circulating chemerin level is independently correlated with arterial stiffness*. *J Atheroscler Thromb*, 2012. **19**(1): p. 59-66; discussion 67-8.
312. Neves, K.B., et al., *Chemerin reduces vascular nitric oxide/cGMP signalling in rat aorta: a link to vascular dysfunction in obesity?* *Clin Sci (Lond)*, 2014. **127**(2): p. 111-22.
313. Gu, P., et al., *Chemerin is associated with inflammatory markers and metabolic syndrome phenotypes in hypertension patients*. *Clin Exp Hypertens*, 2014. **36**(5): p. 326-32.
314. Amirpour, M., et al., *Beneficial effect of symbiotic supplementation during pregnancy in high fat diet-induced metabolic disorder in rats: Role of Chemerin*. *Obesity Medicine*, 2020. **19**.
315. Kim, S.H., et al., *Effect of lifestyle modification on serum chemerin concentration and its association with insulin sensitivity in overweight and obese adults with type 2 diabetes*. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2014. **80**(6): p. 825-33.
316. Feng, W.H., et al., *Correlated increase of omentin-1 and adiponectin by exenatide, avandamet and dietary change in diet-induced obese rats*. *Folia Biol (Praha)*, 2013. **59**(6): p. 217-24.

11 ÖSSZEFOGLALÁS

A népesség elöregedése egy globális trend, hiszen a jobb egészségügyi ellátáshoz, higiéniahoz és oktatáshoz való hozzáférés világszerte elősegíti a magas élettartam elérését. A predikciók szerint 2050-re a 65 év és afeletti idők száma megduplázódik a 2021-es adatokhoz képest, 1,6 milliárdra emelkedik. A minőségi öregedés elérése egy nagyon fontos feladat, mely már az életkor korai szakaszán kialakított egész életen át tartó egészséges életmódnak (fizikai aktivitás és egészséges étrend) köszönhető, illetve a kor előrehaladtával a megfelelő kezelési terápia megválasztásával elérhető. Az öregedés egy komplex fiziológiai folyamat, amelyet az emberi élet során felhalmozódó változások definiálnak, mint: a mitokondriális diszfunkció, telomerek rövidülése, őssejtek kimerülése, anyagcsere-folyamatok megváltozása, reaktív oxigén fajták (ROS) felhalmozódása, genom instabilitás, epigenetikai módosulások, mutációk és a hormonális rendszer módosulása. Az élettartamban nemi különbségek mutatkoznak, a nők átlagosan magasabb életkort élnek meg, mint a férfiak, viszont paradox módon a nők rosszabb egészségügyi állapotúak az életük vége felé, mint a férfiak. A WHO 2021-es adatai szerint a kardiovaszkuláris megbetegedések a vezető halálokok közé tartoznak világszerte, 2019-ben a globális halálozások 32 %-a szív- és érrendszeri megbetegedések (CVD) miatt következett be. A nők esetében az egyik legnagyobb rizikófaktor a CVD kialakulásában a kardioprotektív endogén ösztrogén szint csökkenése, hiánya.

Első kísérletünk során olyan természetes idősödő nőstény patkánymodellt alkalmaztunk, melynek segítségével arra kerestük a választ, hogy milyen kapcsolat mutatható ki a szervezet ösztrogén telítettségi állapota, valamint a szív oxidáns/antioxidáns paraméterei, illetve szív remodelling folyamataival. Munkánk során fiatal (10 hetes) és idős (20 hónapos) nőstény Wistar patkányokkal dolgoztunk. A természetes öregedéssel járó ösztrogénhiány mellett, az állatok egyik része ösztrogén monoterápiában részesült (E_2 : 0,1 mg/ttkg orális), a másik része pedig egy szelektív ösztrogén-receptor modulátort, raloxifen kezelést kapott (RAL: 1,0 mg/ttkg orális). A 2 hetes gyógyszeres kezelés után az állatokat termináltuk, szívüket eltávolítottuk, majd $-80\text{ }^\circ\text{C}$ -on tároltuk biokémiai mérésekre, másik részüket Langendorff perfúziós oszlopra téve perfundáltuk, hogy meghatározzuk a rizikózónára vonatkoztatott szívinfarktusos terület nagyságát. A szív szövet hemoxigenáz-1 (HO-1) aktivitását, a glutation (GSH+GSSG) szintjét spektrofotometriás mérésekkel határoztuk meg. A CVD-k során morfológiai változásokon is átmegy a szív szerkezet, így kísérleteinkben ezen morfológia változás markerét is kívántuk vizsgálni, így a szív szövet mátrix metalloproteináz 2 (MMP-2) aktivitását és a mátrix

metalloproteináz szöveti inhibitor 2 (TIMP-2) szintjét, valamint a felhalmozódó kollagén koncentrációját, nevezetesen az 1-es típusú kollagén szintjét. A szívek egy részét Langendorff perfúziós oszlopra téve perfundáltuk, a bal leszálló koronária artéria (LAD) 30 perces lekötését, illetve 120 perces reperfúziót követően 2,3,5-trifeniltetrazólium-klorid (TTC) festéssel pedig meghatároztuk a szívinfarktusos terület nagyságát a rizikózónára vonatkoztatva.

Kísérletünk eredményeként azt tapasztaltuk, hogy az öregedési folyamat jelentősen csökkentette az antioxidáns HO-aktivitást és a totál glutation tartalmat, megváltoztatta az MMP-2/TIMP-2 jelátvitelt, és túlzott kollagén-felhalmozódást eredményezett, ami fokozott szív- és érrendszeri károsodáshoz vezetett. Azonban a 14 napos hormonpótló terápia (HRT) fokozta az antioxidáns védekező mechanizmusokat és gyengítette a szív öregedéssel kapcsolatos remodellingjét. Eredményeink egyértelműen azt mutatják, hogy a kéthetes HRT potenciális terápiás lehetőség a szív- és érrendszeri öregedés hatásainak mérséklésére az oxidatív károsodás és a szív- és érrendszeri diszfunkció csökkentésén keresztül.

A kardiovaszkuláris betegségek incidenciáját és progresszióját a szexuális dimorfizmus, illetve az ösztrogén telítettségi állapota mellett a környezeti tényezők is nagymértékben befolyásolják. Ezek közé sorolható az étrend megválasztása, illetve a fizikai aktivitás is, amelyek az elhízás mértékének, illetve a zsírszövet funkciójának befolyásolásával, továbbá a metabolikus homeosztázisra kifejtett hatásaik révén kiemelt fontossággal bírnak a kardiovaszkuláris rendszerben. Második kísérletsorozatunkban arra kerestük a választ, hogy egy komplex kardiovaszkuláris kórképpel társítható állapot, továbbá az életmód hatása milyen hatással bír a kardiometabolikus szabályozásért felelős adipokin mintázatra, illetve miképpen hat a lipidperoxidáció mértékére.

A zsírszövet morfológiai és funkcionális tulajdonságai jól leírtak elhízott, illetve diabéteszes patkány modellekben, azonban kevés szó esik az olyan genetikailag módosított modellekben betöltött szerepéről, amelyek szív- és érrendszeri rendellenességgel járó spontán hipertóniás stroke-ra hajlamos patkány (SHRSP) törzs. Vizsgálatunkban hím Wistar-Kyoto (kontroll) és SHRSP patkányokat használtunk. Az SHRSP patkányokat 2 csoportra osztottuk a diéta szempontjából: standard táppal, vagy 40 %-os zsírtartalmú (HFD) táppal etettük *ad libitum*. Az állatokat ezután további csoportokra osztottuk: egy-egy csoportjukat futókerékkel ellátott ketrecekbe helyeztük, a szabadidős testmozgást modellezve; a 12 hetes diétás és edzési időszak egyszerre kezdődött. A kísérleti időszak végén az állatokat termináltuk, majd a zsírszövet és

szérum mintákból meghatároztuk az adiponektin, leptin, omentin és chemerin adipokinek koncentrációit. Az adipokinek mellett malondialdehid (MDA) szintet is mértünk a lipidperoxidáció mértékének meghatározására.

A 12 hetes HFD szignifikánsan csökkentette az adiponektin és az omentin koncentrációját mind a zsírszövetben, mind a szérumban, amit a fizikai gyakorlatok javítottak. A szérum leptin, chemerin és MDA értékek emelkedtek a HFD csoportokban; a fizikai gyakorlat azonban képes volt enyhíteni ezeket a kedvezőtlen változásokat. Eredményeink alátámasztják az életmódbeli változások és a diszfunkcionális zsírszövet közötti kapcsolatot SHRSP patkányokban. A szabadidős testmozgás fokozta az adiponektin és omentin adipokinek szintjét, valamint csökkentette a leptin és a szérum chemerin adipokinek szintjét. A zsíros diéta a zsírszövet diszfunkcióját, hiperpláziát és hipertrófiát okozva a fizikai aktivitással ellentétes hatást fejt ki az adipokin szintekre.

Eredményeink alapján elmondható, hogy mind a gyógyszeres terápia, jelen esetben E₂ vagy RAL kezelés, mind pedig az életmódbeli változások hozzájárulhatnak a szív- és érrendszeri betegségek kockázatának, illetve a kialakult betegségek mortalitásának csökkentéséhez. Valamint bizonyítottuk, hogy már eleve több ponton sérült modellben egy helytelen diéta, vagyis a magas zsírtartalom negatív irányban, míg a rendszeres testmozgás pozitív irányban képes az adipokinek szintjét befolyásolni.

12 SUMMARY

Population ageing is a global trend, as access to better health care, sanitation and education contributes to longer life expectancy worldwide. The number of people aged 65 and over is projected to double to 1.6 billion by 2050 compared to 2021. Achieving of healthy aging is very important and can be achieved through a lifelong healthy lifestyle (physical activity and balanced healthy diet) from an early age and by choosing the right treatment therapies as the ageing process progresses. Ageing is a complex physiological process defined by the accumulation of changes that occur during human life, such as mitochondrial dysfunction, telomere shortening, stem cell depletion, altered metabolic processes, accumulation of reactive oxygen species (ROS), genome instability, epigenetic modifications, mutations and changes in the endocrine system. There is a sexual dimorphism in life expectancy, with women living longer than men, but paradoxically women are in poorer than men health towards the end of their lives. According to WHO 2021 data, cardiovascular disease is the leading cause of death worldwide, accounting for 32% of global deaths from heart and vascular system's disease (CVD) in 2019. In women, one of the major risk factors for CVD is a decrease in cardioprotective endogenous estrogen levels.

In our first experiment, aging female rat model was used to examine the potential relationship among endogenous estrogen level, cardiac oxidant/antioxidant parameters as well as cardiac remodeling. Young (10 weeks) and old (20 months) female Wistar rats were used. In addition to the estrogen deficiency associated with natural aging, animals received either estrogen monotherapy (E2: 0.1 mg/kg bw orally) or a selective estrogen receptor modulator, raloxifene (RAL: 1.0 mg/kg bw orally). After 2 weeks of hormone replacement therapy, hearts were removed and stored in -80 °C until biochemical measurements or perfused through Langendorff perfusion system to determine the size of the myocardial infarct area relative to the risk zone. Cardiac heme oxygenase-1 (HO-1) activity, glutathione (GSH+GSSG) levels were measured spectrophotometrically. CVDs can be associated with morphological changes in the heart; thus, cardiac remodeling parameters, such as matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and the level of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 2 (TIMP-2), as well as the concentration of accumulating collagen, namely type 1 collagen were determined. Hearts was perfused on a Langendorff perfusion column. Following a 30 min left descending coronary artery (LAD) occlusion and 120 min reperfusion, 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining was used to determine the size of the myocardial infarct area relative to the risk zone.

As a result of our experiment, we found that the aging process significantly reduced antioxidant HO activity and total GSH content, altered MMP-2/TIMP-2 signaling, and resulted in excessive collagen accumulation, leading to increased cardiovascular damage. However, two weeks of both hormone replacement therapies (E₂ and RAL) enhanced antioxidant defense mechanisms and attenuated age-related remodeling of the heart. Our results clearly show that 2-week HRT has potential therapeutic potential to mitigate the effects of cardiovascular aging through reducing oxidative damage and cardiovascular dysfunction.

In addition to sexual dimorphism and estrogen saturation, environmental factors strongly influence the incidence and progression of cardiovascular diseases. These include dietary habits and physical activity, which are particularly important in the cardiovascular system through their effects on obesity and adipose tissue function, as well as their effects on metabolic homeostasis. In our second experiment, our aim was to examine the effects lifestyle on adipokine pattern responsible for cardiometabolic regulation and lipid peroxidation in a complex cardiovascular disease.

Morphological and functional properties of adipose tissue are well described in obese and diabetic rat models, with little mention of its role in, for example, genetically modified models of cardiovascular diseases in the stroke-prone spontaneously hypertensive strain (SHRSP). In our study, we used male Wistar-Kyoto (control) and SHRSP rats. SHRSP rats were divided into 2 groups in terms of diet: fed a standard diet or a high-fat diet (HFD) containing 40% fat *ad libitum*. The animals were then further divided into groups: one group was placed in cages with a treadmill, simulating leisure exercise; the 12-week diet and exercise period started simultaneously. At the end of the experimental period, the animals were terminated and the concentrations of the adipokines adiponectin, leptin, omentin and chemerin were determined from adipose tissue and serum samples. In addition to adipokines, malondialdehyde (MDA) levels were also measured to determine the extent of lipid peroxidation.

12 weeks of HFD significantly reduced adiponectin and omentin concentrations in both adipose tissue and serum, which were improved by physical exercise. Serum leptin, chemerin and MDA levels were elevated in the HFD groups; however, physical exercise was able to attenuate these adverse changes. Our results support a crossover between lifestyle changes and dysfunctional adipose tissue in SHRSP rats. Voluntary physical exercise increased adiponectin and omentin concentrations, while leptin and serum chemerin concentrations are decreased. A high-fat diet,

which causes adipose tissue dysfunction, hyperplasia and hypertrophy, has the opposite effect of physical activity on adipokine levels.

The results suggest that both hormone replacement therapy, E₂ or RAL treatment and lifestyle changes can lead to reduce the risk of cardiovascular disease and the mortality from the disease. Furthermore, it has been underpinned that inappropriate diet, as high-fat diet in rats with complex cardio- and cerebrovascular condition can disturb adipokine pattern, while regular exercise can ameliorate the adverse changes.

13 TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

Nagyné Hoffmann Alexandra MTMT azonosító: **10059278**

13.1 A doktori eljárás alapját képző 2 db közlemény

Szabó, R., **Hoffmann, A.***, Börzsei, D., Kupai, K., Veszelka, M., Berkó, A. M., Pávó, I., Gesztelyi, R., Juhász, B., Turcsán, Z., Pósa, A., & Varga, C. (2021). *Hormone Replacement Therapy and Aging: A Potential Therapeutic Approach for Age-Related Oxidative Stress and Cardiac Remodeling*. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 8364297. <https://doi.org/10.1155/2021/8364297>

*megosztott elsőszerezőség

IF: 7,310

Szabó, R., Börzsei, D., **Hoffmann, A.**, Kiss V., Nagy A., Török Sz., Veszelka M., Almási N., Varga, C., (2023). *The Interplay of Lifestyle and Adipokines in the Non-Obese Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats*. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 12(7):1450. <https://doi.org/10.3390/antiox12071450>

IF: 6,0

13.2 Referált folyóiratban megjelent közlemények

13.2.1 A disszertáció témájához kapcsolódó közlemények

Szabó, R., **Hoffmann, A.***, Börzsei, D., Kupai, K., Veszelka, M., Berkó, A. M., Pávó, I., Gesztelyi, R., Juhász, B., Turcsán, Z., Pósa, A., & Varga, C. (2021). *Hormone Replacement Therapy and Aging: A Potential Therapeutic Approach for Age-Related Oxidative Stress and Cardiac Remodeling*. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 8364297. <https://doi.org/10.1155/2021/8364297>

*megosztott elsőszerezőség

IF: 7,310

Szabó, R., Börzsei, D., **Hoffmann, A.** Kiss V., Nagy A., Török Sz., Veszelka M., Almási N., Varga, C., (2023). *The Interplay of Lifestyle and Adipokines in the Non-Obese Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats*. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 12(7):1450. <https://doi.org/10.3390/antiox12071450>

IF: 6,0

13.2.2 Egyéb közlemények

Börzsei D., Kiss V., Nagy A., **Hoffmann A.**, Török Sz., Almási N., Veszelka M., Varga C., Szabó R. (2024) *Moderate-Intensity Swimming Alleviates Oxidative Injury in Ischemic Heart*. *MDPI Appl. Sci.* 2024, 14(5), 2073;

<https://doi.org/10.3390/app14052073>

IF: 2,5

Lőrincz C. E., Börzsei D., **Hoffmann A.**, Varga C., Szabó R. (2024) *Mechanisms and Target Parameters in Relation to Polycystic Ovary Syndrome and Physical Exercise: Focus on the Master Triad of Hormonal Changes, Oxidative Stress, and Inflammation*. *Biomedicines*. 2024 Mar 1;12(3):560.

<https://doi.org/10.3390/biomedicines12030560>

IF: 3,9

Nagy A, Börzsei D, **Hoffmann A.**, Török S, Veszelka M, Almási N, Varga C, Szabó R. (2024) *A Comprehensive Overview on Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity: Insights into the Underlying Inflammatory and Oxidative Mechanisms*. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2024 Mar 16.

<https://doi.org/10.1007/s10557-024-07574-0>.

IF: 3,1

Börzsei, D., Szabó, R., **Hoffmann, A.**, Harmath, A., Sebestyén, J., Osman, J., Juhász, B., Priksz, D., Varga, C., & Pósa, A. (2021). *Multiple Applications of Different Exercise Modalities with Rodents*. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 3898710.

<https://doi.org/10.1155/2021/3898710>

IF: 7,310

Börzsei D., Szabó R., **Hoffmann A.**, Veszélka M., Pávó I., Turcsán Z., Viczián C., Kupai K., Varga C., Pósa A. (2020). *Distinct Approaches of Raloxifene: Its Far-Reaching Beneficial Effects Implicating the HO-System*. *Biomolecules*, 10(3), 375.

<https://doi.org/10.3390/biom10030375>

IF: 4,879

Szabó R., Szabó Z., Börzsei D., **Hoffmann A.**, Lesi Z. N., Pálszabó P., Pálszabó A., Dvorácskó, S., Gesztelyi R., Kupai K., Priksz D., Juhász B., Altmayer A., Varga C., Pósa A. (2022). *Potential Implications of Rimonabant on Age-Related Oxidative Stress and Inflammation*. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(1), 162.

<https://doi.org/10.3390/antiox11010162>

IF: 7,0

Szabó R., Börzsei D., **Hoffmann A.**, Lesi Z. N., Gesztelyi R., Juhász B., Szebeni G. J., Osman J., Sebestyén J., Nagy A., Szegedi S., Varga C., Pósa A. (2021). *Lifestyle-Induced Redox-Sensitive Alterations: Cross-Talk among the RAAS, Antioxidant/Inflammatory Status, and Hypertension*. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 3080863.

<https://doi.org/10.1155/2021/3080863>

IF: 7,310

Szabó R., Börzsei D., Szabó Z., **Hoffmann A.**, Zupkó I., Priksz D., Kupai K., Varga C., Pósa A. (2020). *A Potential Involvement of Anandamide in the Modulation of HO/NOS Systems: Women, Menopause, and "Medical Cannabinoids"*. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8801.

<https://doi.org/10.3390/ijms21228801>

IF: 5,923

Szebeni G. J., Nagy L. I., Berkó A., **Hoffmann A.**, Fehér L. Z., Bagyánszki M., Kari B., Balog J. A., Hackler L. Jr, Kanizsai I., Pósa A., Varga C., Puskás L. G. (2019). *The Anti-Inflammatory Role of Mannich Curcuminoids; Special Focus on Colitis*. *Molecules*. 2019 Apr 19;24(8):1546.

<https://doi.org/10.3390/molecules24081546>

IF: 2,474

Szabó R., Börzsei D., Kupai K., **Hoffmann A.**, Gesztelyi R., Magyariné Berkó A., Varga C., Pósa A. (2019). *Spotlight on a New Heme Oxygenase Pathway: Testosterone-Induced Shifts in Cardiac Oxidant/Antioxidant Status*. *Antioxidants* (Basel). 2019 Aug 7;8(8):288. <https://doi.org/10.3390/antiox8080288>
IF: 5,014

Tóth E. J., Boros É., **Hoffmann A.**, Szebenyi C., Homa M., Nagy G., Vágvölgyi C., Nagy I., Papp T. (2017). *Interaction of THP-1 Monocytes with Conidia and Hyphae of Different Curvularia Strains*. *Front Immunol*. 2017 Oct 18;8:1369. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01369>
IF: 6,429

Összesített IF: 69,149

13.3 Egyéb szakmai anyagok

13.3.1 A disszertáció témájához kapcsolódó szakmai anyagok

Lesi Z. N., Szabó R., Börzsei D., **Hoffmann A.**, Pálszabó P., Pálszabó A., Magyariné Berkó A., Veszélka M., Turcsán Zs., Gesztelyi R., Juhász B., Kupai K., Varga Cs., Pósa A. (2021) *Az ösztrogén és raloxifen kardiovaszkuláris hatásai idős nőstény patkányokban*. *Magyar Klinikai Farmakológusok XXIII. Online Továbbképző Napok (Debrecen, 2021. 12. 02-04.)*

Szabó R., Börzsei D., **Hoffmann A.**, Magyariné Berkó A., Szász A., Lesi Z. N., Pálszabó A., Pálszabó P., Varga Cs., Pósa A. (2022) *A táplálkozás és a szabadidős testmozgás hatásának biokémiai vizsgálata stroke hajlamú, spontán hipertóniás patkányokban*. (2022) *Magyar Sporttudományi Társaság XIX. Országos Sporttudományi Kongresszusa. (Szeged, 2022.06.08. - 2022.06.10.)*

13.3.2 Egyéb szakmai anyagok

Börzsei D., Hoffmann A., Kiss. V., Sugár. A., Neuperger P., Szebeni G., Bagyánszki M., Barta B., Almási N., Veszélka M., Török Sz., Varga Cs., Szabó R. (2023) *A PCOS gyulladáso hátterének vizsgálata és terápiás megközelítése. A Magyar Szabadgy kkutató Társaság XII. Kongresszusa. (Martonvásár, 2023.08.24. – 2023.08.25.)*

Pálszabó P., Szabó R., B rzs i D., **Hoffmann A.**, Magyariné Berkó A., Szász A., Lesi Z. N., Pálszabó A., Varga Cs., Pósa A. (2022) *A szabadidős testmozgás kardioprotektív hatásainak vizsgálata miokardiális infarktuson átesett ösztrogénhiányos patkánymodellben. Magyar Sporttudományi Társaság XIX. Országos Sporttudományi Kongresszusa. (Szeged, 2022.06.08. - 2022.06.10.)*

Szabó R., B rzs i D., **Hoffmann A.**, Lesi Z. N., Pálszabó P., Pálszabó A., Magyariné Berkó A., Veszélka M., Turcsán Zs., Gesztelyi R., Juhász B., Sebestyén J., Szebeni G. J., Kupai K., Varga Cs., Pósa A. (2021) *Az életmód hatásainak biokémiai változásai stroke hajlamú spontán hipertóniás patkányokban: A gyullad s és az oxidatív stressz hatása a RAAS  tvonalra. Magyar Klinikai Farmakológusok XXIII. Online Továbbképző Napok (Debrecen, 2021. 12. 02-04.)*

B rzs i D., Osváth P., Sz cs M., Juhász B., Priksz D., Szabó R., **Hoffmann A.**, Veszélka M., Lesi Z. N., Pálszabó A., Pálszabó P., Sebestyén J., Kupai K., Varga Cs., Pósa A. (2021) *A sport andrológiai hatásainak vizsgálata: Az  sz s-mediálta hatások az izopoterenol-kezelt h m patkányok oxidatív és gyulladásos paramétereire. Magyar Klinikai Farmakológusok XXIII. Online Továbbképző Napok (Debrecen, 2021. 12. 02-04.)*