

Doktori értekezés

Természetes és mesterséges hormonhiány kiváltotta kardiovaszkuláris változások és terápiás lehetőségei patkánymodellben

Matvon Denise

Témavezetők:

Dr. Pósa Anikó, egyetemi docens

Dr. Szabó Renáta, egyetemi adjunktus

Biológia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem

Természettudományi és Informatikai Kar

Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék



Szeged

2022

1. Tartalomjegyzék

1. Tartalomjegyzék.....	1
2. Rövidítések jegyzéke.....	3
3. Bevezetés.....	6
4. Irodalmi áttekintés.....	6
4.1. Nemi hormonok szabályozása és szerepük a szív- és érrendszerben	6
4.2. Férfi nemi hormonok biológiája és szerepük a szív- és érrendszerben	8
4.3. Női nemi hormonok biológiája és szerepük a szív- és érrendszerben.....	10
4.4. Az öregedés szisztémás hatásai	13
4.4.1. Öregedés hatása a hormonális folyamatokra	13
4.4.2. Gyulladásos folyamatok.....	14
4.4.3. Oxidáns-antioxidáns folyamatok változásai	16
4.5. Az öregedés kardiovaszkuláris hatásai	18
4.6. Terápiás lehetőségek a szív- és érrendszeri betegségek megelőzésére	20
4.6.1. Ösztrogénpótlás	20
4.6.2. Tesztoszteronpótlás	21
4.6.3. Rendszeres testmozgás, mint nem farmakológias alternatív terápia lehetőség	23
5. Célkitűzések	25
6. Anyagok és Módszerek	26
6.1. A tesztoszteron hem-oxigenáz (HO) rendszer által közvetített antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatásai szívben	26
6.1.1. Kísérleti protokoll.....	26
6.1.2. HO enzim aktivitásának mérése szívszövetből.....	27
6.1.3. Glutation (GSH+GSSG) tartalom meghatározása szívszövetből	28
6.1.4. Hem-oxigenáz-1 (HO-1), tumor nekrosis faktor- α (TNF- α), ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) szintjének meghatározása szívszövetből	28
6.1.5. Mieloperoxidáz (MPO) aktivitás mérése szívszövetből	29
6.1.6. Szérum tesztoszteron, glutamát-oxálacetát-aminotranszferáz (GOT), glutamát-piruvát-aminotranszferáz (GPT) koncentrációjának meghatározása	29
6.1.7. Fehérjetartalom mérése Bradford-módszerrel	29
6.1.8. Statisztikai analízis	29

6.2. A testmozgás hatása az öregedés okozta, szívfunkcióban történő változásokra, hím és nőstény patkányban	30
6.2.1. Kísérleti protokoll	30
6.2.2. Iszkémia-reperfúziós sérülés modellezése Langendorff perfúziós rendszerrel	30
6.2.3 Infarktusos terület meghatározása	31
6.2.4. Katekolamin o-metil transzferáz (Comt), oszteoglicin (Ogn), Purkinje-protein 4 (Pcp4) és endothélsejt specifikus molekula-1 (Esm1) koncentráció meghatározása szívszövetből	31
6.2.5. Fehérjetartalom mérése Bradford-módszerrel	31
6.2.6. Statisztikai analízis	31
7. Eredmények	32
7.1. A tesztoszteron HO-rendszer által közvetített antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatásai szívbén	32
7.1.1 A szérum tesztoszteron, GOT, GPT szintjének változásai	32
7.1.2. A szív HO aktivitásának és HO-1 koncentrációjának változásai	33
7.1.3. A szív GSH szintjének változásai	34
7.1.4. A szív cGMP koncentrációjának változásai	35
7.1.5. A szív MPO aktivitásának változásai	36
7.1.6. A szív TNF- α koncentrációjának változásai	37
7.2. A testmozgás hatása az öregedés okozta, szívfunkcióban történő változásokra, hím és nőstény patkányokban	38
7.2.1. Infarktusos terület nagysága	38
7.2.2. Comt koncentráció a szívbén	39
7.2.3. Ogn koncentráció a szívbén	40
7.2.4. Pcp4 koncentráció a szívbén	41
7.2.5. Esm1 koncentráció a szívbén	42
8. Diskusszió	43
9. Összefoglaló	51
10. Summary	54
11. Köszönetnyilvánítás	57
12. Irodalomjegyzék	58
13. Tudományos közlemények listája	69

2. Rövidítések jegyzéke

AF: aktiválási funkció

AR: androgén receptor

ARE: androgén válaszelem

BK: bal kamra

CaCl₂: kalcium-klorid

CAMKII: Ca²⁺/kalmodulin protein kináz

CAS: kasztrálás

cGMP: ciklikus guanozin-monofoszfát

CIPR: ciproteron-acetát

CO: szén-monoxid

Comt: katekolamin o-metil transzferáz

CRP: C-reaktív fehérje

CTRL: kontroll

CVD: kardiovaszkuláris betegségek

DAG: diacil-glicerol

DBD: DNS-kötő domén

DHT: 5- α -dihidrotesztoszteron

DNS: deoxiribonukleinsav

DTT: ditiotreitol

E₂: 17 β -ösztadiol

ECM: extracelluláris mátrix

EF: ejekciós frakció

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ER: ösztrogén receptor

ERE: ösztrogén válaszelem

ERK: extracelluláris szignál-regulált kinázok

Esm1: endothélsejt specifikus molekula-1

FSH: follikulus stimuláló hormon

GH: növekedési hormon

GnRH: gonadotropin-felszabadító hormon

GOT: glutamát-oxálacetát-aminotranszferáz

GP_{ER}: G-proteinhez kapcsolt ösztrogénreceptoron

GPT: glutamát-piruvát-aminotranszferáz

GP_x: glutation peroxidáz

GR: glutation reduktáz

GSH: redukált glutation

GSSG: oxidált glutation

H₂O₂: hidrogén-peroxid

HETAB: hexadecil-trimetil-ammónium-bromidot

HO: hem-oxigenáz

HO-1: hem-oxigenáz-1

HPG: hipotalamusz-hipofízis-gonád tengely

HT: hormonpótlás

IGF-1: inzulinszerű növekedési faktor-1

IL: interleukin

IP₃: inozitol trifoszfát

I/R: iszkémia reperfüzió

KCl: kálium-klorid

KH₂PO₄: kálium-foszfát

LAD: bal leszálló koronária artéria

LH: lutenizáló hormon

LVM: bal kamra tömeg

MAPK: mitogén-aktivált protein kináz

MgSO₄: magnézium-szulfát

MI: miokardiális infarktus

MMP: mátrix metalloproteinázok

MPO: mieloperoxidáz

NaCl: nátrium-klorid

NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát

NaHCO₂: nátrium-hidrogén-karbonát

NFκB: nukleáris faktor kappa B

NLS: nukleáris lokalizációs szignál

NO: nitrogén-monoxid

NOS: nitrogén-monoxid-szintáz

O₂⁻: szuperoxid gyök-anion

Ogn: oszteoglicin

PBS: foszfát puffer

Pcp4: Purkinje-protein 4

PKA: protein kináz A

PKC: protein kináz C

RONS: reaktív oxigén- és nitrogén származékok

ROS: reaktív oxigén származék

SERM: szelektív ösztrogénreceptor-modulátor

SO: áloperálás

SOD: szuperoxid-dizmutáz

T: tesztoszteron

TNF-α: tumor nekrosis faktor-alfa

TPT: tesztoszteronpótló terápia

TSH: tireotropin hormon

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

VEGF: vaszkuláris endoteliális növekedési faktor

WHO: Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization)

3. Bevezetés

A WHO (Egészségügyi Világszervezet) adatai szerint vezető halálokoként számontartott szív- és érrendszeri betegségek (CVD) kialakulását az emberi szervezet exogén és endogén faktorok által befolyásolt patológiás változásai, valamint a nemek közti különbségek is meghatározzák [1]. Jól ismert tény, hogy a CVD-k megjelenési és lakosságon belüli aránya meredeken nő az életkor előrehaladtával férfiak és nők körében egyaránt, azonban a fertilis korú nők a statisztikák szerint védettebbek az előbb említett betegségekkel szemben, az ellenkező nemhez képest [2]. A kardiovaszkuláris rizikó háttérében megbúvó hormonális folyamatok és patomechanizmusok feltérképezése, napjainkban egy igen intenzíven kutatott terület. Egy, a kutatócsoportunk által korábban végzett tanulmány során már bizonyítottuk a női nemi hormonok kardioprotektív hatásait állatmodellben [3], jelen dolgozat témája azonban elsősorban a férfi nemi hormonok szívben kifejtett antioxidáns és gyulladáscsökkentő szerepét helyezi előtérbe, ugyanakkor az öregedéssel járó, szív funkciójában bekövetkező változások háttérét hivatott tanulmányozni mindkét nemből.

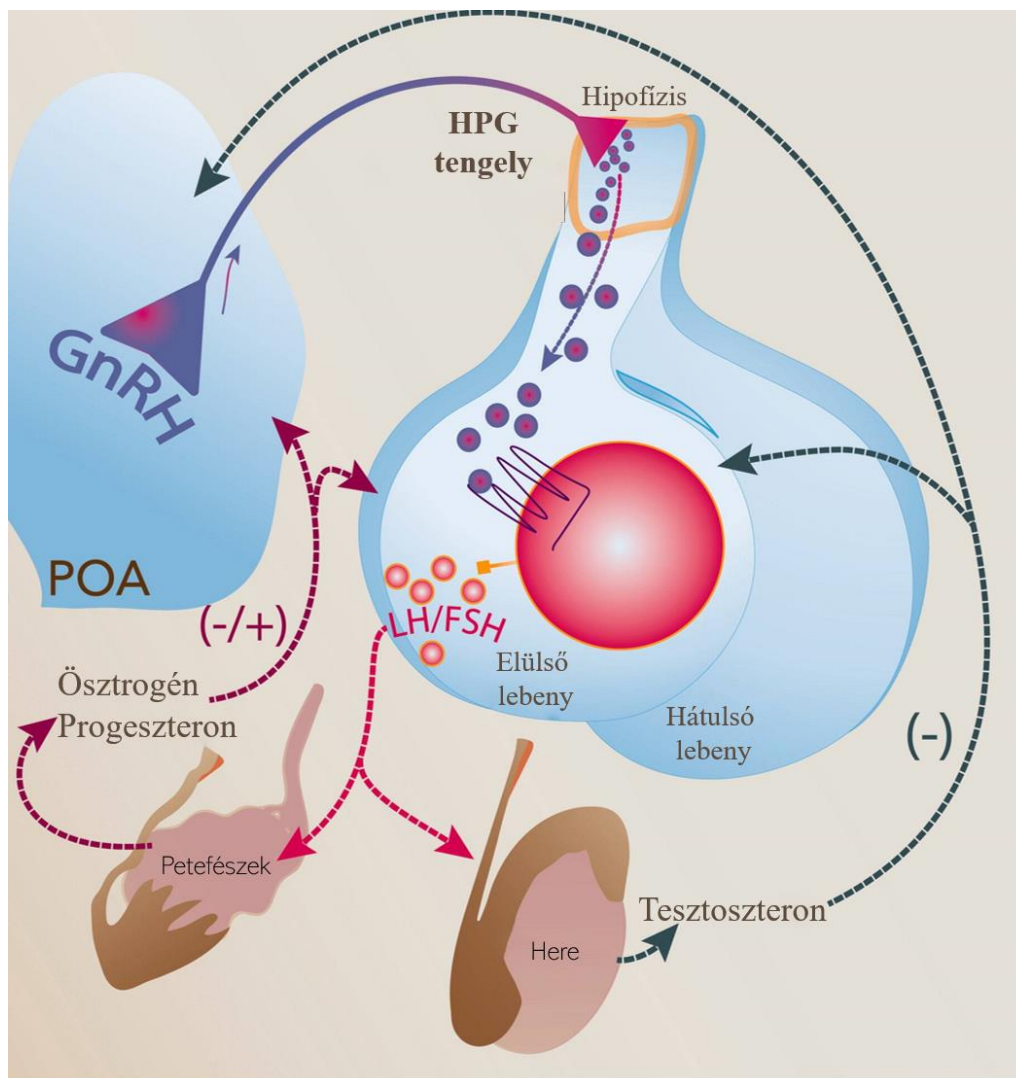
4. Irodalmi áttekintés

4.1. Nemi hormonok szabályozása és szerepük a szív- és érrendszerben

A nemi hormonok koleszterin eredetű szteroid hormonok, melyeknek két fő csoportját az androgének és az ösztrogének alkotják és döntő többségben a nemiszervek által termelődnek [4]. Általánosságban elmondható, hogy a két nemből különböző mértékben fejeződnek ki és az emberi szervezetben rendkívül széleskörű biológiai hatással bírnak. Termelődésük pozitív és/vagy negatív visszacsatolással, a hipotalamusz-hipofízis-gonád (HPG) - tengely által szigorúan szabályozott [5]. A hipotalamusz által termelt és felszabadított gonadotropin-felszabadító hormon (GnRH) serkenti az agyalapi mirigy gonadotrop hormonjainak - a luteinizáló hormon (LH) és follikulus stimuláló hormon (FSH) -felszabadulását, melyek szabályozzák az ivarszervek hormontermelését (1. ábra) [6].

A nemi hormonok magától értetődő feminizáló és maszkulinizáló hatásai mellett a szív- és érrendszerben expresszálandó szteroid receptorokkal való kölcsönhatásaik és metabolikus hatásaik révén létfontosságú szerepet játszanak a szív egészségében. Kifejeződésük mértéke az életkortól függően és különböző patológiás állapotok eredményeképpen csökkenhet, mely

folyamat összefüggésbe hozható a CVD-k kialakulásának kockázatával. Kutatások bizonyították, hogy nők esetében a menopauzát megelőző normál ösztrogénszinttel jellemezhető hormonális állapot csökkentheti bizonyos betegségek, úgy, mint a cukorbetegség, magas vérnyomás, vagy a stroke kockázatát [7]. Hasonlóképpen, a fiziológias tesztoszteronszint is összefüggésbe hozható különböző krónikus betegségek, többek között a CVD-k alacsonyabb incidenciájával [8].



1. ábra: Nemi hormonok termelődésének szabályozása

GnRH: gonadotropin-felszabadító hormon, HPG: hipotalamusz-hipofízis-gonád, LH: luteinizáló hormon, FSH: follikulus stimuláló hormon, POA: hipotalamusz preoptikus területe

Forrás: Oyola és munkatársai nyomán [5]

4.2. Férfi nemi hormonok biológiája és szerepük a szív-és érrendszerben

Férfi szervezetben az FSH elsődlegesen a spermiumok képzésében vesz részt, míg az LH a Leydig-sejtekben végbemenő szteroidszintézist szabályozza. A HPG-tengely egy szigorúan szabályozott, visszacsatolt rendszer. LH nélkül a Leydig-sejtek androgén hormonjainak szekréciója teljesen megszűnik, ugyanakkor a here hormontermelése negatív visszacsatolással képes szabályozni a felsőbb szintek hormonelválasztását [9]. Az androgénhormonok a Leydig-sejtekben koleszterinből képződő C_{19} -szteroidok, szintézisük végső lépése során androszténdion (gyengébb hatású androgén) keletkezik, mely a 17-hidroxiszteroid-dehidrogenáz 3 (17HSD3) enzim közreműködésével tesztoszteronná alakul. A tesztoszteron nagy része az 5-alfa-reduktáz enzim által egy biológiailag sokkal aktívabb formává, 5- α -dihidrotesztoszteronná (DHT) alakul. Míg a DHT már egy valódi végtermék, addig a tesztoszteron további átalakuláson képes átesni a perifériás szövetekben az aromatáz enzim által. A folyamat eredményeképpen létrejövő 17β -ösztradiol (E_2) fontos szereppel bír a spermatogenezisben. Fontos megemlíteni, hogy a Leydig-sejtek mellett a mellékvesekéregben is történik csekély, de mégsem elhanyagolható mértékű androgén expresszió [10]. Az androgénszekréció a születést követő 1 évben minimális szintre csökken, ugyanis a GnRH-szekréció központi idegrendszeri gátlás alá kerül egészen a pubertáskorig. A nőkkal ellentétben, a férfiak szexuálhormon-termelése a kor előrehaladtával sem szűnik meg, csupán mérséklődik a Leydig-sejtek fokozatos eltűnése miatt [11].

Az androgének vagy lokálisan fejtik ki hatásukat a here Sertolli-féle sejtjeiben, vagy a véráramba kerülve egy ún. tesztoszteronkötő globulinhoz kapcsolódva diffundálnak a szervezetben [12]. Hatásukat egyfajta nukleáris receptorhoz, az androgén receptorhoz (AR) kötődve fejtik ki; receptorhoz való affinitásuk mértéke miatt viszont a DHT-nak nagyobb jelentőséget tulajdonítanak az androgénhatásokban. Az AR tulajdonképpen egy ligandumaktivált transzkripció faktor, melyet az X kromoszómán lokalizálódó AR gén kódol, és számos szövetben (csontok, izom, prosztatata, szív) expresszálódik szerte a szervezetben. Felépítését tekintve 3 fő funkcionális doménnal rendelkezik: az N-terminális transzkripció-aktiváló doménnal, a dezoxiribonukleinsavat (DNS) kötő doménnal (DBD) és a ligandumkötő doménnal. Az előbb említett doménok közül az N-terminális a legvariábilisabb, míg a DBD a legkonzerváltabb. A DBD-ben a specifikus DNS szekvenciák felismeréséért felelős szerkezeti motívum két cink ujj, melyek megkönnyítik az androgénreceptor közvetlen DNS-kötését az AR által szabályozott gének promóter és enhancer régióihoz, lehetővé téve ezáltal, hogy az N-terminális és ligandumkötő domének stimulálják vagy elnyomják az említett gének

transzkripcióját. Ezt a mechanizmust a domének felületén elhelyezkedő aktiválási funkciót (AF) betöltő régiók biztosítják, nevezetesen az AF-1 és AF-2. Az AF-1 elsődleges feladata a koaktivátor fehérjék toborzása, valamint a géntranszkripció aktiválása. Az AF-2 pedig nélkülözhetetlen, hogy a ligandumkötő doménhez csatlakozott szteroid hatására létrejövő fehérjefelszín eredményeképpen a különböző koregulátor (aktivátor/represszor) fehérjék egymáshoz kapcsolódjanak. Az így létrejövő fehérjekomplex bemutatása az AF-1 régiónak szintén az AF-2 régió közreműködésével valósul meg, vagyis az N-terminális és a ligandumkötő domének közötti közvetlen kölcsönhatások közvetítésében játszik kulcsszerepet. A koaktivátorok olyan fehérjék, melyek elősegítik a különböző transzkripciós faktorok AR-ral történő kapcsolódását, ily módon hidat képeznek az ribonukleinsav-polimerázhoz (RNS-polimeráz) ezzel lehetővé téve a génátírás iniciációját. A ligandumfüggő AR-hatásnak két különböző, a DNS-kötéstől függő vagy független (más néven genomikus vagy nem genomikus) mechanizmusa van [13].

A genomikus útvonal lényege, hogy ligand hiányában az AR a sejt citoplazmában helyezkedik el, hősokkfehérjékkel és más chaperonokkal körülvéve. Az androgének AR-hez történő kötődése konformációs változást, a chaperonok disszociációját és a nukleáris lokalizációs szignál (NLS) expozícióját (mely fehérjék sejtmagba történő transzlokációjához szükséges szekvencia) eredményezi. Az androgén/AR komplex a sejtmagba transzlokálódik, ahol dimerizálódik, és a klasszikus célgénekben lévő androgén válaszelemhez (ARE) kötődik, hogy módosítsa a géntranszkripciót. Az androgénhez kötött AR transzkripciós aktivitását a korábban említett koregulátorok modulálhatják. A koregulátorok ligandfüggő módon kötődnek az aktivált AR-hez, hogy a kromatin átalakításán és hisztonmódosulásokon keresztül fokozzák (koaktivátor) vagy elnyomják (korepresszor) a célgén transzaktiválására való képességét, valamint részt vesznek a transzkripciós gépezet toborzásában [14].

A nem genomikus útvonal során az androgének hatására a sejtekben másodperceken-perceken belül létrejövő válaszreakció következik be, mely folyamat túl gyors ahhoz, hogy az AR DBD-hez kapcsolódó célgének transzkripciójának és transzlációjának eredményeképpen keletkezzen. A nem genomikus útvonal során bekövetkező androgén-közvetítette hatásokról és azok hátterében megbúvó molekuláris folyamatokról szóló ismereteink még hiányosak, azonban számos kutatás igazolt már olyan útvonalakat, melyek minden bizonnyal a nem genomikus útvonalnak tulajdonítható. Az androgének különböző protein kinázokra hatva, másodlagos hírvivők és szignalizációs kaszkádok aktiválásával létrejövő szignáltranszdukciós folyamat során is képesek hatást kifejteni. Aktiválhatják a foszfolipáz C-t, az inozitol 1,4,5- trifoszfátot

(IP3) és a diacil-glicerolt (DAG), mely elindítja az intracelluláris kalcium felszabadulását és a protein kináz C (PKC) aktiválását. A tesztoszteron G-protein receptorokhoz való kötődésen keresztül az extracelluláris szignál-regulált kinázok (ERK) foszforilációhoz vezet, a PKC és Src kináz bevonásával zajló mechanizmusok révén. Az AR-ral való kölcsönhatáson keresztül az androgének aktiválják az L-típusú kalciumcsatornákat is, amelyek növelik az intracelluláris kalciumszintet, aktiválják a PKC-t és a kalmodulinon keresztül aktiválják a protein kináz A (PKA) és a mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) útvonalakat (2. ábra) [15].

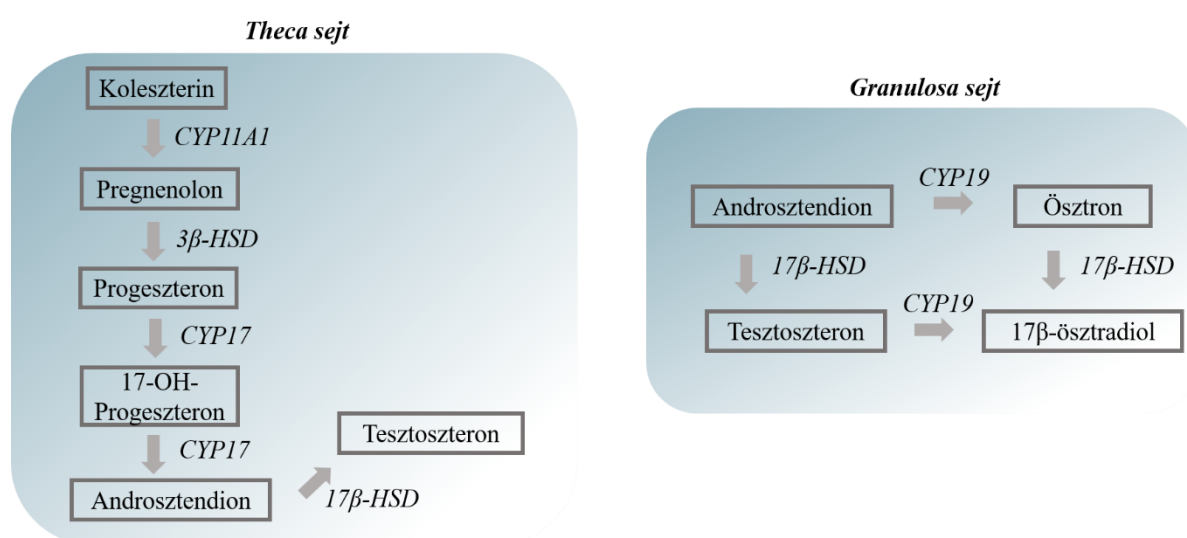
Az AR kardiomiocitákon és ereken történő nagyfokú disztribúciójának köszönhetően a genomikus és nem genomikus hatásai révén kardioprotektív tulajdonsággal bír. Bizonyították, hogy a tesztoszteron endotélium-független módon képes vazodilatációt előidézni az L- és T-típusú kalcium csatornák gátlásán keresztül [16], valamint, hogy csökkentheti a miokardiális infarktus (MI) kialakulásának esélyét és protektív hatással bírhat iszkémiás sérülések ellen [17]. Tanulmányok alátámasztják, hogy a tesztoszteron a gyulladásos és antioxidáns folyamatok modulálásán keresztül is hozzájárul a CVD-k megelőzéséhez. Hatékonyan képes csökkenteni bizonyos gyulladásos citokinek, úgy, mint a tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- α) vagy az interleukin-1-béta (IL-1 β) szintjét a szervezetben [18]. Klinikai tanulmányok szerint, azon férfiak, akiknek a tesztoszteronszintje valamivel az átlag felett van, kisebb valószínűséggel esnek a hipertónia, miokardiális infarktus vagy kóros obezitás áldozatává; ugyanakkor a 8 nmol/l-nél alacsonyabb tesztoszteronszintű férfiaknál kétszer nagyobb volt a halálozás kockázata az eugonadális férfiakhoz képest [19, 20].

Bizonyítást nyert továbbá az is, miszerint az androgének nem csupán az AR-eken, de az ösztrogén receptorokon (ER) keresztül is képesek indirekt módon hatni. Az androgének ösztrogénekké történő átalakulással léphetnek kapcsolatba az ER-rel, mely felveti azt a feltételezést, hogy egyes androgénhatások potenciálisan, közvetett módon, az ER által is érvényesülhetnek [21].

4.3. Női nemi hormonok biológiája és szerepük a szív-és érrendszerben

Női szervezetben a hipotalamusz által szabályozott LH és FSH közvetlenül szabályozza a petefészek működését egészen a tüszőérésig a női nemi hormonok termeléséig. Az ösztrogénhormonok ugyancsak koleszterinből képződő, C₁₈-szteroidok, szintézisük a petefészek két különböző sejtjében valósul meg, a theca- és granulosa-sejtek összehangolt kommunikációjának eredményeképpen. A theca sejtekben történik a szteroid hormon szintézis

kezdeti fázisa egészen az androsztendion/tesztoszteron képződésig. A koleszterinből először pregnenolon, progeszteron és 17-OH-progeszteron, majd a citokróm P450-17 (CYP17) és a béta-hidroxiszteroid-dehidrogenáz (β -HSD) enzimek közreműködésével androsztendion és tesztoszteron keletkezik. Azonban mivel a theca sejtekben nem található aromatáz (CYP19) enzim, így az androgének aromatizálódása, tehát az ösztron és 17β -ösztradiol képződése már a granulosa sejtekben megy végbe [22] (2.ábra). Az ösztrogének szintézisében a petefészek mellett a mellékvesekéreg is részt vesz, melyben ezzel párhuzamosan kismértékű androgénszekréció is történik. Az öregedéssel együtt járó menopauzás állapot során a petefészek hormontermelése a nullához konvergál, azonban a mellékvesekéreg minimálisan, továbbra is termel szexuáliszteroidokat [23].



2. ábra: Szteroid hormonok szintézise a petefészekben

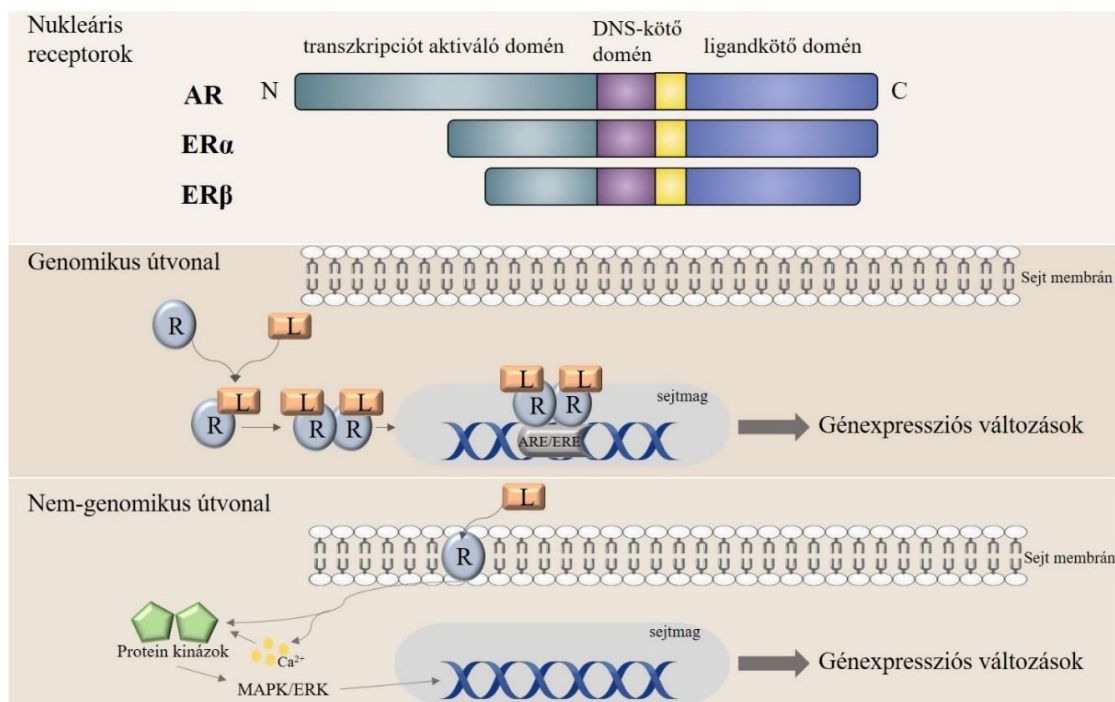
CYP11A1: citokróm P450-11A1, 3β -HSD: 3-béta-hidroxiszteroid-dehidrogenáz, CYP17: citokróm P450-17, CYP19: aromatáz, 17β -HSD: 17-béta-hidroxiszteroid-dehidrogenáz

Forrás: saját szerkesztés

Az ösztrogének szintén szexuálhormon-kötő fehérjéhez kötötten vannak jelen a plazmában, az ER-on keresztül pedig az androgénekhez hasonlóan, genomikus és nem genomikus mechanizmusok révén széleskörű hatással bírnak az egész szervezetben [24]. Nukleáris receptor lévén az ER-k felépítése az N-terminális transzkripció-aktiváló, a DBD és a ligandumkötő doménok meglétével nagyban hasonlít AR-hoz. Az ER-k közül az ER α és ER β a szív- és érrendszerben történő disztribúciójának köszönhetően, mind genomikus, mind nem genomikus útvonalakon keresztül hozzájárul a kardiovaszkuláris homeosztázis fenntartásához

[25]. A genomikus útvonal során az ösztrogén-aktivált ER homodimerként kötődik a célzott promóterekben lévő ösztrogén válaszelemhez (ERE) vagy közvetve más transzkripciós faktorokkal, amelyek az aktivált ER-t a DNS-hez kötik [26]. Ez a mechanizmus jellemzően órákon belül bekövetkezik, mely végeredményben különböző gének up- vagy downregulálódásához vezet. Az ösztrogén azonban a gyors, nem genomikus útvonal aktiválásával percek vagy másodpercek alatt is képes hatni az ER-ek extranukleáris és membrán-asszociált formáin és a G-proteinhez kapcsolt ösztrogénreceptoron (GPER) keresztül. Ez a folyamat különböző ioncsatornák és fehérje kinázok aktiválását fogja eredményezni (3. ábra). Bár a reprodukciós funkciókat többnyire a klasszikus nukleáris ER-ek közvetítik, amelyek ligandum-aktivált transzkripciós faktorokként működnek, az energiaanyagcserével és a kardiovaszkuláris rendszert érintő ER-hatások nagy része extranukleáris receptorokat is érint, amelyek közvetve modulálhatják a génexpressziót, illetve a nukleáris eseményektől függetlenül hatnak [27].

Korábbi vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az ösztrogén közvetítette antioxidáns, anti-proliferatív, gyulladáscsökkentő és vazodilatív hatások korrelációba hozhatók a szexuálhormon szintjével, és ennek vitális szerepe van a kardioprotekcióban [3, 28].



3.ábra: Nukleáris receptorok felépítése és a nemi hormonok által kiváltott genomikus és nem genomikus útvonalak

AR: androgén receptor, ER α : ösztrogén receptor α , ER β : ösztrogén receptor β , N: N terminális, C: C terminális, R: receptor, L: ligandum (tesztoszteron/ösztrogén), ARE: androgén válaszelem, ERE: ösztrogén válaszelem, MAPK: mitogén-aktivált protein kináz, ERK: extracelluláris szignál-regulált kinázok, Ca²⁺: kalcium

Forrás: saját szerkesztés

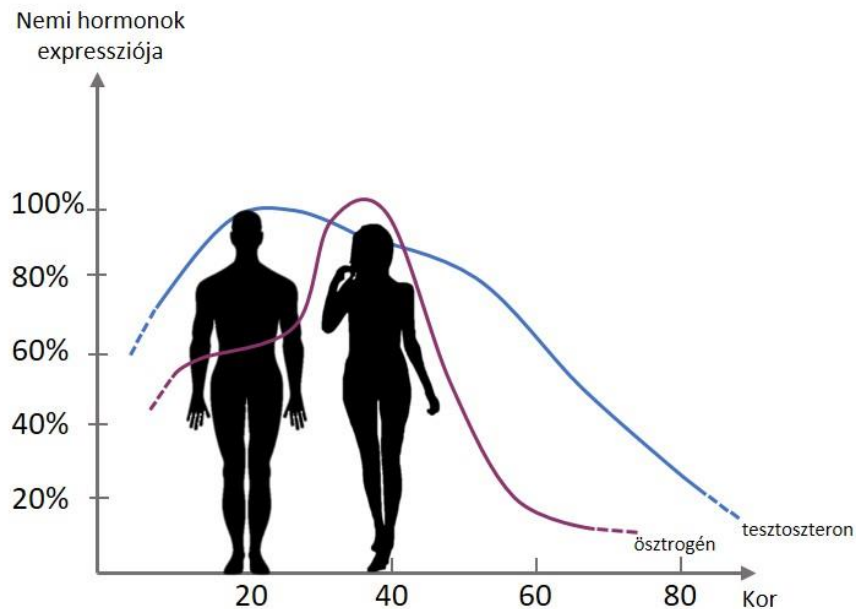
4.4. Az öregedés szisztémás hatásai

4.4.1. Öregedés hatása a hormonális folyamatokra

A kor előrehaladtával, magától értetődő módon az endokrin rendszer élettani működésében változások következnek be. A tireotropin hormon (TSH), LH és FSH kivételével, amely az életkor előrehaladtával általában növekszik, más agyalapi mirigy hormonok, mint a növekedési hormon (GH) és a prolaktin szekréciója fokozatosan csökken az öregedéssel. Ugyanez történik az inzulinszerű növekedési faktor-1 (IGF-1) esetében is, illetve a nemi hormonoknál [29].

A reprodukció öregedését általánosságban a nemi mirigyek funkcióvesztése jellemzi, amely a nőknél a menopauza idején ún. „on/off” jelenséggént jelentkezik. A menopauza kezdetével, az utolsó menstruációs ciklusban a plazma ösztradiolszintjének drámai csökkenése következik be, ezzel párhuzamosan az androsztendion ösztromná történő átalakulása válik kiemelkedővé. Az így képződött ösztromnak csupán 5%-a alakul át ösztradiollá a 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz hatására. A menopauzát követő első évben a keletkező ösztrom mennyisége és a hozzá kapcsolódó ösztradiollá történő átalakulás tovább csökken, majd ezt követően stabilizálódik [30]. Az ösztrogén csökkenése mellett, a menopauza velejárója az inhibin B és progeszteron hormonok visszaesése is.

Ettől eltérően, az öregedő férfiaknál a reprodukció fokozatosan, lassan csökken, párhuzamosan a herék működésének évről évre történő visszaesésével. Ennek megfelelően a gonadotropinok szintje a férfiaknál csak enyhén emelkednek, míg a nőknél a menopauza idején határozottan megugranak. Férfiakban a szérum tesztoszteron szintje az életkor előrehaladtával fokozatosan csökken, a becslések szerint a harmadik évtizedtől kezdve évente körülbelül 1-2 %-kal, így egy férfi egyén 75 éves korára már elveszíti a 25 éves korában keringő tesztoszteron mennyiségének mintegy 30-40 %-át (4. ábra) [31].



4. ábra: Nemi hormonok expressziójának csökkenése az életkor függvényében

Forrás: saját szerkesztés

Az alacsony nemi hormon szintet régóta összefüggésbe hozzák különböző krónikus megbetegedések előfordulási gyakoriságával és progressziójával. A menopauza utáni kardiovaszkuláris események előfordulásának drámai növekedését egyértelműen a csökkent ösztrogénszintnek tulajdonítják az irodalomban [28, 32, 33]. Ösztrogén deficiencia ugyanis fokozza a szénhidrát- és lipidanyagcsere rendellenességeket, valamint a viscerális elhízás kialakulásának esélyét, ezáltal az érrelmeszesedésre és magas vérnyomásra való kockázatot is. A menopauza után fellépő hormonhiány negatív hatással van a metabolikus funkciókra, csontok egészségére, és pleiotróp funkcióinak hiányában komoly kockázati tényezőt jelent a CVD-k manifestációjában [34]. Nemkülönböztetve az öregedéssel járó tesztoszteronszintcsökkenés vonatkozásában, a férfiak esetében is megemlíthető a metabolikus szindróma megjelenése. Középkorú férfiaknál is jellemzően megváltozik a testösszetétel, ugyanakkor diszlipidémia, csökkent inzulin szenzitivitás, és hipertónia is megfigyelhető [35].

4.4.2. Gyulladásos folyamatok

A várható élettartam meghosszabbodásával és az idősök növekvő arányával az általános népességben belül, közegészségügyi prioritássá vált az öregedéssel járó folyamatok mélyebb megértése. A 2000-es években Claudio Franceschi egy érdekes hipotézissel állt elő, melynek lényege, hogy az idősebb szervezet hajlamos kialakítani egy krónikus gyulladásos állapotot,

melyet a szövetek és sejtek proinflammatorikus citokinjeinek (TNF- α , IL-1, IL-6) tartósan magas szintje jellemez [36]. Fiziológiásan egy akut gyulladásos folyamat az élő szervezetek alapvető immunológiai védelmi rendszere, mely a fajok túlélésének elősegítése érdekében fejlődött ki különböző káros hatásokkal szemben. Normál körülmények között a különböző védelmi komponensek, köztük az immunsejtek, az endogén anti-inflammatorikus citokinek és a szöveti átalakulási folyamatok szorosan összehangolt tevékenysége teszi lehetővé a kórokozók és a fertőzött sejtek eliminálását, valamint a károsodott szövetek helyreállítását a szervezet homeosztázisának fenntartásának érdekében. Azonban amikor ez az előbb említett gyulladásos kaszkád folyamat kontrollálatlanná válik, huzamosabb ideig perzisztál a szervezetben, krónikus gyulladásról beszélünk.

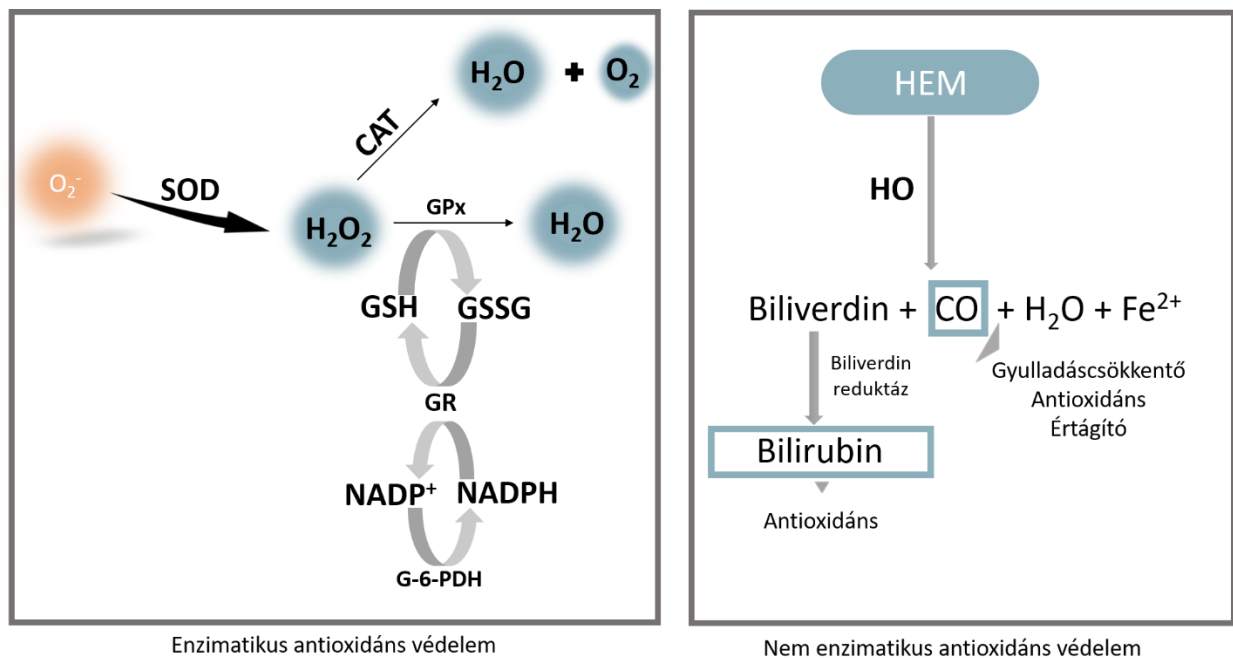
Számos élettartamot befolyásoló biokémiai útvonalat leírtak már az elmúlt évtizedekben különböző organizmusokban, melyek döntő többségben a nukleáris faktor kappa B (NF κ B) szignalizáció aktiválásán keresztül érvényesülnek. Az NF κ B egy fontos dimerikus transzkripciós faktor, amely minden sejt típus citoplazmájában expresszálódik. Alapvető szerepet játszik az öregedéssel kapcsolatos biológiai folyamatokban, többek között az immunválaszban, a gyulladásban, a sejtek túlélésében és a stresszre adott válaszban [37]. Habár az NF κ B aktivációja szükséges a szervezet káros környezeti hatásokkal szembeni védelméhez, az NF κ B diszregulált aktivitása okozható bizonyos krónikus betegség kialakulásáért. Az NF κ B útvonal aktiválódását kiválthatja többek között DNS sérülés, proinflammatorikus citokinek jelenléte és különböző immunsejtek is, mely aktiváció eredményeként nő a gyulladásos citokinek (TNF- α , IL-1 β , IL-6), kemokinek expressziója, valamint változik az immunreceptorok kódoló gének, az antigén prezentációban, a sejtadhézióban, a stresszválaszban szerepet játszó fehérjék és egyéb transzkripciós faktorok kifejeződése is. Az öregedéssel összefüggésbe hozható NF κ B szignalizációból eredeztethető inflammatorikus állapotot fokozott mieloperoxidáz enzim (MPO) aktivitás, megnőtt C reaktív protein (CRP) és TNF- α koncentráció jellemzik [38, 39]. Az öregedés tulajdonképpen a gyulladásos folyamatok progresszív terjedése és mára már világosság vált, hogy a CVD-k és nem utolsósorban számos, az életkorral összefüggő krónikus betegség kockázati tényezője [40]. Továbbá fontos megemlíteni, hogy ez az idült gyulladás ok-okozati összefüggésben áll a sejtek redox-állapotának és a sejthalálhoz kapcsolódó jelátviteli útvonalainak változásaival is [41].

4.4.3. Oxidáns-antioxidáns folyamatok

Harman és munkatársai mutattak rá először arra a feltételezésre, miszerint az öregedés elsődleges oka a reaktív oxigén származékok (ROS) felhalmozódása, az oxidáns-antioxidáns egyensúly felborulása [42]. A szabad gyökök olyan erősen reaktív atomok vagy molekulák, amelyek külső héjukban egy vagy több párosítatlan elektronnal rendelkezve igyekeznek energetikailag stabilabb állapotba kerülni [43]. Ennek érdekében reakcióba lépnek a körülöttük lévő molekulákkal mely folyamat során újabb és újabb gyökök keletkeznek. Reaktív oxigén- és nitrogén származékokat (RONS) minden aerob sejt termel, elsődleges feladatuk az immunvédelemben és különböző jelátviteli folyamatokban nyilvánul meg, de túlzott termelődésük nagyszámú patológiás folyamatot idézhet elő [44]. A RONS-nak vannak endogén és exogén forrásai is. Előbbi többek között a nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH), MPO, lipoxigenáz, angiotenzin II, utóbbi pedig környezeti faktorokat foglal magába, úgy, mint alkohol, nehézfémek, vagy sugárzás [45]. A RONS-ok, legyenek akár exogén akár endogén eredetűek, nagy mennyiségben minden esetben oxidatív módosítást okoznak a főbb sejtszintű makromolekulák (szénhidrátok, fehérjék, lipidek, DNS) mindegyikében [46]. A biomolekulák oxidálódása fehérje denaturálódáshoz, biológiai membránok átrendeződéséhez és DNS sérüléshez vezethet, melyek visszafordíthatatlan károkat okozhatnak az élő szervezetben. Következésképpen tehát a RONS-ok kontroll nélküli termelődése megfelelő antioxidáns védelem nélkül oxidatív stresszt okoz, amely fokozza a degeneratív betegségek kialakulásának esélyét [47].

Az oxidatív sérülések eliminálása érdekében az evolúció során kialakult antioxidáns védelmi rendszer enzimatis és nem enzimatis reakciókkal biztosítja a szervezet integritását (5. ábra). Legfőbb antioxidáns enzimek közé sorolható a szuperoxid-dizmutáz (SOD), kataláz és glutation (GSH) és nem utolsó sorban a hem-oxigenáz (HO) [48]. A SOD a szuperoxid gyök-anion (O_2^-) hidrogén-peroxiddá (H_2O_2) történő átalakulását, míg a kataláz ennek vízre és oxigénre történő bontását katalizálja, így megakadályozva a hidroxilgyökök létrejöttét [49]. A GSH három aminosavból álló tripeptid, melyet a szervezet saját maga képes szintetizálni az oxidatív stressz ellen fellépő elsődleges védelmi vonalaként. Szabad $-SH$ csoportja képes fémionok megkötésére, a glutation peroxidáz (GPx) szubsztrátjaként pedig a H_2O_2 és lipid peroxidok redukálásában vesz részt. A folyamat eredményeképpen a GSH oxidálódva oxidált glutationná (GSSG) alakul, melyet citotoxikus hatása révén a szervezet glutation reduktáza (GR) NADPH-t felhasználva GSH-ná redukálja vissza [50]. A GSH:GSSG arány fiziológiásan 500:1, ennek GSSG irányba történő eltolódása a szervezetben végbemenő oxidatív folyamatok

fokozott intenzitását jelzi [51]. Ezek mellett, nem-enzimatis antioxiánsként fontos megemlíteni a HO katalizálta reakció során képzőő biliverdint, bilirubint. Napjainkig a HO három izoformája került felfedezésre, az indukálható HO-1 és két konstitutív forma, a HO-2 és a HO-3 [52]. Fiziológias körülmények között a HO-1 minden szövetben és szervben alapszinten expresszálódik, ámbár ahogyan elnevezéséből is adódik, kifejezőésének mértékét számos külső faktor (ROS, hipoxia, nitrogén monoxid (NO), citokinek) tovább növelheti. P450 reduktáz és NADPH jelenlétében a HO katalizálja a hem lebontását, melynek eredményeképpen biliverdin, vas és szén monoxid (CO) keletkezik [53]. A biliverdin a biliverdin-reduktáz segítségével bilirubinná alakul. Az oxigényőők, a NADPH-oxidáz és az adhéziós molekulák csökkentésével a bilirubin hatékony védelmet nyújt az oxidatív mechanizmusokkal szemben. Friss kutatások azonban a HO aktivitásával kapcsolatban nem csak a bilirubin/biliverdin redox ciklusnak tulajdonítanak antioxiáns szerepet, hanem a CO-nak is [54]. A HO rendszer antioxiáns hatásai mellett bizonyítottan gyulladáscsökkentő és antiapoptotikus tulajdonságokkal is bír. Képes csökkenteni több gyulladáskeltő mediátor expresszióját, ezzel párhuzamosan pedig növelni az anti-inflammatorikus citokinek termelődését [55]. A sokoldalú CO az előbb felsorolt pozitív tulajdonságain kívül hatékony vazorelaxáns is; a szolubilis guanilat-cikláz és a ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) útvonalak indukálásával értágulatot okoz [56]. Számos tanulmány bizonyította, hogy a szervezet oxidatív stresszel szembeni toleranciája az antioxiáns védelem hanyatlása miatt az életkor előrehaladtával drámaian csökken. Ennek következtében fokozódik a DNS sérülés mértéke, mely alapján véve befolyásolja a génexpressziót. A permanens oxidatív sérülések végérvényesen befolyásolják a sejtek genomját, ezzel genom instabilitást okozva [57]. Az irodalomban azonban találunk példát arra is, ahol az antioxiáns védelem indukálása és az élettartam hossza között pozitív korrelációt véltek felfedezni [58, 59]. Mindent összevetve elmondható, hogy az antioxiáns-oxidáns egyensúly felbomlásának eredménye egy prolongáló patológias láncfolyamat, mely fokozza a krónikus betegségek incidenciáját és manifesztációját [60].



5. ábra: Enzimatisukus és nem enzimatisukus antioxidáns védelem a szervezetben

$O_2^{\cdot -}$: szuperoxid gyök-anion, SOD: szuperoxid dizmutáz, H_2O_2 : hidrogén-peroxid, CAT: kataláz, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, GPx: glutation peroxidáz, GR: glutation reduktáz, $NADP^+$: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát, NADPH: redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát, G-6-PDH: Glükóz-6-foszfát dehidrogenáz, CO: szén-monoxid, HO: hem-oxigenáz, H_2O : víz, Fe^{2+} : vas(II)-ion

Forrás: saját szerkesztés

4.5. Az öregedés kardiovaszkuláris hatásai

Az öregedést kísérő inflammatorikus, oxidatív és hormonális folyamatok önmagukban is kockázati tényezőnek tekinthetők kardiológiai szempontból. A szív öregedését először molekuláris és sejtes változások jellemzik, amelyek azután strukturális, morfológiai és funkcionális eltérésekhez vezetnek [61]. A fajok széles skáláján a szív öregedésével bekövetkező élettani változások közé tartozik a szimpatikus jelátvitelben és szívfrekvencia-variabilitásban bekövetkező csökkenés. Mielőtt a szív teljesítményében érzékelhető hanyatlás következne be, a bal kamra (BK) diasztolés töltési sebessége egyre csökkenni kezd, amit a szív az artériás összehúzódás fokozásával próbál kompenzálni, hogy fenntartsa a pulzustérfogatot és a munkaterhelést, biztosítva ezzel a megfelelő ejekciós frakciót (EF). A korral azonban az BK kontraktilitása, az EF, valamint a szívfrekvencia szimpatikus modulációja és a β -adrenerg

receptor aktiválására adott válasz mind csökken [62, 63]. A szív teljesítményének életkorral járó csökkenése miatt a szívizom az izomtömeg növelésével (hipertrofia) próbál kompenzálni és habár ez rövid távon fokozhatja a szívfunkciót, hosszú távon azonban drasztikusan rontja azt [64, 65]. A hipertrofizált kardiomiociták megnövekedett oxigén- és energiaigénye alacsony oxigénszintű környezetet teremt, ahol fokozódik a szabad gyökök termelődése, károsítva a különböző sejtorganelumokat. A molekuláris változások előbb-utóbb a sejtfunkciók károsodásához vezetnek, beleértve az apoptotikus vagy nekrotikus útvonalak upregulálását, illetve a hipoxiás környezetre válaszul a kardiomiociták proinflammatorikus citokineket és kemokineket is szabadítanak fel, amelyek immunválaszt serkentve növelik a makrofágok számát a BK-ban [66, 67].

A makrofágok a mátrix metalloproteinázok (MMP-k), azaz az extracelluláris mátrix (ECM) katabolizmusában részt vevő proteinázok fő forrásai. Az előbbieken leírt celluláris és szubcelluláris károsodások eredményeképpen, a miociták apoptózisa vagy nekrozisa indukálja az ECM átalakulását, mely a kontraktilis szövetek további elvesztését, a megmaradt kardiomiocitákban reaktív kompenzációs hipertrofiát és ECM fehérjék túlzott expresszióját fogja jelenteni [68]. A szív remodelling folyamata tehát a kardiomiociták csökkenésére válaszul kialakuló kompenzációs mechanizmus, amely befolyásolja az ECM szerkezetét. Magától értetődő tehát, hogy a kardiovaszkuláris homeosztázis nagymértékben függ az ECM szerkezetétől, így a kollagénfelhalmozódás okozta ECM-zavar hozzájárul a kóros kardiovaszkuláris elváltozások megjelenéséhez [69]. Ezek a kedvezőtlen változások fontos szerepet játszanak a CVD-k kialakulásában azáltal, hogy rontják a BK rugalmasságát, végül diasztolés diszfunkcióhoz vezetnek [70]. Petretto és munkatársai kimutatták, hogy az BK tömeget (LVM) részben genetikai tényezők is befolyásolják; humán és állatkísérletekben megállapították, hogy az osteoglycin (Ogn) az LVM hatékony szabályozója [71]. Nevezetesen, megnövekedett expresszióját összefüggésbe hozták az emelkedett LVM-mel, mely megfigyelésekkel összhangban, humán vizsgálatokban is emelkedett Ogn-expressziót találtak szívinfarktus és koszorúér-betegségek esetén [72]. Az Ogn mellett más fő fehérjék is informatívak lehetnek a CVD patogenezisében. Xie és munkatársai bebizonyították, hogy az endogén kalmodulin szabályozó, Purkinje sejt protein-4 (Pcp4) overexpressziója hozzájárul a szív hipertrofiájával és aritmiával szembeni kompenzációs mechanizmusához [73]. A PCP4 kalmodulinhoz kötődve, a Ca^{2+} kötési sebességet ötvenszeresére növeli. A kalmodulin- Ca^{2+} kötődés kinetikájának befolyásolása révén, a PCP4 potenciálisan képes befolyásolni a sejtek elektrofiziológiáját [74]. Azáltal, hogy képes csökkenteni a Ca^{2+} felszabadulást a miociták

szarkoplazmatikus retikulumából, feltételezhetően kiemelkedő szerepe van a kardioprotekcióban. A kardiomiociták intracelluláris Ca^{2+} szintje a katechol-O-metiltranszferáz (Comt) enzim működésével is összefügg. A katekolaminok megnövekedett mennyisége intracelluláris Ca^{2+} túlterhelést okoz a szívműködési zavarokhoz vezet [75]. Következésképpen a Comt-ot, a katekolamin-metabolizmust katalizáló enzimet is összefüggésbe hozták a CVD-vel. A kardiovaszkuláris események, például az emelkedett szisztolés vérnyomás és az ateroszklerotikus betegség nagyobb kockázatával függ össze [76], azonban a hosszú távú fizikai edzés humán vizsgálatokban hatásosnak bizonyult a Comt aktivitásának csökkentésében [77].

4.6. Terápiás lehetőségek a szív-és érrendszeri betegségek megelőzésére

Mivel a CVD-k egyik fő rizikófaktor a természetes öregedéssel együtt járó nemihormonhiány/csökkenés, így magától értetődő megoldást jelenthetne a hormonpótlás (HT), mint lehetséges prevenciós terápia. Rendkívül sok tanulmány foglalkozik a nemi hormonok külső pótlásával kapcsolatos kockázat-haszon mérlegeléssel, azonban az eddig született eredmények igen csak ellentmondásosak [52, 78-80]. A hosszú távú, magas dózisú ösztrogén- vagy tesztoszteron terápia egyértelműen fokozhatja a nemi szervekben előforduló rosszindulatú elváltozások kockázatát, ezért esetleges alkalmazásuk nagy körültekintést igényel. A hormonterápia dózisában vagy időtartamában eszközölt jól megalapozott változtatásokkal, vagy szelektív ösztrogén/androgén receptor modulátorok alkalmazásával kiküszöbölhetők az ismert kockázatok.

4.6.1. Ösztrogénpótlás

Míg az állatkísérletek egyértelműen alátámasztják az ösztrogénpótlás kardioprotektív hatásait, addig a humán klinikai vizsgálatok sajnálatos módon eddig nem hoztak egyértelmű eredményeket, a HT-k hatásosságáról megoszlanak a vélemények. Egyes nézetek szerint a klinikai vizsgálatok sikertelenségét a hormonok dózisa, vagy az ösztrogén és a progeszteron együttes alkalmazása okozza, mivel a progeszteron elcsendesítheti az ER-kat, és olyan progeszteron receptor-közvetített válaszokat stimulál, amelyek pontosan ellentétesek az ösztrogén hatásaival [81]. Nem szabad elmenünk amellett a tény mellett sem, hogy az ösztrogénpótlás sok esetben fokozhatja a nőgyógyászati eredetű daganatos kórképek

kialakulásának esélyét [82, 83]. Az előbb említett kutatási eredmények miatt egyre nagyobb ismeretségnek örvend egy másik megközelítés a nemi hormonok pótlására, amely a szelektív ösztrogénreceptor-modulátor (SERM) alapú gyógyszeres terápia néven ismert. A SERM-ek specifikus nem-szteroid molekulák, amelyek számos szövetre (pl. csontok, szív, bőr) ösztrogén-agonista, ugyanakkor a méhre és az emlőkre pedig ösztrogén-antagonista hatással bírnak, így nem onkogének az ivarszervekre nézve [84]. Kimutatták, hogy a SERM-ek potenciális terápiás perspektívát jelenthetnek az elhízás, a diszlipidémia és az endotél-diszfunkció mérséklésében, ezáltal az ateroszklerotikus folyamatok előfordulásának csökkentésében. Munkacsoportunk korábbi tanulmányaival igazolta, hogy a SERM-ek alkalmasak az ösztrogén deficiencia okozta gyulladásos és oxidatív folyamatok mérséklésére, ezáltal fontos szerepet tölthetnek be a kardioprotekcióban [85].

4.6.2. Tesztoszteronpótlás

A tesztoszteronhiány férfiak milliót érintheti világszerte. Akár a természetes öregedés, akár különböző degeneratív betegségekből adódóan, ezen patológiás állapotok szükségessé teszik a tesztoszteronpótló terápia (TPT) alkalmazását. Diagnosztikus értelemben akkor beszélhetünk tesztoszteronhiányról, ha annak szérumból meghatározott szintje 300 ng/dL alá esik [86]. A tesztoszteronhiányt primer és szekunder hipogonadizmus szerint kategorizálhatjuk, melyek patomechanizmusa alapjaiban eltér egymástól. A primer forma többnyire a herék atrofikus elváltozásaiból eredeztethető, ami elégtelen tesztoszteron szintézishez vezet. Ennek értelmében a szérum tesztoszteron szintje leesik, azonban a felsőbb szintek által termelt gonadotróp hormonok (LH, FSH) megemelkednek. A szekunder forma ettől eltérően nem here, hanem hiptalamusz vagy hipofízis eredetű betegség, mely során mind a tesztoszteron, mind az LH és FSH szint lecsökken [87]. Bármilyen kiváltó ok is álljon a háttérben, a tesztoszteronhiány szoros összefüggésbe hozható az elhízással, depresszióval, cukorbetegséggel, metabolikus szindrómával és CVD-kel is [88]. Klinikai eredmények bizonyították, hogy a TPT hatékonyan csökkenti a kardiovaszkuláris rizikót, az inzulin szenzitivitást, a glükóz metabolizmus és a lipid profilban történő pozitív változásokon keresztül [89, 90].

A tesztoszteronpótlás leggyakrabban alkalmazott formái az injekciós vagy transzdermális úton történő tesztoszteronkezelés (1. táblázat) [78]. A *szubkután* injekció előnye, hogy csupán hetente egyszer kell alkalmazni, habár az injekciózás fájdalmas lehet és helyi duzzanatot, pirosodást is okozhat [91]. Tartósabb hatást lehet kiváltani az *intramuscularis*

tesztoszteronpótló terápiával, mely esetén elegendő 3 havonta izomba juttatni a kezelőanyagot. A transzdermális TPT egy fájdalommentes, könnyebb alkalmazási forma, mely gélek vagy krémek mindennapos bőrre történő kenésével valósul meg [92]. A tesztoszteron visszapótlásán kívül elérhetőek alternatív, például LH működést utánzó, vagy az aromatáz enzim gátlásával megvalósuló terápiás módszerek is hormonhiányos betegek számára. A humán coriogonadotropin (HCG) a várandós nők placentája által termelődő LH-hatású hormon, mely férfiakban a here Leydig sejtjeinek stimulálására, így a tesztoszterontermelés fokozásának céljából alkalmazható. Megfelelő, személyre szabott TPT kiválasztása és beállítása szakember feladata, kockázat-haszon mérlegelés után megfelelő terápia alkalmazása sok esetben javíthatja az életminőséget. Azonban mint minden gyógyszernek, hormonnak vagy orvosi beavatkozásnak, a TPT-nek is lehetnek nemkívánatos mellékhatásai. Szívbetegknél, illetve rosszindulatú prosztata daganattal korábban diagnosztizált férfiaknál kellő körültekintés szükséges a TPT alkalmazásánál, habár ebben a témában készült tanulmányok eredményei rendkívül ellentmondásosak [93]. Nem született teljes konszenzus, hogy egészséges egyének esetén, a természetes öregedés velejárójaként bekövetkező tesztoszteronszint csökkenés kezelésére a TPT-k hordoznak-e magukban rizikót. Ebből kifolyólag a TPT napjainkban is intenzíven kutatott terület és a gyakorlati alkalmazásában adódó nehézségek rengeteg kihívást támasztanak a kutatók elé.

<i>Módszer neve</i>	<i>Adagolás</i>	<i>Alkalmazási forma</i>	<i>Előny</i>	<i>Hátrány</i>
Androgél	naponta	Bőrfelületre kenve	Könnyű alkalmazás, egyenletes hormonszint	<ul style="list-style-type: none"> Gyermek/nő 1-4óráig nem érintkezhet a bekent felülettel <ul style="list-style-type: none"> Hirtelen emeli a tesztoszteronszintet
Szubkután injekció (tesztoszteron enanthat)	hetente	Bőr alá injekciózva	Egyenletes hormonszint	<ul style="list-style-type: none"> Nem kapható Magyarországon <ul style="list-style-type: none"> Fájdalom, bőrpír
Intramuszkuláris injekció (tesztoszteron undekonát)	havonta/ 3 havonta	Izomba injekciózva	Hosszantartó hatás	<ul style="list-style-type: none"> Dózisbeállítás nem lehetséges Használata során azoospermia alakul ki
Aromatáz gátló	hetente	Tabletta, szájon át	Könnyű alkalmazás	<ul style="list-style-type: none"> Nagyon erős hatású
Tesztoszteron tabletta	naponta	Tabletta, szájon át	Könnyű alkalmazás	<ul style="list-style-type: none"> Májkárosító Gyorsan lebomlik
HCG injekció	naponta	Bőr alá injekciózva	Megakadályozza a heresorvadást	<ul style="list-style-type: none"> Fájdalom, bőrpír

1. táblázat: Tesztoszteronpótlás lehetséges formái

(forrás: Barbonetti és mtsi., 2020, nyomán [78])

4.6.3. Rendszeresen testmozgás, mint nem farmakológiás alternatív terápiás lehetőség

A rendszeres testmozgás, a gyógyszeres kezelések mellett egy sokkal kisebb kockázatú, nem farmakológiás, de ugyancsak hatékony prevenció eljárás az egészségünk megőrzésére. Közismert tény, hogy a sportnak számos jótékony hatása van az általános egészségre, a sejtektől kezdve egészen teljes szervrendszerekig [94]. Mindazonáltal, a fizikai inaktivitás súlyos patofiziológias következményekkel járhat, a szisztémás gyulladástól a hormonális diszfunkcióig, amely nagymértékben fokozza egyes krónikus betegségek, a II-es típusú cukorbetegség, a metabolikus szindróma és a CVD-k kialakulásának kockázatát [95].

A rendszeres testmozgás az antioxidáns funkciók fokozásával és a CRP, az IL-6 és a TNF- α szintjének csökkentésével, mérsékli a RONS-ok által közvetített sejtkárosodást [96, 97], ezáltal kulcsszerepet játszik a redox egyensúly fenntartásában [98] és védi a sejteket a káros oxidatív folyamatokkal szemben [99]. Számtalan tanulmány alátámasztotta már a testmozgás antioxidáns hatását, több enzimatis út vonal, köztük a GSH, SOD és a HO rendszer indukálása révén [100, 101]. Ismeretes, hogy a fokozott fizikai aktivitás antioxidáns hatásai mellett, a gyulladásos folyamatok csökkenését is eredményezi [102, 103]. A rendszeres testmozgás hatására különböző szignalizációs utak gátlásával/aktiválásával génexpressziós változások is bekövetkeznek. Ezen génexpressziós változások egyaránt érintik a lipid- és szénhidrátanyagcsere résztvevőit, a mitokondriális biogenezisben szerepet játszó és a szív homeosztázisának fenntartásában közreműködő géneket. Több tucat tanulmány igazolja, hogy a rendszeres testmozgás hozzájárul a szív- és érrendszeri funkciók javulásához a vérnyomás, a nyugalmi pulzusszám és a szívizom perfúziójának normalizálásával [104-106]. A nitrogén-monoxid-szintáz (NOS) aktivitás fokozásával a testmozgás vitathatatlan szerepet játszik a normál vérnyomás fenntartásában és a hipertónia kezelésében. A NO azonban nemcsak vazodilatáns, de anti-inflammatorikus és trombocita-gátló hatással is rendelkezik, ezáltal hozzájárul az ateroszklerózis kockázatának mérsékléséhez is [107]. Ezen kívül az endotélium és az érhalózat is komplex adaptív változásokat jelez a testmozgásra adott válaszként. A testmozgás fokozott vaszkularizációval és angiogenezissel jár ép és sérült szívben is, és bár a mögöttes mechanizmusok még nem teljesen tisztázottak [108], Rocha és munkatársai nemrégiben végzett tanulmánya bebizonyította, hogy az endotelin (Esm1) fontos szerepet játszik az angiogenezisben a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) endotélsejtekben történő modulációján keresztül [109].

Az életkor előrehaladtával kialakuló hormonális változások eredményeképpen megnőtt kardiovaszkuláris rizikó hatékonyan csökkenthető rendszeres testmozgással; szisztémás és

szív-és érrendszerre kifejtett pozitív hatásai révén nők és férfiak számára egyaránt protektív és preventív hatású. Az egészségre gyakorolt közvetlen és kedvező hatásai révén részt vesz a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás kockázatának csökkentésében, így szívünk egészségének hosszútávú megőrzése érdekében érdemes fokozott figyelmet szentelni életmódbeli szokásainknak.

5. Célkitűzések

A 21. században a kutatások és az orvostudomány előtt álló egyik legnagyobb kihívás az elkerülhetetlen öregedési folyamatok hátterében álló molekuláris útvonalak és támadáspontjainak feltérképezése és azok pontos működésének megértése. Az öregedéssel összefüggő hormonális folyamatok és azok patológiás következményeinek mérséklésére összpontosító kutatások komoly preventív és terápiás célpontokat tárhatnak fel a CVD-k tekintetében. Doktori disszertációmban foglalt vizsgálataink célja, hogy feltérképezzük a tesztoszteron közvetítette lehetséges kardioprotektív hatásokat, továbbá, hogy megvizsgáljuk az életkor előrehaladtával bekövetkező kardiovaszkuláris változások mérsékelhetőek-e életmódbeli változtatásokkal a különböző nemekben.

1. Első kísérletsorozatunkban célul tűztük ki, hogy feltérképezzük a szervezet tesztoszteronszintje és a szívben lejátszódó oxidatív/gyulladásos folyamatok közötti összefüggést tesztoszteron-megvonásnak és tesztoszteron-pótlásnak kitett hím patkányokban.

Tisztázni kívántuk, hogy:

- Milyen különbségek mutatkoznak tesztoszteronhiány hatására fiatal és idős hím patkányokban a szervezet gyulladásos és antioxidáns paramétereiben?

2. Második kísérletsorozatunkban a szabadidős testmozgás kardioprotektív hatásait kívántuk vizsgálni idős hím és nőstény patkányokban.

Tisztázni kívántuk, hogy:

- Hogyan módosul különböző kardiovaszkuláris homeosztázisban központi szerepet betöltő fehérjék koncentrációja a szívben szabadidős testmozgás hatására idős nőstény és hím állatokban?
- Továbbá vizsgálni kívántuk, hogy ennek hatására miképp változik a szív iszkémiára való hajlama?

6. Anyagok és Módszerek

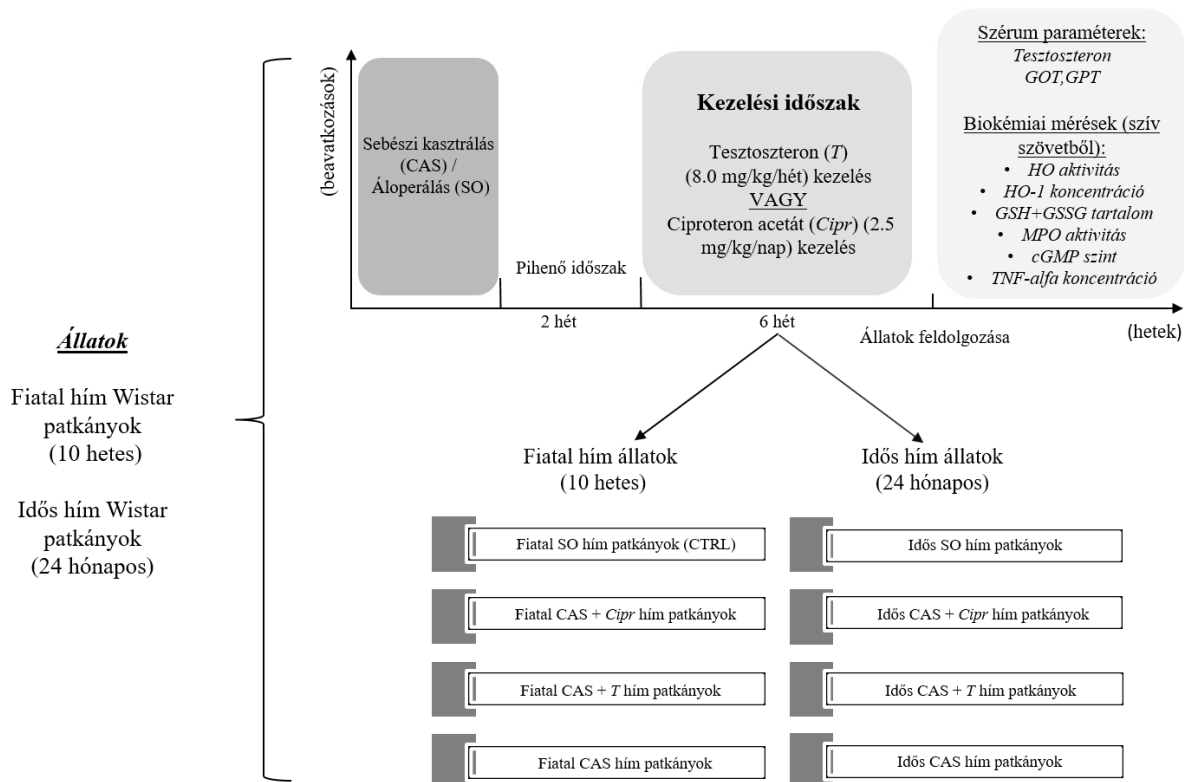
6.1. A tesztoszteron által közvetített antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatások szívbén

6.1.1. Kísérleti protokoll

Kísérleteink során 10 hetes fertilis, valamint 24 hónapos idős, hím Wistar patkányokat használtunk (Toxi-Coop, Magyarország). Az állatokat standard körülmények között, 20-23 °C fokos szobahőmérsékleten, a megfelelő nappali-éjszakai ciklusukat figyelembe véve tartottuk az 2010/63/EU irányelvek, illetve a (XX./2018, XX./2633/2020) előírásoknak megfelelően végeztük.

A fiatal és idős állatokat további két csoportra randomizáltuk az általunk végzett beavatkozások alapján, így kasztrált és áloperált patkányokat különítettünk el. A sebészi kasztrálás során az ondóvezetéket elkötöttük, a heréket és mellékheréket eltávolítottuk, majd a sebet összezártuk és az állatokat penicillinnel kezeltük. Az áloperálás során az állatok herezacskóját szintén felnyitottuk, azonban heréjüket nem távolítottuk el, ugyanis a beavatkozás lényege csupán az volt, hogy e csoportba tartozó állatok is átéljék a műtéttel járó stresszt. A műtéti eljárások után kéthetes pihenő időszak következett. Ezután a fiatal és idős kasztrált állatokat további alcsoportokra osztottuk az alkalmazott kezelések alapján. Az állatok egy része naponta, szájon át, ciproteron acetát kezelésben részesült (Berlin AG, Berlin, Németország, 2.5mg/ttkg), az androgének termelésének teljes blokkolása érdekében, míg az állatok másik felét tesztoszteron injekcióval kezeltük (Nebido, Bayer Schering Pharma AG, Berlin, Németország, 8 mg/kg), hetente, *intramusculárisan (i.m)* hormonpótlás céljával.

A 6 hetes kísérleti periódust követően az állatoktól vért vettünk, termináltuk őket, majd a szívek bal kamráit kimetszettük és -80° C fokon tároltuk a biokémiai mérésekig (6. ábra).



6. ábra: Kísérleti protokoll

CAS: sebészi kasztrálás, SO: áloperálás, T: tesztoszteron, Cipr: ciproteron acetát, HO: hem-oxigenáz, GOT: glutamát-oxálacetát-aminotranszferáz, GPT: glutamát-piruvát-aminotranszferáz, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, MPO: mieloperoxidáz, cGMP: ciklikus guanozin monofoszfát, TNF- α : tumor nekrozis faktor alfa, CTRL: kontrollcsoport

6.1.2. HO enzim aktivitásának mérése szívszövetből

A szívekből eltávolított bal kamrai szöveteket jéghideg pufferben (10,0 mM N-2-hidroxiethylpiperazin-N'-2-etánszulfonát, 0,10 mM etilén-diamin-tetraecetsav-dinátrium-só-dihidrát, 1,0 mM ditiotritol (DTT), 30,0 mM szacharóz, 10 μ g/ml tripszin inhibitor, 2,0 μ g/ml aprotinin, 10,0 μ g/ml leupeptin; pH7,4) homogenizáltuk, majd centrifugáltuk (15 000 \times g, 20 perc, 4 $^{\circ}$ C) és az így kapott felülúszót használtuk a HO-aktivitás méréshez. A reakcióelegy 75 μ l mintából, 2,0 mM glükóz-6-foszfátból, 0,14 U/ml glükóz-6-foszfát-dehidrogenázból, 15,0 μ M heminből, 120,0 μ g/ml biliverdin reduktazból állt. A HO-aktivitás meghatározásához két párhuzamos mérést végeztünk, egy ún. vak és NADPH vonalat. A NADPH mérés során a

reakció beindításához 100 μ L redukált β -nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfátot (β -NADPH) adtunk a keverékhez, melyet 60 percig 37 °C-on inkubáltuk, majd 60 perc elteltével jeges hűtést alkalmaztunk a reakció leállítására. A vak mérésekhez olyan reakcióelegyet hoztunk létre, amelyben a β -NADPH-t pufferrel helyettesítettük. A NADPH- és a vakoldatokat 465 nm-en spektrofotometriásan mértük; ezt követően a vak mérési sorból kapott értékeket kivontuk a NADPH értékekből. A HO-aktivitást a képződött bilirubin mennyisége alapján, nmol/óra/mg fehérjeként ábrázoltuk [28].

6.1.3. GSH+GSSG tartalom meghatározása szívszövetből

Az eltávolított bal kamrai szöveteket először egy homogenizáló pufferben (0,25 M szacharóz, 20 mM Tris, 1 mM DTT), jégen, 60 másodpercig homogenizáltuk, majd a kapott homogenizátumot (15 000 g, 30 perc, 4 °C) centrifugáltuk. Centrifugálás után kapott felülúszóból 1 ml-t tovább homogenizáltunk 200 μ l homogenizáló pufferrel (0,25 M szacharóz, 20 mM Tris, 1 mM DTT, 0,1 M CaCl_2). 30 perces jégen történő inkubálás után újabb centrifugálást hajtottunk végre (21 000 g, 30 perc, 4 °C). Az ennek eredményeképpen létrejött tiszta citoszol frakciót használtuk az enzimvizsgálathoz. Egy 96 lyukú mikrolemezben 40 μ L mintát vagy standardot, 20 μ L 5,5'-ditio-bisz-2-nitrobenzoesavat és 140 μ L NADPH-t mértünk össze és az így kapott elegyet 5 percig 25 °C-on inkubáltuk, majd 10 μ l glutation-reduktázt adtunk hozzá a reakció elindításához. 10 perces rázatás után a 2-nitro-5 tiobenzoesav képződését 405 nm-en mértük, a kapott GSH szinteket pedig nmol/mg fehérjeként fejeztük ki [3].

6.1.4. HO-1, TNF- α , cGMP szint meghatározása szívszövetből

A HO-1, TNF-alfa, cGMP szintjének meghatározása enzimhez kötött immunszorbens módszerrel (ELISA; GenAsia, Shanghai, Kína) történt bal szívkamrából. A mintákat foszfát pufferben (PBS, pH 7,4) 20 másodpercig homogenizáltuk, majd 20 percre centrifugába helyeztük 2500 fordulat/perc sebességgel, 4 °C-on. Az így kapott felülúszókat összegyűjtöttük, és a gyártói előírásokat betarva lemértük a szövet homogenizátumok fehérjeinek koncentrációját, 450 nm-en. A HO-1 szintet ng/mg fehérje, a TNF- α értékeket pg/mg fehérje, míg a cGMP koncentrációt pmol/mg fehérje értékben adtuk meg [28].

6.1.5. MPO aktivitás mérése szívszövetből

A bal kamrai szöveteket kétszer 10 másodpercig homogenizáltuk PBS-t és 0,5% hexadecil-trimetil-ammónium-bromidot (HETAB) tartalmazó pufferben. A mintákat négyszer lefagyasztottuk majd felolvasztottuk a jobb sejtfeltárás érdekében, majd a homogenizátumokat lecentrifugáltuk (10 000 g, 15 perc, 4 °C). A méréshez egy 96 lyukú mikrolemezbe 12 µl standardot vagy mintát tettünk, majd 280 µl o-dianizidin-dihidrokloridot adtunk hozzá és a reakciót 20 µl hidrogén-peroxiddal indítottuk el. Az reakcióelegy 30 másodperces rázatása után az MPO aktivitását 490 nm-en spektrofotometriásan detektáltuk. Az értékeket µU/mg fehérjeként fejeztük ki [85].

6.1.6. Szérum tesztoszteron, GOT, GPT koncentrációjának meghatározása

A szérum tesztoszteron szintjét Immulite 2000XPi (Siemes) kemilumineszcens immunoassay segítségével, míg GOT, GPT koncentrációját Biolis 24i (Siemes) klinikai kémiai analizátorral határoztuk meg a 6 hetes kísérleti periódus után. A GOT és GPT reakcióit a NADH, NAD-dá történő oxidációja okozta abszorbancia csökkenési sebességének mérésével követtük nyomon, U/L-ben kifejezve. A tesztoszteronszintet ng/dl koncentrációban kaptuk meg.

6.1.7. Fehérjetartalom mérése Bradford-módszerrel

A minták fehérjetartalmának meghatározásához a megfelelő hígítást követően mind a marha szérum albuminból (BSA) elkészített standard sorhoz, mind pedig a megfelelően kihígított mintáinkhoz 200 µl Bradford reagenst adtunk. A minták fehérjekoncentrációját 595 nm-en mértük spektrofotométerrel, eredményeinket µg fehérje/ml koncentrációban kaptuk meg.

6.1.8. 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. A testmozgás hatása az öregedés okozta, szívfunkcióban történő változásokra, hím és nőtény patkányokban

6.2.1. Kísérleti protokoll

Második kísérletsorozatunkban 20 hónapos nőtény és hím Wistar patkányokkal dolgoztunk. Az állatokat standard körülmények között, 20-23 °C fokos szobahőmérsékleten, a megfelelő nappali-éjszakai ciklusukat figyelembe véve tartottuk a 2010/63/EU irányelvek, illetve a (XX/4801/2015, 25/2013DEMÁB) előírásoknak megfelelően végeztük.

A hím és nőtény állatokat két csoportra randomizáltuk az általuk végzett testmozgás alapján, így megkülönböztettünk futó és nem futó hím és nőtény patkányokat. A testmozgást nem végző kontroll állatok (CTRL) standard, míg a futó állatok a kísérlet teljes időtartama alatt hozzáférhető, futókerékkel felszerelt ketrecben voltak elhelyezve. A testmozgás protokollt szabadidős testmozgásként definiáltuk, hiszen az állatok a saját bioritmusuknak megfelelően, a nap 24 órájában bármikor futhattak [110]. 12 hetes kísérleti periódus végeztével az állatokat termináltuk, szívüket eltávolítottuk. A szerveket vagy azonnal *ex vivo* izolált szívperfúziós vizsgálat alá vetettük, vagy jobb- és bal kamrára elkülönítve -80°C fokos fagyasztóba helyeztük a biokémiai vizsgálatokig.

6.2.2. Iszkémia-reperfúziós (I/R) sérülés modellezése Langendorff perfúziós rendszerrel

Az iszkémia-reperfúziós sérülés vizsgálatához az állatok szívét a lehető legnagyobb aorta kimetszéssel eltávolítottuk. Jéghideg Krebs-Henseleit puffert használva (mely KH_2PO_4 , NaHCO_2 , glükóz, NaCl , CaCl_2 , KCl , MgSO_4 és MgSO_4 meghatározott mennyiségű elegye) a szíveket az aortán keresztül felfüggesztve Langendorff perfúziós oszlopra helyeztük. A szívek retrográd perfúzióját az alábbi körülmények között végeztük: 75 Hgmm nyomás, 5% CO_2 , 95% O_2 , 37°C. 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%) perfundáltuk, majd -20 °C-os fagyasztóba helyeztük a további vizsgálatokig [110].

6.2.3. Infarktusos terület meghatározása

Az infarktusos terület meghatározásának érdekében, a szíveket 2 mm vastag darabokra szeleteltük az apico-bazális axisra merőlegesen, majd 37°C-on, 10 percig 1%-os 2,3,5-trifenil-tetrazólium-klorid (TTC) oldatban inkubáltuk. A szeleteket ezt követően 10%-os formalinoldatba merítettük, majd PBS-sel (pH 7,4) mostuk. A szívseleteket két üveglemez közé helyezve lefénnyképeztük, az infarktus területet Image J programmal értékeltük, annak nagyságát a veszélyeztetett területekre vonatkozó százalékos arányban adtuk meg [110].

6.2.4. Comt, Ogn, Pcp4 és Esm1 koncentráció meghatározása szív szövetből

A jobb és bal kamra szöveteit PBS-ben (pH 7,4) 20 másodpercig homogenizáltuk, majd 20 percre centrifugába helyeztük 3000 fordulat/perc sebességgel, 4 °C-on. Az így kapott felülúszókat összegyűjtöttük és a gyártói előírásokat betarva lemértük a szövethomogenizátumok fehérjéinek koncentrációját, 450 nm-en. A Comt, Ogn és Pcp4 szinteket pg/μg fehérjeként fejeztük ki, míg az Esm1 értékeket pg/mg fehérjeként határoztuk meg.

6.2.5. Fehérjetartalom mérése Bradford-módszerrel

A minták fehérjetartalmának meghatározásához, mind a marha szérum albuminból (BSA) elkészített standard sorhoz, mind pedig a megfelelően kihígított mintáinkhoz 200 μl Bradford reagenst adtunk. A minták fehérjekoncentrációját 595 nm-en mértük spektrofotométerrel, eredményeinket μg fehérje/ml koncentrációban kaptuk meg.

6.2.6. Statisztikai analízis

Az eredményeket átlag ± S.E.M.-ként fejeztük ki. A csoportok közötti különbségeket Student t-tesztel határoztuk meg. A kapott eltéréseket $p \leq 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

7. Eredmények

7.1. A tesztoszteron által közvetített antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatások szívben

7.1.1 A szérumszertoszteron, GOT és GPT szintjének változásai

A kísérleti időszak végén a fiatal és idős állatokban meghatározott szérumszertoszteron GOT és GPT értékei egyaránt az 2. táblázatban láthatóak. Ahogyan az várható volt, a hormonszintet az öregedési folyamat számottevően lecsökkentette, a kasztrált (CAS és CAS + Cipr) csoportokban pedig az említett nemi hormon egyáltalán nem volt detektálható. A tesztoszteronkezelés azonban a fiatal kasztrált állatok androgénszintjét jelentős mértékben megemelte, valamint idős állatokban is nagymértékű növekedést eredményezett. A szérumszertoszteron GOT és GPT értékei az idős és kasztrált állatokban is jelentősen megnőtt, mely paramétereket a tesztoszteronkezelés számottevően javított.

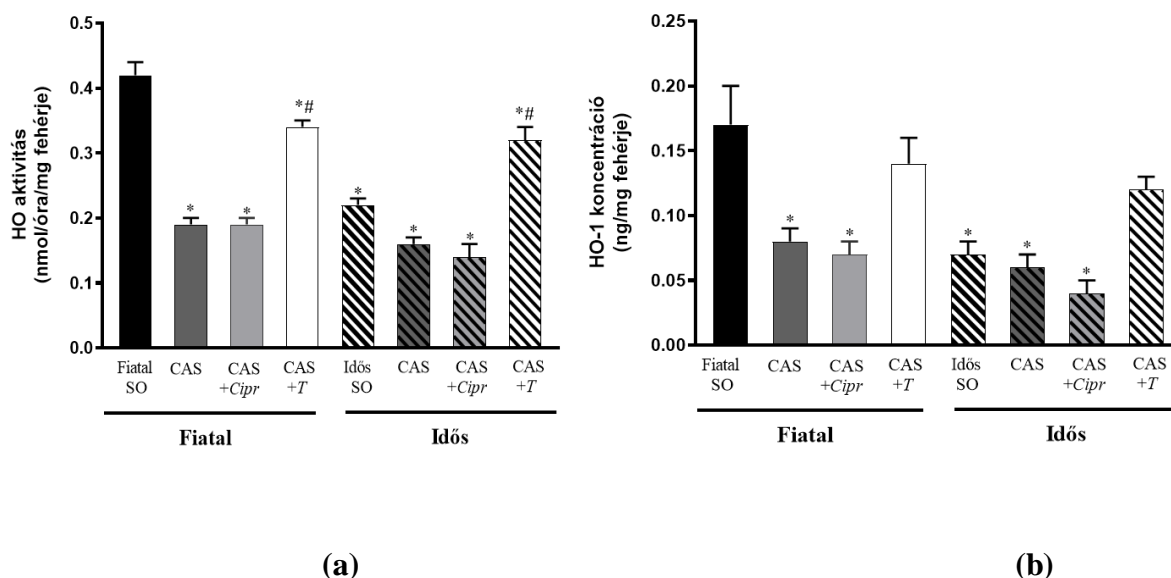
	Fiatal				Idős			
	Fiatal SO	CAS	CAS+Cipr	CAS+T	Idős SO	CAS	CAS+Cipr	CAS+T
Tesztoszteron (ng/dl)	237,40±36,58	0±0*	0±0*	149,86±21,19 [#]	95,90±12,26*	0±0*	0±0*	364,50±50,19 ^{*#}
GOT (U/l)	94,57±3,02	106,67±11,85	142,50±23,50	105,14±3,91	184,75±18,72*	163,86±6,11*	163,00±10,64*	145,29±13,03
GPT (U/l)	56,00±1,60	5,00±1,22	77,00±6,23	59,57±1,85	94,00±10,10*	88,25±3,66*	90,67±6,38*	79,13±5,11

2. táblázat: A szérumszertoszteron, GOT és GPT értékeinek változása a műtéti és farmakológiai beavatkozások hatására

Az adatok átlag ± SEM-ként kerültek megadásra, n=7-9, *p<0,05: Szignifikáns különbség a Fiatal SO csoporthoz viszonyítva, [#]p<0,05: Szignifikáns különbség azonos korú CAS és CAS+T csoportok között, CAS: sebészi kasztrálás, Cipr: ciproteron acetát, GOT: glutamát-oxálacetát-aminotranszferáz, GPT: glutamát-piruvát-aminotranszferáz, SO: áloperálás, T: tesztoszteron,

7.1.2. A szív HO aktivitásának és HO-1 koncentrációjának változásai

Látható, hogy az idős és kasztrált állatokban a tesztoszteron hiánya miatt szignifikánsan lecsökkent, azonban a tesztoszteron pótlás hatására jelentősen megemelkedett a szívben mért HO aktivitás. A HO-1 koncentrációjában ugyancsak szignifikáns csökkenést véltünk felfedezni kasztrálás és öregedés hatására a kontroll, fertilis csoporthoz képest, a legalacsonyabb szintet a CAS+Cipr csoportban detektáltuk. A tesztoszteronkezelés jelentős mértékben megemelte a HO-1 koncentrációt a fiatal és az idős állatok szívben is (7. ábra).



7. ábra: HO aktivitás és HO-1 koncentráció a szívben

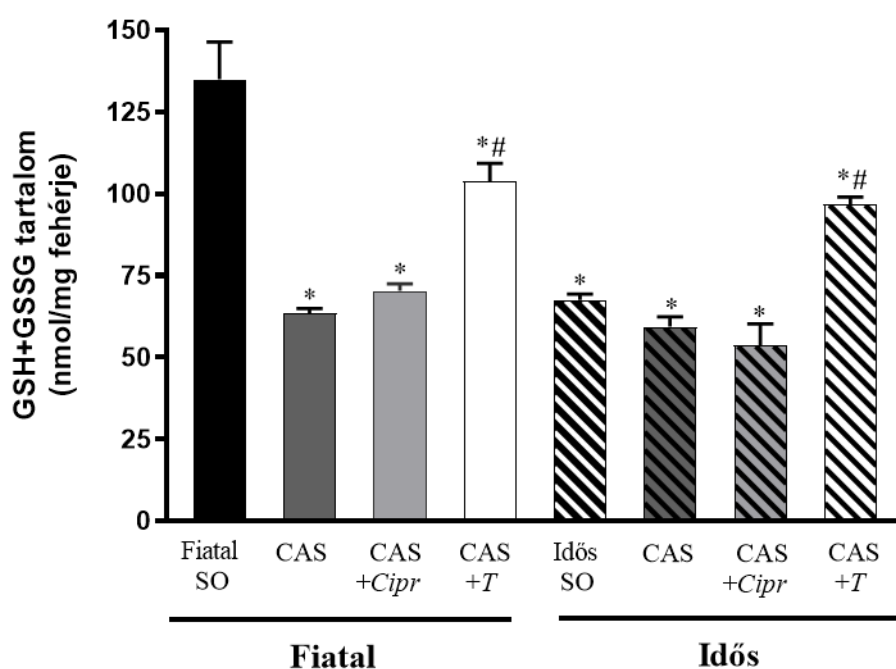
(a) A HO aktivitást nmol bilirubin/óra/mg fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag \pm SEM-ként kerültek megadásra, $n=7-9$, * $p < 0,05$: Szignifikáns különbség a Fiatal SO csoporthoz viszonyítva, # $p < 0,05$: Szignifikáns különbség azonos korú CAS és CAS+T csoportok között

(b) A HO-1 koncentrációját ng/mg fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag \pm SEM-ként kerültek megadásra, $n=4-7$, * $p < 0,05$: Szignifikáns különbség a Fiatal SO csoporthoz viszonyítva, # $p < 0,05$: Szignifikáns különbség azonos korú CAS és CAS+T csoportok között

CAS: sebészi kasztrálás, Cipr: ciproteron acetát, HO: hem-oxigenáz, SO: áloperálás, T: tesztoszteron

7.1.3. A szív GSH+GSSG szintjének változásai

Az antioxidáns tulajdonságú GSH esetében kapott eredményeink jól mutatják, hogy a fiatal, fertilis áloperált állatokban volt a legmagasabb GSH+GSSG szint, míg tesztoszteronhiány hatására szignifikáns visszaesés volt tapasztalható ezen paraméter esetében. A hormonhiányos állatokhoz képest a 6 hetes tesztoszteron kezelés eredményeként jelentős javulás volt megfigyelhető a szív antioxidáns állapotában, mind a fiatal, mind az idős állatok tekintetében (8. ábra)



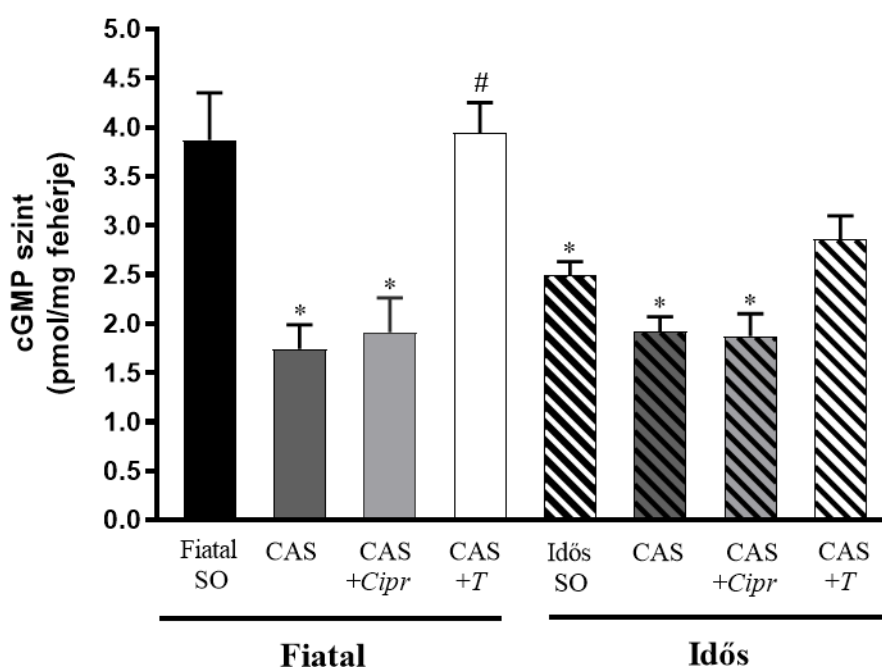
8. ábra: GSH+GSSG tartalom a szívben

Az eredményt nmol/mg fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag \pm SEM-ként kerültek megadásra, $n=8-9$, * $p < 0,05$: Szignifikáns különbség a Fiatal SO csoporthoz viszonyítva, # $p < 0,05$: Szignifikáns különbség azonos korú CAS és CAS+T csoportok között

CAS: sebészi kasztrálás, Cipr: ciproteron acetát, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, SO: áloperálás, T: tesztoszteron

7.1.4. A szív cGMP koncentrációjának változásai

A szív cGMP szintje a fiatal/SO patkányoknál érte el a legmagasabb értéket, míg a tesztoszteronmegvonás a CAS és CAS + Cipr csoportokban jelentős csökkenést eredményezett az említett paraméterben. Hasonlóképpen, az alacsonyabb tesztoszteronszintű idős állatokban a szív cGMP-szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a fiatal/SO patkányokhoz képest, azonban az tesztoszteronpótló terápia hatékonyan megemelte a szív cGMP koncentrációját (9. ábra).



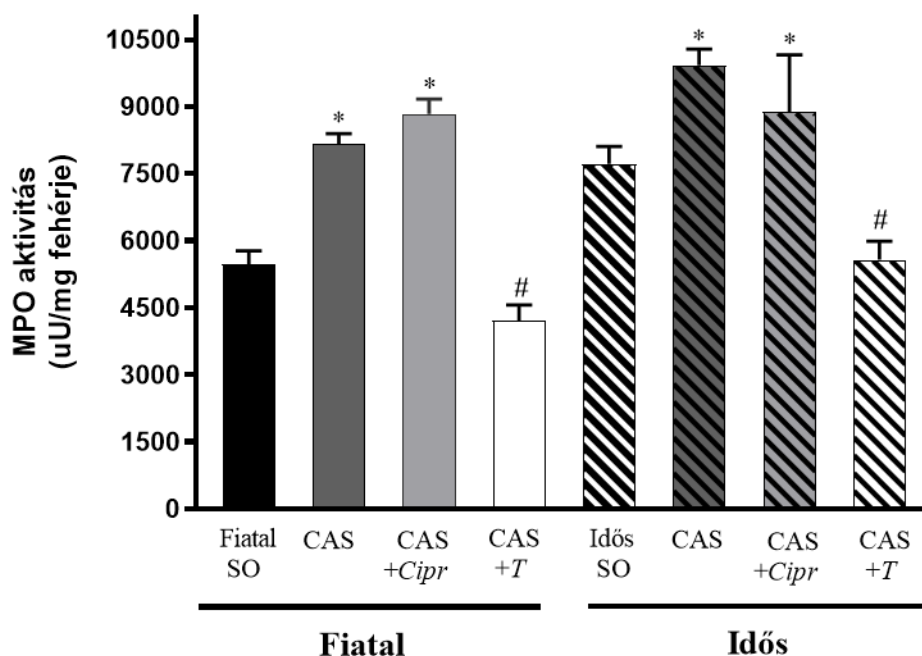
9. ábra: cGMP szint a szívben

Az eredményt pmol/mg fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag \pm SEM-ként kerültek megadásra, n=8-9, *p < 0,05: Szignifikáns különbség a Fiatal SO csoporthoz viszonyítva, #p < 0,05: Szignifikáns különbség azonos korú CAS és CAS+T csoportok között

CAS: sebészi kasztrálás, cGMP: ciklikus guanozin-monofoszfát, Cipr: ciproteron acetát, SO: áloperálás, T: tesztoszteron

7.1.5. A szív MPO aktivitásának változásai

Az MPO enzim, amely a gyulladásos folyamatok elfogadott paramétere, az öregedés és/vagy kasztrálás okozta tesztoszteron deficiencia hatására szignifikáns emelkedést mutatott a fiatal, kontroll állatokhoz képest. Ezzel szemben, a tesztoszteronpótlásban részesülő fiatal és idős állatok szívben detektált MPO aktivitása szignifikáns mértékben lecsökkent (10. ábra).



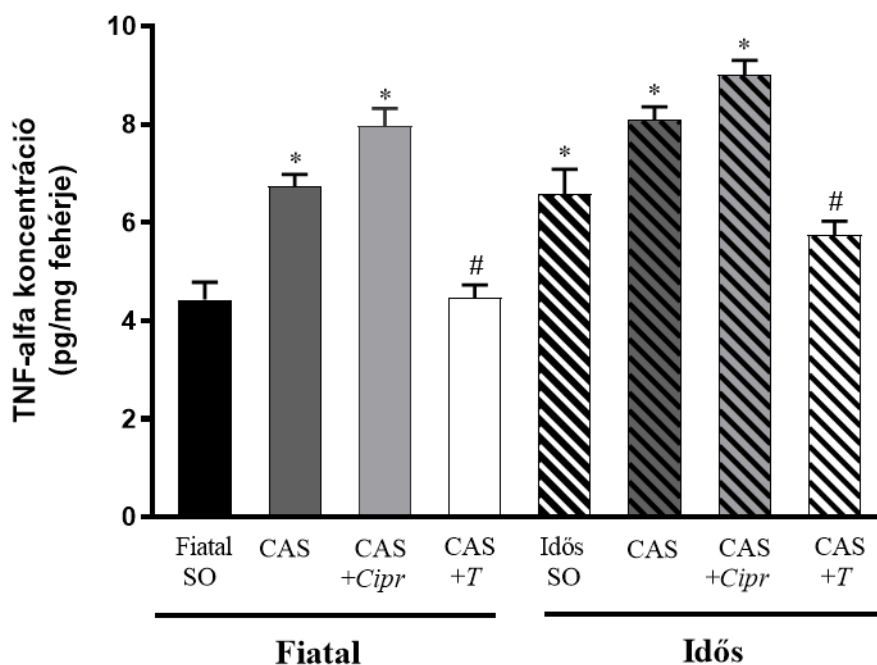
10. ábra: MPO aktivitás a szívben

Az eredményt $\mu\text{U}/\text{mg}$ fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag \pm SEM-ként kerültek megadásra, $n=7-10$, $*p < 0,05$: Szignifikáns különbség a Fiatal SO csoporthoz viszonyítva, $\#p < 0,05$: Szignifikáns különbség azonos korú CAS és CAS+T csoportok között

CAS: sebészi kasztrálás, Cipr: ciproteron acetát, MPO: mieloperoxidáz enzim, SO: áloperálás, T: tesztoszteron

7.1.6. A szív TNF- α koncentrációjának változásai

A TNF- α gyulladásos citokin koncentrációjában történt változások esetén is megállapítható, hogy a kontroll állatok értékeihez képest a tesztoszteronhiány szignifikánsan megemelte a fiatal és idős állatok szívében detektált proinflammatorikus citokin szintjét. Ugyanakkor, ezen eredményekhez viszonyítva a 6 hetes tesztoszteron kezelés szignifikánsan mérsékelte a szív TNF- α koncentrációját (11. ábra).



11. ábra: TNF- α koncentráció a szívben

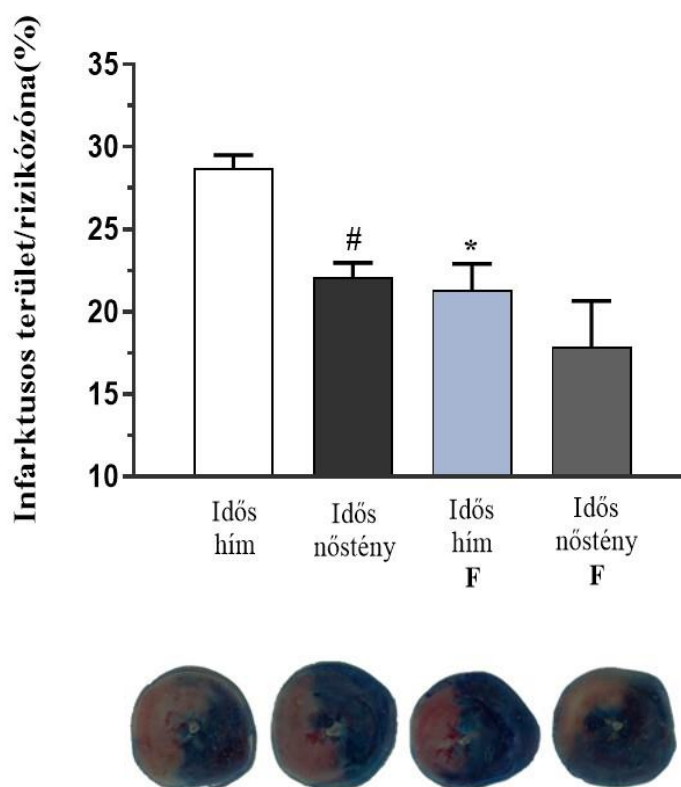
Az eredményt pg/mg fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag \pm SEM-ként kerültek megadásra, $n=7-9$, * $p < 0,05$: Szignifikáns különbség a Fiatal SO csoporthoz viszonyítva, # $p < 0,05$: Szignifikáns különbség azonos korú CAS és CAS+T csoportok között

CAS: sebészi kasztrálás, Cipr: ciproteron acetát, SO: áloperálás, T: tesztoszteron, TNF- α : tumor nekrosis faktor-alfa

7.2. A testmozgás hatása az öregedés okozta, szívfunkcióban történő változásokra, hím és nőstény patkányokban

7.2.1. Infarktusos terület nagysága

A 12. ábra szerint az idős állatoknál a szív nekrotikus régiójának kiterjedésében jelentős romlást tapasztaltunk a futó társaikhoz képest, és fontos megjegyezni, hogy a hím patkányok a nőstény állatoknál rosszabb eredményeket mutattak. Mindazonáltal, a 12 hetes szabadidős testmozgás eredményeként a futó állatoknál az infarktusos terület kifejezett csökkenését figyeltük meg (12. ábra).

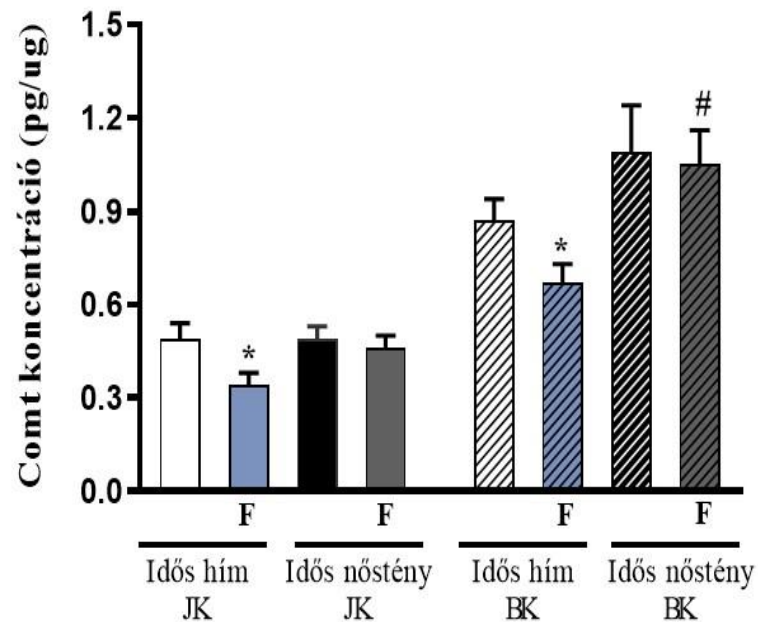


12. ábra: Infarktusos terület nagysága futó és nem futó állatokban

Az infarktusos területet a rizikózónára vonatkoztatva, százalékos arányként fejeztük ki és az adatok átlag \pm SEM-ként kerültek megadásra, $n=6$, $*p < 0,05$: Szignifikáns különbség a futó és nem futó csoportok között, $\#p < 0,05$: Szignifikáns különbség hím és nőstény állatok azonos csoportjai között, F: futó

7.2.2. Comt koncentráció a szívben

A 13. ábrán jól látható, hogy futás hatására a hím patkányok jobb és bal kamrájában szignifikáns csökkenés volt megfigyelhető a szív Comt koncentrációjában, míg nőstény állatokban ezzel szemben nem észleltünk szignifikáns változást a testmozgás eredményeképpen (13. ábra).



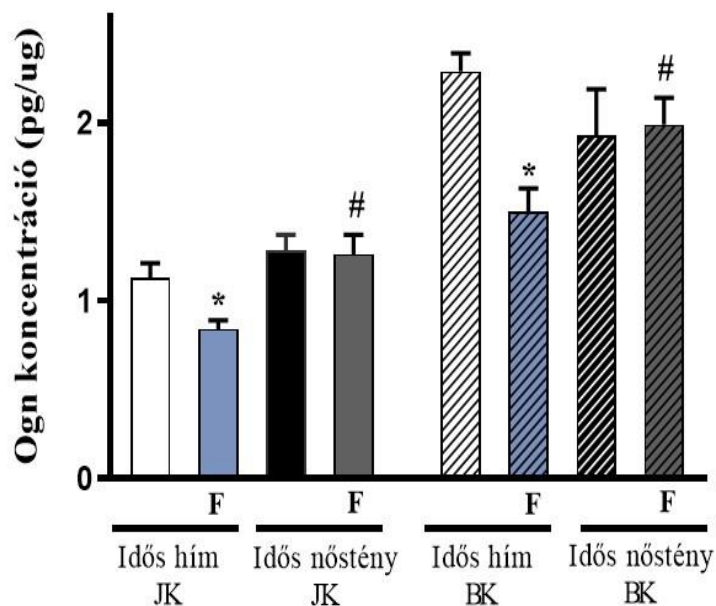
13. ábra: Comt koncentráció a szívben, futó és nem futó állatokban

A Comt koncentrációt pg/μg fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag ± SEM-ként kerültek megadásra, n=6-9, *p <0,05: Szignifikáns különbség a futó és nem futó csoportok között, #p <0,05: Szignifikáns különbség hím és nőstény állatok azonos csoportjai között

BK: bal kamra, Comt: katekolamin o-metil transzferáz, F: futó, JK: jobb kamra

7.2.3. Ogn koncentráció a szívben

Az Ogn fehérje szintje szignifikáns mértékben lecsökkent a futó hím patkányok jobb és bal kamrájában a kontroll hím állatokhoz képest. Továbbá a nőstény és hím futó csoportok értékeit összehasonlítva további szignifikáns változásokat észleltünk. (14. ábra).



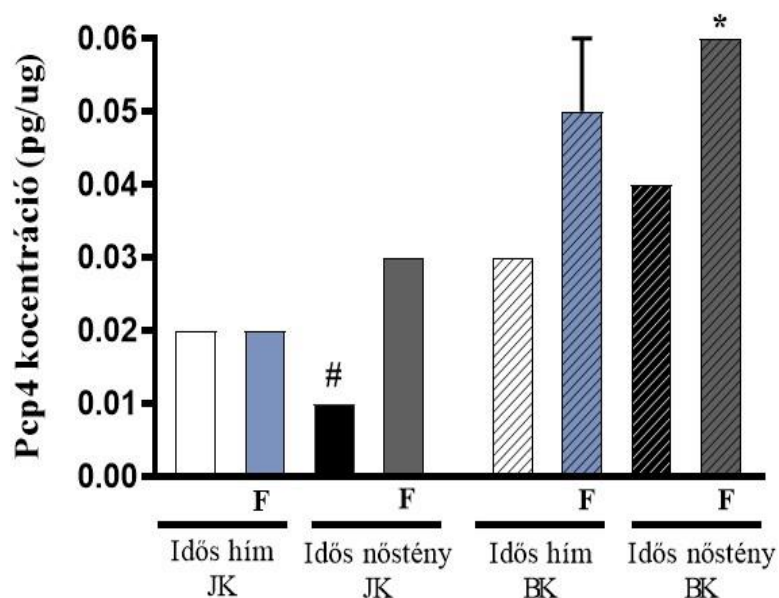
14. ábra: Ogn koncentráció a szívben, futó és nem futó állatokban

Az Ogn koncentrációt pg/μg fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag ± SEM-ként kerültek megadásra, n=6-8, *p <0,05: Szignifikáns különbség a futó és nem futó csoportok között, #p <0,05: Szignifikáns különbség hím és nőstény állatok azonos csoportjai között

BK: bal kamra, F: futó, JK: jobb kamra, Ogn: oszteoglicin

7.2.4. Pcp4 koncentráció a szívben

A Pcp4 fehérje koncentráció esetében a két nem bal és jobb kamrájában növekedést észleltünk futás hatására, azonban csak a nőstény BK-ban bekövetkezett változások minősültek szignifikánsnak. Ezen fehérje koncentrációjában is tapasztaltunk eltérést a nemek között (15. ábra).



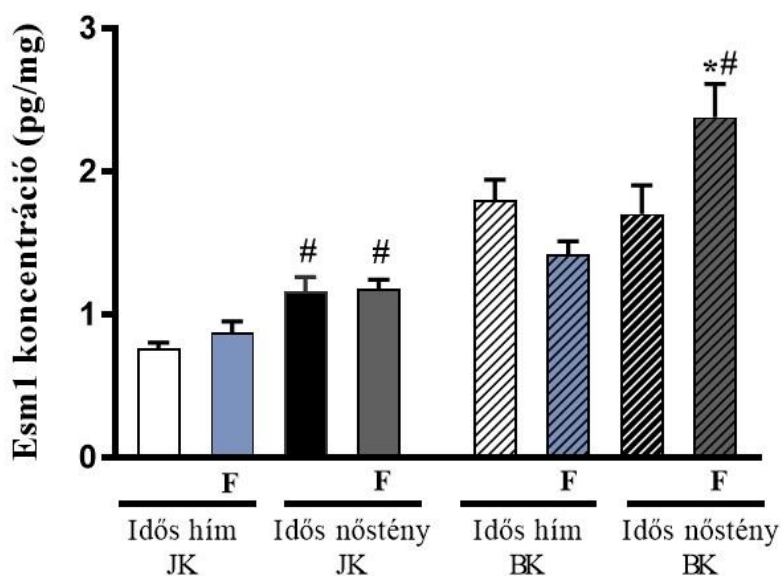
15. ábra: Pcp4 koncentráció a szívben, futó és nem futó állatokban

A Pcp4 koncentrációt pg/μg fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag ± SEM-ként kerültek megadásra, n=5-9, *p <0,05: Szignifikáns különbség a futó és nem futó csoportok között, #p <0,05: Szignifikáns különbség hím és nőstény állatok azonos csoportjai között

BK: bal kamra, F: futó, JK: jobb kamra, Pcp4: Purkinje-protein 4

7.2.5. Esm1 koncentráció a szívben

A szabadidős testmozgás az Esm1 fehérje koncentrációjának emelkedését okozta a hím patkányok jobb, és a nőstény állatok bal kamrájában egyaránt, mely utóbbi változás szignifikánsnak is bizonyult. Ugyanakkor az Esm1 fehérje kifejeződésének mértékében a nőstény és hím állatokat összehasonlítva további szignifikáns változás volt kimutatható (16. ábra).



16. ábra: Esm1 koncentráció a szívben, futó és nem futó állatokban

Az Esm1 koncentrációt pg/ μ g fehérjeként fejeztük ki és az adatok átlag \pm SEM-ként kerültek megadásra, $n=5-9$, * $p < 0,05$: Szignifikáns különbség a futó és nem futó csoportok között, # $p < 0,05$: Szignifikáns különbség hím és nőstény állatok azonos csoportjai között

BK: bal kamra, Esm1: endotélsejt specifikus molekula-1, F: futó, JK: jobb kamra

8. Diskusszió

A WHO legfrissebb adatai szerint a CVD-ket valamennyi fejlett országban vezető halálokoként tartják számon, megközelítőleg 17,9 millió életet követelve évente [111]. A természetes öregedéssel párhuzamosan megjelenő, vagy mesterséges (műtéti) okokból eredeztethető hormonhiány kiváltotta prooxidáns és proinflammatorikus patológiás elváltozások következtében felboruló homeosztázis nagyban növeli a CVD-k kialakulásának valószínűségét.

Kísérletsorozatunk első részében a természetes és mesterséges tesztoszteronhiány kardiovaszkuláris hatásait térképeztük fel a szervezet nemi hormon szintjének a szív antioxidáns, valamint gyulladásos állapotával történő összefüggéseivel összhangban. Jelen tanulmányunkban az öregedés során fellépő férfi nemi hormon csökkenését idős patkányokkal, az abszolút tesztoszteronhiányt pedig az állatok kasztrálásával és anti-androgén hatású ciproteron-acetát alkalmazásával modelleztük. A várt eredményekkel összhangban, az idős állatok tesztoszteron szintjének életkorral összefüggő csökkenését tapasztaltuk (63%), míg a műtéti úton kasztrált és gyógyszeresen kezelt állatok tesztoszteron koncentrációja várható módon nullára csökkent. A hormonpótló terápia a kasztrált fiatal állatok tesztoszteronszintjét fiziológias szintre emelte, az idős csoportban pedig további tesztoszteronszint növekedést okozott.

Számos tanulmány alátámasztja azt a nézetet, miszerint az endogén nemi hormonok fontos szereppel bírnak a kardiovaszkuláris rendszerben. Az ösztrogénhiányhoz hasonlóan az alacsony tesztoszteronszintet is kardiovaszkuláris rizikófaktorként tartják számon [88], az AR-ok szívizomban való disztribúciójának köszönhetően, a férfi nemi hormon hiánya/csökkent expressziója hatással van a szívműködésre [90]. A nemi hormonok széleskörű antioxidáns hatásait alapul véve, a tesztoszteronszint csökkenése a redox egyensúlyt oxidatív stressz irányába billenti. Összefüggésben ezekkel a megfigyelésekkel, eredményeink azt mutatják, hogy a tesztoszteronszint szoros összefüggést mutat a szív antioxidáns/oxidáns állapotával. Azon elmélet bizonyítására, miszerint a tesztoszteron hiánya gyengíti az antioxidáns védekező mechanizmusok manifesztációját, a szív HO rendszerében bekövetkező változásokat vizsgáltuk. A HO enzimek számos szövetben előfordulnak, lebontó tevékenységük során felszabadult melléktermékeik (biliverdin/bilirubin, CO, vas) révén antioxidáns és gyulladáscsökkentő tulajdonságokkal rendelkeznek [112]. A HO rendszer és a szív tesztoszteronszintjének kapcsolatát korábban, tudomásunk szerint még nem tanulmányozták, azonban a másik nemi hormon, az ösztrogén HO-rendszerre gyakorolt hatásainak vizsgálata a

kardiovaszkuláris rendszerben széles körben elterjedt [85]. Korábbi munkáink során igazoltuk, hogy az öregedési folyamathoz vagy farmakológiai/műtéti úton kiváltott hormonhiányhoz kapcsolódó ösztrogénhiány a szív HO aktivitásának és expressziójának jelentős csökkenését eredményezte [28]. Hasonlóképpen Demirbag és munkatársai a nemi hormonok és a teljes antioxidáns kapacitás összefüggéseit vizsgálva szoros kapcsolatot véltek felfedezni az antioxidánsok, a tesztoszteron és az ösztrogén között [113]. Fontos megjegyezni azonban, hogy nemcsak a nemi hormonok csökkenése, hanem a természetes öregedési folyamat, a maga multifaktoriális módján is képes befolyásolni az oxidáns/antioxidáns egyensúlyt [114]. Ezen mechanizmusok diszregulációja általános az idős szervezetekben, mely számos patológiás kardiovaszkuláris folyamat kialakulását eredményezheti. Korábbi megfigyelésekkel összhangban eredményeink egyértelműen azt mutatják, hogy az öregedési folyamat a HO rendszer modulálásával hozzájárult a szív antioxidáns állapotának romlásához. A sebészi kasztráció, mind a fiatal, mind az idős állatokban szignifikáns csökkenést idézett elő a szív HO aktivitásában és a HO-1 koncentrációjában, és a ciproteron-acetáttal kezelt patkányok esetében az andorgéntermelés abszolút blokkolásának következtében a HO értékek tovább romlottak. A tesztoszteronpótlás azonban protektívnek bizonyult az oxidatív folyamatokkal szemben; a hormonpótlás hatására fiatal és idős állatoknál is jelentősen nőtt a HO aktivitása és 1-es izoformájának expressziója. Oxidatív stressz hatására a korábban már említett enzimatiszikus védelmi rendszerek is működésbe lépnek a RONS-ok eliminálásának érdekében, e rendszerek aktivitása azonban leginkább az oxidatív stressz intenzitásától és az expozíció időtartamától függ. Vizsgálataink egyértelműen azt mutatják, hogy CTRL állatokhoz képest a tesztoszteronhiány állatmodelleinkben a szív GSH/GSSG szintjének jelentős csökkenését eredményezte; a tesztoszteron visszapótlása viszont szignifikáns javulást okozott az antioxidáns védelmi rendszerben.

Az antioxidáns kapacitással összhangban a gyulladásos paraméterek is megváltoztak az általunk felállított kísérleti modellben. Jól dokumentált tény, hogy reprodukív korban a tesztoszteron, a proinflammatorikus transzkripció faktorok gátlásával csökkenti a gyulladásos folyamatok kialakulását, azonban a természetes vagy mesterséges tesztoszteronhiány következményeképpen történő hormonális változások eredményeként a NF- κ B-hez kötött szignalizációs útvonalak stimulációja révén fokozódik a gyulladásos citokinek expressziója (IL-6, IL-1, IL-8, TNF- α), valamint a CRP szervezetben kimutatható szintje [115, 116]. Humán vizsgálatokban is igazolták, hogy a nemi szteroidok plazmaszintje férfiaknál negatív korrelációt mutat a gyulladásos paraméterekkel [117]; míg hipogonádális állapotban a gyulladás mértéke

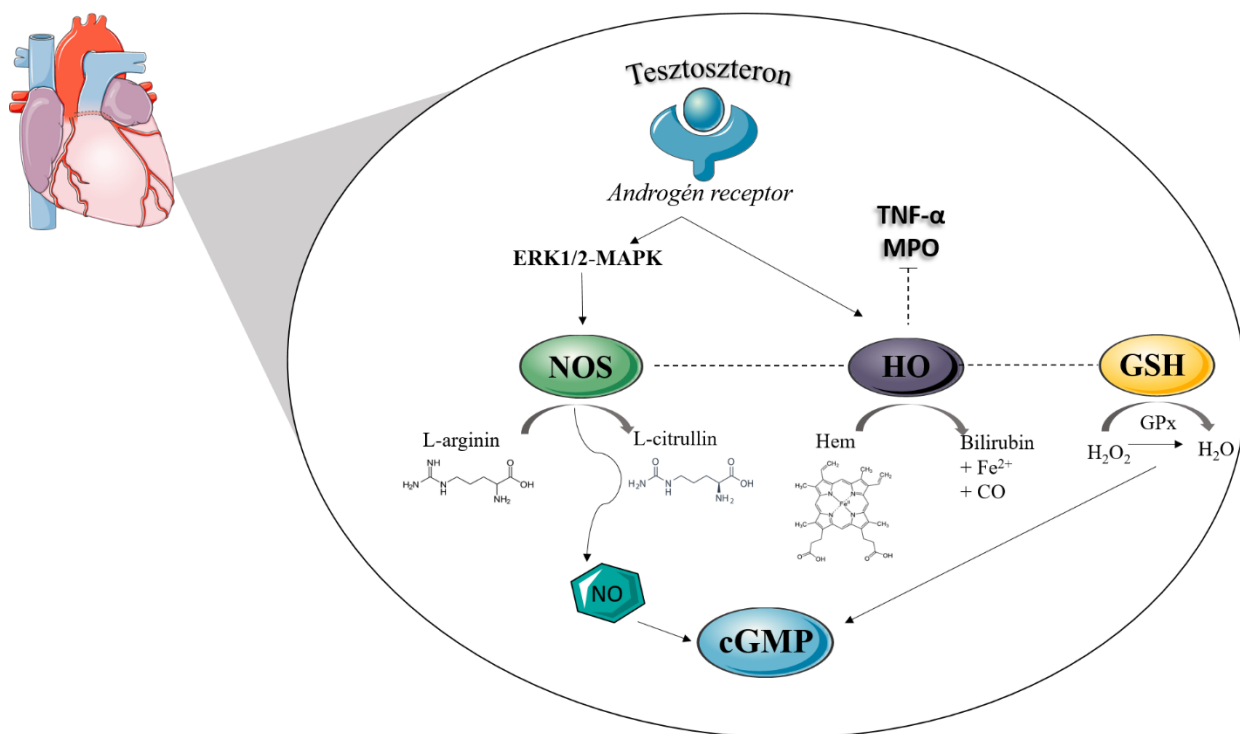
emelkedett, a tesztoszteronterápia jelentősen mérsékelte a kóros értékeket. Ezen eredményekkel összhangban, kísérletünkben bizonyítottuk, hogy az exogén tesztoszteronkezelés mérsékelte a hormonhiány-kiváltotta emelkedett MPO enzimaktivitást és a TNF- α koncentrációt a fiatal és idős állatok szívében is. Az MPO a neutrofil granulociták és monociták specifikus granulumjaiban tárolódó hemfehérje. Az immunsejtek aktiválódása során reaktív oxidatív gyököket szabadít fel, mely reakció elindíthatja citotoxikus lipidek képződését, gátolja a vazodilatációt előidéző nitrogén-monoxid felszabadulását, valamint befolyásolja az ateroszklerotikus plakkok létrejöttét is [118]. Ezen folyamatokkal szerepet játszik a CVD-k patomechanizmusában, így a kardiovaszkuláris rendszert érintő gyulladásos folyamatok egyik legelfogadottabb paraméterének tekinthető. Egyre több bizonyíték utal arra, hogy a HO-1 és metabolitjai kulcsszerepet játszanak a gyulladásos kaszkád kialakulásának mérséklésében is. A HO-1 csökkenti a TNF- α , az IL-1 β és az IL-6 termelését, míg egyes gyulladáscsökkentő citokinek expressziója a HO-nak köszönhetően emelkedik [115]. Kapturczak és munkatársai HO-1 knockout egerekben igazolták a HO-1 expressziójának gyulladásos állapottal történő korrelációját [119]. Eredményeink összhangban vannak a HO-1 anti-inflammatorikus szerepével, miszerint a szív HO aktivitása és HO-1 koncentrációja az emelkedett TNF- α értékekkel összhangban csökkent az idős vagy kasztrált állatokban, míg a hormonpótló kezelés javította az előbb említett antioxidáns/gyulladásos egyensúlyt. Hasonló összefüggés volt megfigyelhető a HO és az MPO aktivitásban, mint a HO és a TNF- α kölcsönhatásában; nevezetesen a csökkent HO aktivitás és expresszió, fokozott MPO aktivitással társult a hormonhiányos patkányokban.

A nemi hormonok a receptoraikhoz való kötődésen keresztül a genomikus és nem genomikus útvonalakon keresztül képesek befolyásolni többek között a korábban említett HO enzimek aktivitását is [120]. Mind az ösztrogén, mind a tesztoszteron a HO enzimek potenciális induktora, mely antioxidáns, gyulladáscsökkentő és antiproliferatív hatásokat közvetít a CO és a bilirubin biológiai termékek felszabadításán keresztül. Kísérletes eredményekkel alátámasztott tény, hogy a CO hatásai megfeleltethetők a NO hatásaival az azonos jelátviteli útvonalak miatt. Az AR-hoz kötött tesztoszteron az ERK1/2-MAPK kaszkádot aktiválva, szabályozza a NOS/NO útvonalat, mely a cGMP által közvetített hatások révén vazodilatív folyamatot eredményez [121]. Jelen kísérletünkben a HO enzimaktivitás során felszabaduló CO mennyiségét nem mértük; a cGMP-tartalommal kapcsolatos eredményeink hivatottak alátámasztani a tesztoszteron indukálta vazodilatív mechanizmust. A NO-cGMP jelátviteli mechanizmushoz hasonlóan a CO által szabályozott cGMP-termelésnek is jótékony szerepe

van az érrendszeri gyulladások ellen és számos kardiovaszkuláris szövődményben [122]. Rizzo és munkatársai arról számoltak be, hogy a csökkent NO-cGMP jelátvitel az érrendszeri gyulladás és az inzulinrezisztencia kiváltója [123]. A HO aktivitás, a HO-1 koncentráció, valamint a gyulladásos markerek adataival összhangban eredményeink csökkent cGMP-értékeket mutattak tesztoszteron hiányában. Az hormonterápia kardioprotektív szerepe pedig a cGMP emelkedett szintjében is tükröződött.

A szívben igazolt oxidatív és gyulladásos hatások mellett megállapítottuk, hogy a tesztoszteronhiány következtében - akár öregedés, akár kasztrálás okozta - a GOT és GPT szérumban detektált koncentrációja nagymértékben emelkedett az idős állatok esetében, a hormonterápia azonban sikeresen mérsékelte a negatív irányba billent diagnosztikus markereket. A GOT és GPT elsősorban szívserülés, vagy májkárosodás során felszabaduló enzimek, melyek kiváltképpen informatívak lehetnek kardiovaszkuláris rizikó szempontjából [124].

Összefoglalásként megállapíthatjuk, hogy a HO rendszer részt vett a tesztoszteron által közvetített protektív kardiovaszkuláris mechanizmusokban mind a fiatal, mind az idős állatokban (17. ábra). Az endogén férfi nemi hormon hatásai mellett a tesztoszteron-pótló terápia a HO enzimrendszer indukálásával fokozta a szívben lezajló antioxidáns és gyulladáscsökkentő folyamatokat. Bár az öregedés elkerülhetetlenül oxidatív károsodással jár, a tesztoszteron kezelés helyreállította a szívben uralkodó kedvezőtlen oxidatív/gyulladásos egyensúlyt, így állatkísérletes eredményeink alapján a hormonpótlás egy potenciális megoldást jelenthet a tesztoszteronhiányos betegek kardiovaszkuláris egészségének megőrzése érdekében.



17. ábra: A tesztoszteron HO-rendszer által közvetített antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatásai szívben

cGMP: ciklikus guanozin-monofoszfát, ERK: extracelluláris szignál-regulált kináz, Fe^{2+} : vas, GPx: glutathion peroxid, GSH: redukált glutathion, H_2O : víz, H_2O_2 : hidrogén-peroxid HO: hem-oxigenáz, MAPK: mitogén-aktivált protein kináz, MPO: mieloperoxidáz, NO: nitrogén-monoxid, NOS: nitrogén-monoxid-szintáz, $\text{TNF-}\alpha$: tumor nekrozis faktor alfa

Forrás: saját szerkesztés

Második kísérletsorozatunkban egy alternatív, nem farmakológias terápia, a szabadidős testmozgás hatását tanulmányoztuk a szív funkciójában és fehérje expressziójában megnyilvánuló változásokon keresztül, idős hím és nőstény patkányokban egyaránt. Köztudott, hogy a kardiovaszkuláris kórképek kialakulásának kockázata az életkor előrehaladtával nő, azonban fontos megjegyezni, hogy fertilis korban a férfiak kardiovaszkuláris morbiditása és mortalitása magasabb, ugyanis a férfi nem önmagában is fokozott rizikót jelent. Ez a kifejezett rizikókülönbség a menopauzával együtt járó közel abszolút ösztrogénhiány miatt kiegyenlítődik a két nem között, így a középkorú nők ugyanolyan veszélyeztetetté válnak a CVD-vel szemben. Az életkorból adódó szívkárosodás megelőzésére és/vagy kezelésre a hormonpótláson kívül egy sokkal kézenfekvőbb megoldás lehet a rendszeres, közepes intenzitású fizikai aktivitás bevezetésével történő életmódváltoztatás. Bizonyítani szerettük

volna, hogy a testmozgás molekuláris szinten képes befolyásolni egyes fehérjék kifejeződésének mértékét, ezáltal megőrizni a szív egészségét. Ennek érdekében, jelen vizsgálatunkban négy, kardiovaszkuláris rizikó-szempontról kiemelkedő fehérje (Comt, Ogn, Pcp4, Esm 1) expressziós változásait vizsgáltuk 12 hetes szabadidős testmozgás hatására, hím és nőstény állatok szívében. A Comt egy katekolaminok és a katekol-ösztrogének lebontásában szereplő kulcsenzim, épp ezért a kardiovaszkuláris szabályzásban betöltött szerepe jelentős. Számos tanulmány alátámasztja, hogy az emelkedett katekolaminszint intracelluláris kalcium-túlterhelést okoz a kardiomiocitákban, szív működési zavarokat okozva ezzel [75]. Mindemellett bizonyította, hogy stressz hatásra a katekolaminok nagy koncentrációban oxidálódnak és szabadgyököket generálnak. A katekolaminok ezen oxidációs termékei feleltethetők az aritmiáért és szív működési zavarokért azáltal, hogy felborítják a Ca^{2+} -háztartást mind a szarkolemmális, mind a szarkoplazmatikus retikulumban, következésképpen pedig rontják a mitokondriumok energiatermelését és károsítják és a szívizomsejteket [75]. A hosszútávú, közepes intenzitású testmozgás javítja a szív működést a vérnyomás és a pulzusszám stabilizálása révén, mely a csökkent katekolaminszint bizonyítékának tekinthető. Továbbá, humán vizsgálatok sikeresen párhuzamot vontak alacsony Comt expresszió és csökkent szívinfarktus kockázat közt [125]. Igazoltuk, hogy a 12 hetes szabadidős testmozgás eredményeképpen a Comt fehérje szintje mindkét nemben lecsökkent a bal és jobb kamrában egyaránt, azonban nőstények esetében ezen változás nem tekinthető szignifikánsnak. Eredményeinket alátámasztva, Carneiro és munkatársai számoltak be először a testmozgás és a csökkent Comt expresszió közötti plauzibilis kapcsolatról. Ezek az eredmények együttesen arra utalnak, hogy a Comt mérsékelt jelenléte arányos lehet a katekolaminok csökkent szintjével, így a rendszeres testmozgásnak köszönhető hatékonyabb szív működéssel.

A fibroblasztokban, az ér simaizomsejtjeiben és a kardiomiocitákban kifejeződő Ogn szubcelluláris jelátvitelben betöltött pontos szerepe még nem teljesen tisztázott; azonban megfigyelték, hogy emelkedett expressziója mutatható ki szívinfarktus és koszorúér-betegség esetén [126]. Kísérletünkben az Ogn szívben mért koncentrációja jelentős mértékben lecsökkent a futó hím állatok jobb és bal kamráiban, és bár ismereteink szegényesek az Ogn és a sport összefüggéseit tekintve, Feng és munkatársai bizonyították, hogy 6 hetes testmozgás hipertóniás patkányok esetén sikeresen csökkentette az aortafalban mért Ogn expresszióját [127]. Amely a transzlációs szempontokat illeti, ismereteink ugyancsak korlátozottak az Ogn funkciójáról; továbbá az Ogn expressziója nemcsak szövet-, hanem fajfüggő is lehet. A rágcslómodellekben kapott adatokkal ellentétben a humán harántcsíkolt izmokban a

proteoglikán gének (biglycan, osteoglycin, serglycin) inkább megnövekednek edzés hatására, amely az extracelluláris mátrix átalakulására utalhat [128]. A kép tovább bonyolódik, ha figyelembe vesszük, hogy az Ogn-t poszttranszkripcionálisan szabályozzák a mikro-RNS-ek (miR-22) az izomsejtek proliferációjának és differenciálódásának szabályozása érdekében a myogenezis során [129]. Fontos megjegyezni, azonban hogy az Ogn-t nemrégiben szívhipertrofia-markerként azonosították, és fokozott expresszióját a bal kamra megnövekedett tömegével is összefüggésbe hozták [71]. A szív hipertrofiája idős korban elsődlegesen a szív teljesítményének csökkenése miatt kialakuló kompenzációs mechanizmus eredménye. Mivel jelen vizsgálatunkban csökkent Ogn-expressziót detektáltunk a futó hím állatok szívmizában, arra következtetünk, hogy az edzés okozta Ogn-szuppresszió javíthatja a szív öregedéssel összefüggő kóros elváltozásait.

A Pcp4 a Ca^{2+} /kcalmodulin protein kináz (CAMKII) szabályzója, így kulcsszerepet tölt be az intracelluláris kalcium homeosztázisban. Ezen rendszer rendkívüli jelentőségét igazolja, hogy nemrégiben javasolták a szív hipertrofiájával kapcsolatos betegségek kezelésére is, ugyanis a CaMKII és a kalcineurin aktiváció gátlásán keresztül antihipertrofiás hatással rendelkezik a kardiomiocitákon [73]. Kim és munkatársai korábban, *in vivo* Pcp4-null modellben kamrai aritmiát figyeltek meg és bizonyították a Pcp4 szív kontraktilitásában betöltött nélkülözhetetlen szerepét [74]. Ezenkívül leírták, hogy a Pcp4 hatékonyan csökkentette a Ca^{2+} felszabadulását a kardiomiociták szarkoplazmatikus retikulumából és gátolta az angiotenzin által kiváltott Ca^{2+} -túlterhelést is. Mivel a szívritmuszavarok, a hipertrofia és az I/R sérüléssel szembeni fokozott érzékenység egyik fő oka a Ca^{2+} -túlterhelés, magától értetődő, hogy a Pcp4 fontos szerepet játszik a kardioprotekcióban [130]. Eredményeinkkel bizonyítottuk, hogy a 12 hetes szabadidős testmozgás fokozta a Pcp4 szintjét mind a hím, mind a nőstény állatok szívében. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a testmozgás által kiváltott emelkedett Pcp4 expresszió hozzájárulhat az intracelluláris kalciumegyensúlyhoz, a szívmi sejtek túléléséhez; és ellensúlyozhatja a Ca^{2+} -túltelítődést, amely a hipertrofia és az I/R-sérüléssel szembeni fokozott érzékenység jelentős tényezője.

Az Esm1 egy endotélsejtek által szekretált proteoglikán, melyet a közelmúltban összefüggésbe hozták a vaszkularizációs folyamatokkal. Az Esm1 termelődését különböző gyulladásos citokinek, illetve proangiogén faktorok, úgy, mint a VEGF szabályozzák. A VEGF jelátvitelhez kapcsolódva, az Esm1 feltételezhetően fontos szerepet játszik a mozgás által indukált neoangiogenezisben [109, 131]. Az Esm1 a fibronectinhez kapcsolódva kiszorítja a fibronectinhez kötött VEGF-A-t, ezzel növelve annak biológiai hozzáférhetőségét, egyúttal

aktiválva VEGF jelátviteli útvonalat [109]. Ebben a vizsgálatban a 12 hetes szabadidős testmozgás eredményeképpen a hím állatok bal, nőstény állatok jobb kamrájában detektált Esm1 szint megemelkedett a CTRL, nem futó állatokéhoz képest. Eredményeink azt mutatják, hogy a rendszeres testmozgás, az Esm1 indukcióján keresztül elősegítheti az angiogenezist; azonban a folyamat háttérében megbúvó szignalizációs útvonalak pontos résztvevői és azok tevékenysége még felderítésre várnak.

A fehérje koncentrációs változások kardioprotektív módon történő megnyilvánulásának bizonyítása érdekében Langendorff-rendszer segítségével, a LAD lekötésével modelleztük a szívinfarktus során/után uralkodó patofiziológiás állapotot. Az öregedéssel együtt járó krónikus, alacsony fokú gyulladás ugyanis elősegíti az endoteliális diszfunkciót, ezáltal súlyosbítva az ateroszklerózis mértékét és növelve az MI előfordulásának kockázatát [132]. A szívizom I/R-károsodással szembeni csökkent toleranciája tehát a szív öregedésével magyarázható. Állatkísérletekkel is alátámasztott tény, hogy az I/R-sérülés mértéke és a kardiomiociták apoptózisa korrelál az öregedéssel [133]. Mivel azonban a sportnak az általános szív működésre gyakorolt kedvező hatásai mellett bizonyítottan védő hatása van az I/R- sérülés esetén is, ezért az I/R előidézése után kiértékeljük a nekrotikus terület arányát mind a futó, mind a nem futó csoportokban. Korábbi munkánk során már kimutattuk, hogy a szabadidős testmozgás csökkentette a MI méretét és védelmet nyújtott az I/R-sérüléssel szemben [110]. Ehhez hasonlóan, jelen vizsgálatban is jelentős javulást tapasztaltunk az infarktus méretének kiterjedésében a 12 hetes szabadidős testmozgás eredményeként. A fehérje koncentrációs eredmények alátámasztásaként kijelenthető, hogy a hosszú távú testedzésnek akut sérülés esetén is védő hatása van.

Összefoglalva elmondható, hogy eredményeink egyértelműen rávilágítanak arra, hogy a rendszeres testmozgás, bizonyos fehérjék expressziójának befolyásolásával mélyrehatóan kedvező változásokat idézhet elő a szív teljesítményében idős korban is. Fontos megjegyezni, hogy a nőstény és hím állatok eredményeit összehasonlítva nemi különbségeket is tapasztaltunk, melyek feltehetőleg a különböző nemi hormonok szteroid receptorain keresztül megvalósuló eltérő genomikus hatásoknak köszönhetőek, azonban ennek pontos háttérének feltérképezéséhez további vizsgálatok szükségesek.

9. Összefoglaló

A várható élettartam növekedésével egyre inkább előtérbe kerülnek az öregedésgátlást és az „egészséges öregedést” targetáló kutatási irányvonalak. Nyilvánvaló, hogy a várható élettartam szorosan összefügg a szív- és érrendszer egészségével, mind ok-okozati viszony, mind prevalencia szempontjából. A korral járó hormonális átalakulást kísérő metabolikus változások és az ezzel egy időben fellépő kardiovaszkuláris rizikófaktorok (gyulladás, oxidatív stressz) együttes jelenléte komoly fenyegetést jelent a szív- és érrendszerre nézve. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) statisztikái alapján a fiatal férfiak nagyobb eséllyel válnak szív- és érrendszeri betegségek áldozatává, mint a hozzájuk hasonló korú nők, habár a menopauza után a nők kardiovaszkuláris veszélyeztetettsége meredeken nő. Ennek magyarázata valószínűleg a nemi hormonok receptorain keresztül megvalósuló széleskörű genomikus és nem genomikus hatásokban keresendő, melyek révén a szteroid hormonok kardioprotektív tulajdonságokkal bírnak. Mindamellet, hogy a kardiovaszkuláris betegségek (CVD) kialakulásában megnyilvánulnak a nemek közti különbségek, szorosan összefüggnek életmódbeli tényezőkkel is. Egy érdekes tanulmány szerint az inaktív életmód, mint jelentős rizikófaktor, 26%-kal képes növelni a metabolikus szindróma kialakulásának esélyét. A betegség velejárója a magas vérzsír szint, felborult zsír- és szénhidrát anyagcsere, illetve magas vérnyomás, mely tényezők predisponálják a CVD-k kialakulását. A rizikófaktorok elleni küzdelem, a nemihormon-hiány okozta társbetegségek, illetve szövődményeinek kezelése egyértelműen csökkentheti a mortalitást és a morbiditást férfiak és nők körében egyaránt. Ezen cél elérésének eszközei az életmódbeli tényezők megváltoztatása, vagy a legfontosabb rizikófaktorok célzott és személyre szabott eliminációja gyógyszeres prevenciós stratégiák alkalmazásával (hormonpótlás).

Első kísérletünk során olyan kísérleti modellt alakítottunk ki, melynek segítségével arra kerestük a választ, vajon a szervezet tesztoszteron szintje korrelál-e a szív oxidáns/antioxidáns egyensúlyával és a gyulladásos paramétereivel, valamint a szervezet metabolikus értékeivel. Munkánk során fiatal (10 hetes) és idős (24 hónapos) hím Wistar patkányokkal dolgoztunk. A természetes öregedéssel járó tesztoszteronszint-csökkenést az idős állatok bevonásával, az abszolút tesztoszteronhiányt pedig sebészi kasztrálással és ciproteron-acetát (2,5 mg/ttkg, *per os*, naponta) alkalmazásával modelleztük. A tesztoszteronhiány mellett, az állatok egy része külső hormonpótlásban (Nebido, 8,0 mg/ttkg, *i.m.* injekció, hetente egyszer) is részesült. A 6 hetes gyógyszeres kezelés után biokémiai mérések segítségével meghatároztuk a bal szívkamra glutation (GSH+GSSG) szintjét, a ciklikus guanozin monofoszfát (cGMP) expresszióját, a

tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- α) gyulladásos citokin koncentrációját, a mieloperoxidáz (MPO) és hem-oxigenáz (HO) enzimek aktivitását, valamint a HO-1 izoforma expresszióját. Az állatokból vett vérmintából pedig detektáltuk a tesztoszteron, a glutamát-oxálacetát-aminotranszferáz (GOT) és a glutamát-piruvát-aminotranszferáz (GPT) koncentrációját.

Eredményeink egyértelműen azt mutatják, hogy az öregedési folyamat, vagy a sebészi kasztráció okozta tesztoszteronhiány rontotta a szív antioxidáns státuszát, mely alacsony GSH tartalommal és a HO paraméterek csökkenésében nyilvánult meg. Mindemellett, a HO-rendszer modulációján keresztül a gyulladásos paraméterek; úgy, mint az MPO és TNF- α is magasabb szintet mutattak, és nem utolsósorban, a GOT és GPT értékek is jelentős mértékben emelkedtek. Ezzel szemben, a hormonpótló terápia hatására mérséklődött az oxidatív károsodás és gyulladás mértéke mind fiatal, mind idős állatok szívében. Ezáltal kijelenthető, hogy a tesztoszteronterápia a szervezetre kifejtett jótékony hatásain keresztül több támadásponton keresztül szolgálta a szív- és érrendszer védelmét.

A tesztoszteronhiányt kísérő kockázati tényezők felmérését követően, az életmód szív- és érrendszert befolyásoló hatásait is vizsgáltuk. Második kísérletsorozatunkban az öregedéssel/hormonhiánnyal együtt járó kóros elváltozások kezelésére nem gyógyszeres, hanem egy alternatív terápiás lehetőséget választottunk. Nevezetesen, a rendszeres testmozgás kardioprotektív hatásainak vizsgálatát tűztük ki célul, a folyamat háttérében megbúvó, kardiovaszkuláris rizikóval összefüggésbe hozható fehérjék funkcióinak feltárásával. Ennek érdekében a kísérlet során, 20 hónapos hím és nőstény Wistar patkányokat fizikai aktivitásuk alapján két csoportra osztottuk. A futó állatokat futókerékkel felszerelt ketrecekben helyeztük el, így 12 héten át a nap bármely időszakában kedvük és igényük szerint végezhettek testmozgást, míg a kontroll (CTRL; testmozgást nem végző) állatok standard ketrecekben töltötték mindennapjaikat a kísérlet végeztéig. A 12 hetes periódus után az állatokat eutanizáltuk, szívüket eltávolítottuk. A szervek egy részét Langendorff perfúziós rendszer segítségével perfundáltuk, a bal leszálló koronária artéria (LAD) lekötését követő 2,3,5-trifenil-tetrazólium-klorid (TTC) festéssel pedig meghatároztuk a szívinfarktusos terület nagyságát. A szívek további részét -80°C -on lefagyasztottuk, majd biokémiai mérések alá vetettük, mely során meghatároztuk a szív katekol-O-metiltranszferáz (COMT), az endotélsejt specifikus molekula-1 (Esm1), Purkinje-protein 4 (Pcp4), és az oszteoglicin (Ogn) fehérjék szintjét. Míg a Pcp4-et, mint kalcium egyensúlyt szabályzó fehérjét, a Comt-ot a katekolamin és katekolamin-ösztrogének lebontását szabályzó enzimként ismerjük, addig az Ogn fokozott expresszióját pedig a legfrissebb kutatások a bal kamra megnövekedett tömegével (LVM)

hozzák összefüggésbe. Az Esm1 végül, de nem utolsó sorban pedig egy fontos proteoglikán lehet a neoangiogenezis folyamatában. Míg a Comt és az Ogn fehérjék esetében a hím futó állatok szívében szignifikáns csökkenést figyeltünk meg; addig a Pcp4 és Esm1 fehérjék koncentrációja mindkét nemben növekedett, továbbá a fehérjék kifejeződésének mértékben szignifikáns eltérést tapasztaltunk a nemek között. A fehérjék koncentrációiban történő változásokkal összhangban a LAD lekötésre válaszul kialakuló iszkémiás sérülés mértéke is nagymértékben lecsökkent a futó állatokban. A nőstény és hím állatok eredményeiben tapasztalt eltérések valószínűsíthetően a különböző nemi hormonok szteroid receptorain keresztül megvalósuló eltérő genomikus hatások eredményeképpen születtek, azonban ezen folyamatok pontos háttérmechanizmusainak feltérképezéséhez további vizsgálatok szükségesek.

Eredményeinkkel bizonyítottuk, hogy a szabadidős testmozgás jótékony hatással van a szív- és érrendszerre, melyet a kardiovaszkuláris rizikóval összefüggésbe hozható fehérjék kifejeződésének mértéke, valamint az infarktusos terület nagysága is alátámaszt. Korábbi, általunk végzett kutatások alapján pedig elmondható, hogy a sport számos más támadásponton keresztül is kardioprotektív, fokozza az antioxidáns enzimek kifejeződését, csökkenti a gyulladásos kaszkád tagjainak expresszióját, és nem utolsó sorban, pozitív hatása a lipid-és szénhidrát anyagcserében előidézett változásokban is megnyilvánul.

Mindezek alapján kijelenthetjük, hogy az általunk felállított hormonhiányos modellekben a tesztoszteronpótlás nagyban hozzájárult a szív normál működéséhez, valamint ezen túlmenően, a rendszeres testmozgás beiktatásával mindkét nem esetében mérséklődtek az öregedéssel járó kardiovaszkuláris rizikótényezők. Általános érvényű igazság, hogy a korral járó hormonális változások és az azok következtében kialakuló hiányállapotok magas kockázatot jelentenek a szív- és érrendszeri megbetegedések szempontjából, azonban kellő odafigyeléssel, életmódbeli változtatásokkal megőrizhető szívünk egészsége.

10. Summary

As life expectancy increases, researches targeting aging prevention and "healthy aging" are increasingly coming to the fore. It is evident, that life expectancy and cardiovascular health are closely related, both from a cause-and-effect perspective and from a prevalence point of view. The combined presence of metabolic changes accompanying the hormonal changes associated with aging and the concomitant cardiovascular risk factors (inflammation, oxidative stress) pose a serious threat to the cardiovascular system. According to World Health Organization (WHO), young men are more likely to suffer from cardiovascular diseases than women of a similar age; although, women's cardiovascular vulnerability increases sharply after menopause. This phenomenon is probably explained by the extensive genomic and non-genomic effects through sex hormone receptors, which confer cardioprotective properties to these steroid hormones. While there are obvious gender differences in the development of cardiovascular diseases (CVD), they are also strongly associated with lifestyle factors. A compelling study found that inactive lifestyle, as an independent risk factor, can increase the chance of developing metabolic syndrome (MS) by 26%. MS is associated with lipid and carbohydrate metabolism disorders and high blood pressure, all of which predispose to CVD. By means of lifestyle changes or targeted and personalised drug-based prevention strategies (hormone replacement) it is possible to combat the aforementioned risk factors and treat the co-morbidities of sex hormone deficiency which can clearly reduce mortality and morbidity in both men and women.

In our first experiment, we were seeking for answers regarding the association of the testosterone level, antioxidant/oxidant system, and anti-inflammatory status related to the heme oxygenase (HO) system. For this purpose, young (10-week-old), and aging (24-month-old) male Wistar rats were involved in our study. Testosterone depletion associated with natural aging was modelled with aging animals, while absolute testosterone deficiency was induced by surgical castration and the administration of cyproterone acetate (2.5 mg/kg, *per os*, daily). Beside testosterone deficiency, one part of the castrated animals received exogenous hormone therapy (Nebido, 8.0 mg/kg, *i.m.* injection, weekly). Following the 6-week-experimental period, biochemical measurements were used to determine the serum levels of testosterone, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic-pyruvic transaminase (GPT), as well as the activity of heme oxygenase (HO) and myeloperoxidase (MPO) enzymes; the concentrations of the HO-1, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and cyclic guanosine monophosphate (cGMP), and the total level of glutathione (GSH + GSSG) in the left ventricle.

Our results clearly show that the aging process or testosterone deficiency caused by surgical castration impaired the antioxidant status of the heart and resulted in higher levels of inflammatory parameters through the modulation of HO system. Last but not least, GOT and GPT values were also elevated in hormone depleted groups. In contrast, hormone replacement therapy reduced cardiac oxidative damage and inflammation in both young and aging animals. Based on our results, it can be concluded that testosterone therapy protected the cardiovascular system through multiple targets.

After assessing the risk factors associated with testosterone deficiency, we examined the impact of lifestyle on the cardiovascular system. In our second experiment, an alternative, non-pharmacological therapeutic approach was selected to treat the degenerative changes associated with aging/hormone deficiency. In particular, our aim was to investigate the voluntary exercise-evoked cardioprotective effects by exploring the function of underlying proteins associated with cardiovascular risk. To this end, 20-month-old male and female Wistar rats were divided into two groups according to their physical activity. Running animals were housed in cages with running wheels, allowing them to exercise at any time of the day for 12 weeks according to their preferences and needs, while control (CTRL) animals were placed in standard cages until the end of the experiment. After the 12-week period, all animals were euthanized and their hearts were removed. One part of the rat hearts were perfused via Langendorff system and after the occlusion of left anterior descending coronary artery (LAD) infarcted area was detected by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining. The other part of the hearts were frozen at -80°C until biochemical measurements; during which the levels of cardiac catechol-O-methyltransferase (COMT), endothelial cell specific molecule-1 (Esm1), Purkinje protein 4 (Pcp4), and osteoglycine (Ogn) proteins were detected.

All selected proteins are somehow strongly linked to cardiovascular risk. Pcp4 is known as a calcium-balancing protein, Comt is acknowledged as an enzyme regulating the breakdown of catecholamines and catecholamine estrogens. Recent research has found that Ogn is an effective regulator of left ventricle mass (LVM). Last but not least, Esm1 may be an important proteoglycan in the process of neoangiogenesis. While, in the case of Comt and Ogn proteins we observed a significant decrease in the heart of running animals, Pcp4 and Esm1 protein levels were increased in female and male rats, with clearly visible sex differences. Consistent with the changes in protein expression, in response to LAD occlusion a significant attenuation was detected in the necrotic extension of the heart in both sexes. The differences between the results of female and male animals are likely to be as a consequence of the genomic effects

manifested via different steroid receptors. Therefore, further studies are needed to elucidate the exact underlying mechanisms of the results observed.

Our results demonstrate that long-term voluntary exercise can profoundly induce beneficial changes in the heart, as underpinned by the concentrations of proteins associated with cardiovascular risk and the infarct size. Based on our previous studies, it can be further concluded that physical activity is cardioprotective through a number of other targets as well; it enhances the activity of antioxidant enzymes, reduces the expression of several inflammatory cascade members and, last but not least, its positive effects are also manifested in changes in lipid and carbohydrate metabolism.

All these results suggest that although aging is strongly associated with oxidative damages, exogenous hormone therapy restored the adverse antioxidant/inflammatory balance in the heart; thus testosterone supplementation has been shown to contribute to maintain cardiac homeostasis. In addition to hormone therapy, long-term exercise has also been shown to be decisive in reducing cardiovascular risk associated with aging in both sexes. It is an universal truth that age-related hormonal changes and the resulting degenerative conditions are a high risk for cardiovascular disease; however, by means of lifestyle changes and high potential preventive strategies, we have a chance to preserve our cardiovascular health.

11. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Dr. Varga Csaba tanszékvezető egyetemi docensnek, hogy szakdolgozó éveimtől kezdve támogatott és biztosította számomra a kutatás feltételeit az Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszéken. Köszönettel tartozom továbbá bölcs tanácsaiért és gondolatébresztő meglátásaiért, melyekre mindig számíthattam kutatómunkám során.

Köszönöm Dr. Pósa Anikó egyetemi docensnek, hogy észrevételeivel hozzájárult szakmai fejlődésemhez és doktori munkám elkészítéséhez.

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

Köszönöm egykori és jelenlegi munkatársaimnak, Dr. Almási Nikolettának, Dr. Amin Al-Awarnak, Csonka Anettnek, Dr. Hegyköziné Veszélka Médeának, Kedvesné Dr. Kupai Krisztinának, Magyarai Ferencnek, Magyariné Dr. Berkó Anikónak, Nagyné Hoffmann Alexandrának, Pálszabó Andreának, Pálszabó Patrícianak és Török Szilviának a kísérletekben nyújtott segítségükért, hasznos tanácsaikért.

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

Nem fejezhetem ki eléggé hálámat Drága 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 Debreceni Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet munkatársainak segítségét.

12. Irodalomjegyzék

- [1] E. Banks, J. Welsh, G. Joshy, M. Martin, E. Paige, R.J. Korda, Comparison of cardiovascular disease risk factors, assessment and management in men and women, including consideration of absolute risk: a nationally representative cross-sectional study, *BMJ Open* 10(12) (2020) e038761.
- [2] A.H. Maas, Y.E. Appelman, Gender differences in coronary heart disease, *Neth Heart J* 18(12) (2010) 598-602.
- [3] R. Szabo, A. Hoffmann, D. Borzsei, K. Kupai, M. Veszeka, A.M. Berko, I. Pavo, R. Gesztelyi, B. Juhasz, Z. Turcsan, A. Posa, C. Varga, Hormone Replacement Therapy and Aging: A Potential Therapeutic Approach for Age-Related Oxidative Stress and Cardiac Remodeling, *Oxid Med Cell Longev* 2021 (2021) 8364297.
- [4] Z.R. Tang, R. Zhang, Z.X. Lian, S.L. Deng, K. Yu, Estrogen-Receptor Expression and Function in Female Reproductive Disease, *Cells* 8(10) (2019).
- [5] M.G. Oyola, R.J. Handa, Hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity, *Stress* 20(5) (2017) 476-494.
- [6] C.S. Atwood, Alzheimer's disease: the impact of age-related changes in reproductive hormones, *Cell Mol Life Sci* 62(3) (2005) 255-6.
- [7] M. Almeida, M.R. Laurent, V. Dubois, F. Claessens, C.A. O'Brien, R. Bouillon, D. Vanderschueren, S.C. Manolagas, Estrogens and Androgens in Skeletal Physiology and Pathophysiology, *Physiol Rev* 97(1) (2017) 135-187.
- [8] J. Nettleship, R. Jones, K. Channer, T. Jones, Testosterone and coronary artery disease, *Front Horm Res* 37 (2009) 91-107.
- [9] Y.S. Zhu, M.D. Katz, J. Imperato-McGinley, Natural potent androgens: lessons from human genetic models, *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 12(1) (1998) 83-113.
- [10] Y.S. Zhu, Molecular Basis of Steroid Action in the Prostate, *Cellscience* 1(4) (2005) 27-55.
- [11] V. Mularoni, V. Esposito, S. Di Persio, E. Vicini, G. Spadetta, P. Berloco, F. Fanelli, M. Mezzullo, U. Pagotto, C. Pelusi, J.E. Nielsen, E. Rajpert-De Meyts, N. Jorgensen, A. Jorgensen, C. Boitani, Age-related changes in human Leydig cell status, *Hum Reprod* 35(12) (2020) 2663-2676.
- [12] M.P. Czub, B.S. Venkataramany, K.A. Majorek, K.B. Handing, P.J. Porebski, S.R. Beeram, K. Suh, A.G. Woolfork, D.S. Hage, I.G. Shabalin, W. Minor, Testosterone meets

albumin - the molecular mechanism of sex hormone transport by serum albumins, *Chem Sci* 10(6) (2019) 1607-1618.

[13] R.A. Davey, M. Grossmann, Androgen Receptor Structure, Function and Biology: From Bench to Bedside, *Clin Biochem Rev* 37(1) (2016) 3-15.

[14] I.E. Eder, Z. Culig, T. Putz, C. Nessler-Menardi, G. Bartsch, H. Klocker, Molecular biology of the androgen receptor: from molecular understanding to the clinic, *Eur Urol* 40(3) (2001) 241-51.

[15] M. Estrada, A. Espinosa, M. Muller, E. Jaimovich, Testosterone stimulates intracellular calcium release and mitogen-activated protein kinases via a G protein-coupled receptor in skeletal muscle cells, *Endocrinology* 144(8) (2003) 3586-97.

[16] F. Er, G. Michels, N. Gassanov, F. Rivero, U.C. Hoppe, Testosterone induces cytoprotection by activating ATP-sensitive K⁺ channels in the cardiac mitochondrial inner membrane, *Circulation* 110(19) (2004) 3100-7.

[17] R.A. Lopes, K.B. Neves, F.S. Carneiro, R.C. Tostes, Testosterone and vascular function in aging, *Front Physiol* 3 (2012) 89.

[18] C.J. Malkin, P.J. Pugh, R.D. Jones, D. Kapoor, K.S. Channer, T.H. Jones, The effect of testosterone replacement on endogenous inflammatory cytokines and lipid profiles in hypogonadal men, *J Clin Endocrinol Metab* 89(7) (2004) 3313-8.

[19] S.R. Pye, I.T. Huhtaniemi, J.D. Finn, D.M. Lee, T.W. O'Neill, A. Tajar, G. Bartfai, S. Boonen, F.F. Casanueva, G. Forti, A. Giwercman, T.S. Han, K. Kula, M.E. Lean, N. Pendleton, M. Punab, M.K. Rutter, D. Vanderschueren, F.C. Wu, E.S. Group, Late-onset hypogonadism and mortality in aging men, *J Clin Endocrinol Metab* 99(4) (2014) 1357-66.

[20] R.C. Tostes, F.S. Carneiro, M.H. Carvalho, J.F. Reckelhoff, Reactive oxygen species: players in the cardiovascular effects of testosterone, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 310(1) (2016) R1-14.

[21] K. A. Walters, Polycystic ovary syndrome: Is it androgen or estrogen receptor?, *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research* 12 (2020) 1-7.

[22] C. Xiao, J. Wang, C. Zhang, Synthesis, Regulatory Factors, and Signaling Pathways of Estrogen in the Ovary, *Reprod Sci* (2022).

[23] H.I. Su, E.W. Freeman, Hormone changes associated with the menopausal transition, *Minerva Ginecol* 61(6) (2009) 483-9.

[24] N. Fuentes, P. Silveyra, Estrogen receptor signaling mechanisms, *Adv Protein Chem Struct Biol* 116 (2019) 135-170.

- [25] L. Aryan, D. Younessi, M. Zargari, S. Banerjee, J. Agopian, S. Rahman, R. Borna, G. Ruffenach, S. Umar, M. Eghbali, The Role of Estrogen Receptors in Cardiovascular Disease, *Int J Mol Sci* 21(12) (2020).
- [26] F. Mauvais-Jarvis, Estrogen and androgen receptors: regulators of fuel homeostasis and emerging targets for diabetes and obesity, *Trends Endocrinol Metab* 22(1) (2011) 24-33.
- [27] R. Puglisi, G. Mattia, A. Care, G. Marano, W. Malorni, P. Matarrese, Non-genomic Effects of Estrogen on Cell Homeostasis and Remodeling With Special Focus on Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury, *Front Endocrinol (Lausanne)* 10 (2019) 733.
- [28] A. Posa, R. Szabo, A. Csonka, M. Veszeka, A.M. Berko, Z. Barath, R. Menesi, I. Pavo, M. Gyongyosi, F. Laszlo, K. Kupai, C. Varga, Endogenous Estrogen-Mediated Heme Oxygenase Regulation in Experimental Menopause, *Oxid Med Cell Longev* 2015 (2015) 429713.
- [29] A.W. van den Beld, J.M. Kaufman, M.C. Zillikens, S.W.J. Lamberts, J.M. Egan, A.J. van der Lely, The physiology of endocrine systems with ageing, *Lancet Diabetes Endocrinol* 6(8) (2018) 647-658.
- [30] F. Al-Azzawi, S. Palacios, Hormonal changes during menopause, *Maturitas* 63(2) (2009) 135-7.
- [31] M.C. Decaroli, V. Rochira, Aging and sex hormones in males, *Virulence* 8(5) (2017) 545-570.
- [32] K. Ueda, Y. Adachi, P. Liu, N. Fukuma, E. Takimoto, Regulatory Actions of Estrogen Receptor Signaling in the Cardiovascular System, *Front Endocrinol (Lausanne)* 10 (2019) 909.
- [33] A. Posa, K. Kupai, R. Menesi, Z. Szalai, R. Szabo, Z. Pinter, G. Palfi, M. Gyongyosi, A. Berko, I. Pavo, C. Varga, Sexual dimorphism of cardiovascular ischemia susceptibility is mediated by heme oxygenase, *Oxid Med Cell Longev* 2013 (2013) 521563.
- [34] F. Lizcano, G. Guzman, Estrogen Deficiency and the Origin of Obesity during Menopause, *Biomed Res Int* 2014 (2014) 757461.
- [35] H. Kawano, The relationship between testosterone and metabolic syndrome, *Hypertens Res* 33(6) (2010) 537-8.
- [36] C. Franceschi, J. Campisi, Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases, *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 69 Suppl 1 (2014) S4-9.
- [37] T. Liu, L. Zhang, D. Joo, S.C. Sun, NF-kappaB signaling in inflammation, *Signal Transduct Target Ther* 2 (2017).

- [38] J.S. Tilstra, C.L. Clauson, L.J. Niedernhofer, P.D. Robbins, NF-kappaB in Aging and Disease, *Aging Dis* 2(6) (2011) 449-65.
- [39] G.J. Pan, B.S. Rayner, Y. Zhang, D.M. van Reyk, C.L. Hawkins, A pivotal role for NF-kappaB in the macrophage inflammatory response to the myeloperoxidase oxidant hypothiocyanous acid, *Arch Biochem Biophys* 642 (2018) 23-30.
- [40] L. Ferrucci, E. Fabbri, Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty, *Nat Rev Cardiol* 15(9) (2018) 505-522.
- [41] B. Singla, R. Holmdahl, G. Csanyi, Editorial: Oxidants and Redox Signaling in Inflammation, *Front Immunol* 10 (2019) 545.
- [42] D. Harman, The biologic clock: the mitochondria?, *J Am Geriatr Soc* 20(4) (1972) 145-7.
- [43] F. Marzatico, O. Pansarasa, L. Bertorelli, L. Somenzini, G. Della Valle, Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes, *J Sports Med Phys Fitness* 37(4) (1997) 235-9.
- [44] C.A. Juan, J.M. Perez de la Lastra, F.J. Plou, E. Perez-Lebena, The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies, *Int J Mol Sci* 22(9) (2021).
- [45] D. Salisbury, U. Bronas, Reactive oxygen and nitrogen species: impact on endothelial dysfunction, *Nurs Res* 64(1) (2015) 53-66.
- [46] J. Frijhoff, P.G. Winyard, N. Zarkovic, S.S. Davies, R. Stocker, D. Cheng, A.R. Knight, E.L. Taylor, J. Oettrich, T. Ruskovska, A.C. Gasparovic, A. Cuadrado, D. Weber, H.E. Poulsen, T. Grune, H.H. Schmidt, P. Ghezzi, Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress, *Antioxid Redox Signal* 23(14) (2015) 1144-70.
- [47] K. Venkataraman, S. Khurana, T.C. Tai, Oxidative stress in aging--matters of the heart and mind, *Int J Mol Sci* 14(9) (2013) 17897-925.
- [48] J.M. Lu, P.H. Lin, Q. Yao, C. Chen, Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems, *J Cell Mol Med* 14(4) (2010) 840-60.
- [49] T. Fukai, M. Ushio-Fukai, Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases, *Antioxid Redox Signal* 15(6) (2011) 1583-606.
- [50] V.I. Lushchak, Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions, *J Amino Acids* 2012 (2012) 736837.
- [51] D.P. Jones, Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance, *Methods Enzymol* 348 (2002) 93-112.

- [52] D. Borzsei, R. Szabo, A. Hoffmann, M. Veszelka, I. Pavo, Z. Turcsan, C. Viczian, K. Kupai, C. Varga, A. Posa, Distinct Approaches of Raloxifene: Its Far-Reaching Beneficial Effects Implicating the HO-System, *Biomolecules* 10(3) (2020).
- [53] J.A. Araujo, M. Zhang, F. Yin, Heme oxygenase-1, oxidation, inflammation, and atherosclerosis, *Front Pharmacol* 3 (2012) 119.
- [54] D. Stucki, J. Steinhausen, P. Westhoff, H. Krah, D. Brilhaus, A. Massenberg, A.P.M. Weber, A.S. Reichert, P. Brenneisen, W. Stahl, Endogenous Carbon Monoxide Signaling Modulates Mitochondrial Function and Intracellular Glucose Utilization: Impact of the Heme Oxygenase Substrate Hemin, *Antioxidants (Basel)* 9(8) (2020).
- [55] L.E. Otterbein, F.H. Bach, J. Alam, M. Soares, H. Tao Lu, M. Wysk, R.J. Davis, R.A. Flavell, A.M. Choi, Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway, *Nat Med* 6(4) (2000) 422-8.
- [56] D.E. Stec, H.A. Drummond, T. Vera, Role of carbon monoxide in blood pressure regulation, *Hypertension* 51(3) (2008) 597-604.
- [57] A.R. Poetsch, The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis, *Comput Struct Biotechnol J* 18 (2020) 207-219.
- [58] A. Martin-Montalvo, E.M. Mercken, S.J. Mitchell, H.H. Palacios, P.L. Mote, M. Scheibye-Knudsen, A.P. Gomes, T.M. Ward, R.K. Minor, M.J. Blouin, M. Schwab, M. Pollak, Y. Zhang, Y. Yu, K.G. Becker, V.A. Bohr, D.K. Ingram, D.A. Sinclair, N.S. Wolf, S.R. Spindler, M. Bernier, R. de Cabo, Metformin improves healthspan and lifespan in mice, *Nat Commun* 4 (2013) 2192.
- [59] E. Morselli, L. Galluzzi, O. Kepp, A. Criollo, M.C. Maiuri, N. Tavernarakis, F. Madeo, G. Kroemer, Autophagy mediates pharmacological lifespan extension by spermidine and resveratrol, *Aging (Albany NY)* 1(12) (2009) 961-70.
- [60] P. Abete, C. Napoli, G. Santoro, N. Ferrara, I. Tritto, M. Chiariello, F. Rengo, G. Ambrosio, Age-related decrease in cardiac tolerance to oxidative stress, *J Mol Cell Cardiol* 31(1) (1999) 227-36.
- [61] A. Biragyn, L. Ferrucci, Gut dysbiosis: a potential link between increased cancer risk in ageing and inflammaging, *Lancet Oncol* 19(6) (2018) e295-e304.
- [62] B.J. North, D.A. Sinclair, The intersection between aging and cardiovascular disease, *Circ Res* 110(8) (2012) 1097-108.
- [63] J.L. Fleg, F. O'Connor, G. Gerstenblith, L.C. Becker, J. Clulow, S.P. Schulman, E.G. Lakatta, Impact of age on the cardiovascular response to dynamic upright exercise in healthy men and women, *J Appl Physiol* (1985) 78(3) (1995) 890-900.

- [64] C.W. Doering, J.E. Jalil, J.S. Janicki, R. Pick, S. Aghili, C. Abrahams, K.T. Weber, Collagen network remodelling and diastolic stiffness of the rat left ventricle with pressure overload hypertrophy, *Cardiovasc Res* 22(10) (1988) 686-95.
- [65] J.B. Strait, E.G. Lakatta, Aging-associated cardiovascular changes and their relationship to heart failure, *Heart Fail Clin* 8(1) (2012) 143-64.
- [66] G. Olivetti, M. Melissari, J.M. Capasso, P. Anversa, Cardiomyopathy of the aging human heart. Myocyte loss and reactive cellular hypertrophy, *Circ Res* 68(6) (1991) 1560-8.
- [67] Y.A. Chiao, Q. Dai, J. Zhang, J. Lin, E.F. Lopez, S.S. Ahuja, Y.M. Chou, M.L. Lindsey, Y.F. Jin, Multi-analyte profiling reveals matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemotactic protein-1 as plasma biomarkers of cardiac aging, *Circ Cardiovasc Genet* 4(4) (2011) 455-62.
- [68] D.D. Bonnema, C.S. Webb, W.R. Pennington, R.E. Stroud, A.E. Leonardi, L.L. Clark, C.D. McClure, L. Finklea, F.G. Spinale, M.R. Zile, Effects of age on plasma matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs), *J Card Fail* 13(7) (2007) 530-40.
- [69] C.A. Meschiari, O.K. Ero, H. Pan, T. Finkel, M.L. Lindsey, The impact of aging on cardiac extracellular matrix, *Geroscience* 39(1) (2017) 7-18.
- [70] M. Steenman, G. Lande, Cardiac aging and heart disease in humans, *Biophys Rev* 9(2) (2017) 131-137.
- [71] E. Petretto, R. Sarwar, I. Grieve, H. Lu, M.K. Kumaran, P.J. Muckett, J. Mangion, B. Schroen, M. Benson, P.P. Punjabi, S.K. Prasad, D.J. Pennell, C. Kiewewetter, E.S. Tasheva, L.M. Corpuz, M.D. Webb, G.W. Conrad, T.W. Kurtz, V. Kren, J. Fischer, N. Hubner, Y.M. Pinto, M. Pravenec, T.J. Aitman, S.A. Cook, Integrated genomic approaches implicate osteoglycin (Ogn) in the regulation of left ventricular mass, *Nat Genet* 40(5) (2008) 546-52.
- [72] Y. Hu, J. Liu, Q. Zhao, P. Xu, Y. Chen, H. Zhou, X. Li, Correlation between mimecan expression and coronary artery stenosis in patients with coronary heart disease, *Int J Clin Exp Med* 8(11) (2015) 21641-6.
- [73] Y.Y. Xie, M.M. Sun, X.F. Lou, C. Zhang, F. Han, B.Y. Zhang, P. Wang, Y.M. Lu, Overexpression of PEP-19 suppresses angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy, *J Pharmacol Sci* 125(3) (2014) 274-82.
- [74] E.E. Kim, A. Shekhar, J. Lu, X. Lin, F.Y. Liu, J. Zhang, M. Delmar, G.I. Fishman, PCP4 regulates Purkinje cell excitability and cardiac rhythmicity, *J Clin Invest* 124(11) (2014) 5027-36.

- [75] A. Adameova, Y. Abdellatif, N.S. Dhalla, Role of the excessive amounts of circulating catecholamines and glucocorticoids in stress-induced heart disease, *Can J Physiol Pharmacol* 87(7) (2009) 493-514.
- [76] A. Almas, Y. Forsell, V. Millischer, J. Moller, C. Lavebratt, Association of Catechol-O-methyltransferase (COMT Val(158)Met) with future risk of cardiovascular disease in depressed individuals - a Swedish population-based cohort study, *BMC Med Genet* 19(1) (2018) 126.
- [77] L.S. Carneiro, A.M. Fonseca, P. Serrao, M.P. Mota, J. Vasconcelos-Raposo, M.A. Vieira-Coelho, Impact of physical exercise on catechol-O-methyltransferase activity in depressive patients: A preliminary communication, *J Affect Disord* 193 (2016) 117-22.
- [78] A. Barbonetti, S. D'Andrea, S. Francavilla, Testosterone replacement therapy, *Andrology* 8(6) (2020) 1551-1566.
- [79] Z.J. Kharaba, M.A. Buabeid, N.A. Ibrahim, F.J. Jirjees, H.J.A. Obaidi, A. Kaddaha, L. Khajehkarimoddini, Y. Alfoteih, Testosterone therapy in hypogonadal patients and the associated risks of cardiovascular events, *Biomed Pharmacother* 129 (2020) 110423.
- [80] O.D. Lee, K. Tillman, An Overview of Testosterone Therapy, *Am J Mens Health* 10(1) (2016) 68-72.
- [81] J.J. Pinzone, H. Stevenson, J.S. Strobl, P.E. Berg, Molecular and cellular determinants of estrogen receptor alpha expression, *Mol Cell Biol* 24(11) (2004) 4605-12.
- [82] I. Lambrinoudaki, Progestogens in postmenopausal hormone therapy and the risk of breast cancer, *Maturitas* 77(4) (2014) 311-7.
- [83] M.S. Perkins, R. Louw-du Toit, D. Africander, Hormone Therapy and Breast Cancer: Emerging Steroid Receptor Mechanisms, *J Mol Endocrinol* 61(4) (2018) R133-R160.
- [84] S. Martinkovich, D. Shah, S.L. Planey, J.A. Arnott, Selective estrogen receptor modulators: tissue specificity and clinical utility, *Clin Interv Aging* 9 (2014) 1437-52.
- [85] A. Posa, R. Szabo, K. Kupai, A.M. Berko, M. Veszeka, G. Szucs, D. Borzsei, M. Gyongyosi, I. Pavo, Z. Deim, Z. Szilvassy, B. Juhasz, C. Varga, Cardioprotective Effect of Selective Estrogen Receptor Modulator Raloxifene Are Mediated by Heme Oxygenase in Estrogen-Deficient Rat, *Oxid Med Cell Longev* 2017 (2017) 2176749.
- [86] S. Bhasin, G.R. Cunningham, F.J. Hayes, A.M. Matsumoto, P.J. Snyder, R.S. Swerdloff, V.M. Montori, Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an endocrine society clinical practice guideline, *J Clin Endocrinol Metab* 91(6) (2006) 1995-2010.
- [87] E. Ventimiglia, S. Ippolito, P. Capogrosso, F. Pederzoli, W. Cazzaniga, L. Boeri, I. Cavarretta, M. Alfano, P. Vigano, F. Montorsi, A. Salonia, Primary, secondary and

compensated hypogonadism: a novel risk stratification for infertile men, *Andrology* 5(3) (2017) 505-510.

[88] T. Goodale, A. Sadhu, S. Petak, R. Robbins, Testosterone and the Heart, *Methodist Debaquey Cardiovasc J* 13(2) (2017) 68-72.

[89] S.Y. Li, Y.L. Zhao, Y.F. Yang, X. Wang, M. Nie, X.Y. Wu, J.F. Mao, Metabolic Effects of Testosterone Replacement Therapy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus or Metabolic Syndrome: A Meta-Analysis, *Int J Endocrinol* 2020 (2020) 4732021.

[90] H. Kaur, G.H. Werstuck, The Effect of Testosterone on Cardiovascular Disease and Cardiovascular Risk Factors in Men: A Review of Clinical and Preclinical Data, *CJC Open* 3(10) (2021) 1238-1248.

[91] M.G. Figueiredo, T. Gagliano-Juca, S. Basaria, Testosterone Therapy With Subcutaneous Injections: A Safe, Practical, and Reasonable Option, *J Clin Endocrinol Metab* 107(3) (2022) 614-626.

[92] M.I. Ullah, D.M. Riche, C.A. Koch, Transdermal testosterone replacement therapy in men, *Drug Des Devel Ther* 8 (2014) 101-12.

[93] E.C. Osterberg, A.M. Bernie, R. Ramasamy, Risks of testosterone replacement therapy in men, *Indian J Urol* 30(1) (2014) 2-7.

[94] S. Guo, Y. Huang, Y. Zhang, H. Huang, S. Hong, T. Liu, Impacts of exercise interventions on different diseases and organ functions in mice, *J Sport Health Sci* 9(1) (2020) 53-73.

[95] S. Carbone, M.G. Del Buono, C. Ozemek, C.J. Lavie, Obesity, risk of diabetes and role of physical activity, exercise training and cardiorespiratory fitness, *Prog Cardiovasc Dis* 62(4) (2019) 327-333.

[96] C. Simioni, G. Zauli, A.M. Martelli, M. Vitale, G. Sacchetti, A. Gonelli, L.M. Neri, Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging, *Oncotarget* 9(24) (2018) 17181-17198.

[97] M.J. Harutyunyan, A.B. Mathiasen, P. Winkel, J.P. Gotze, J.F. Hansen, P. Hildebrandt, G.B. Jensen, J. Hilden, C.M. Jespersen, E. Kjoller, H.J. Kolmos, C. Gluud, J. Kastrup, C.T. Group, High-sensitivity C-reactive protein and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with stable coronary artery disease: a prognostic study within the CLARICOR trial, *Scand J Clin Lab Invest* 71(1) (2011) 52-62.

[98] M.A. Bouzid, E. Filaire, A. McCall, C. Fabre, Radical Oxygen Species, Exercise and Aging: An Update, *Sports Med* 45(9) (2015) 1245-1261.

[99] S. Golbidi, M. Badran, I. Laher, Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients, *Exp Diabetes Res* 2012 (2012) 941868.

- [100] J.M. McBride, J.B. Blaak, T. Triplett-McBride, Effect of resistance exercise volume and complexity on EMG, strength, and regional body composition, *Eur J Appl Physiol* 90(5-6) (2003) 626-32.
- [101] A.S. Elokda, D.H. Nielsen, Effects of exercise training on the glutathione antioxidant system, *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 14(5) (2007) 630-7.
- [102] B.K. Pedersen, Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease, *Eur J Clin Invest* 47(8) (2017) 600-611.
- [103] A.M. Petersen, B.K. Pedersen, The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise, *J Physiol Pharmacol* 57 Suppl 10 (2006) 43-51.
- [104] D. Borzsei, D. Priksz, R. Szabo, M. Bombicz, Z. Karacsonyi, L.G. Puskas, L.Z. Feher, Z. Radak, K. Kupai, A.M. Berko, C. Varga, B. Juhasz, A. Posa, Exercise-mitigated sex-based differences in aging: from genetic alterations to heart performance, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 320(2) (2021) H854-H866.
- [105] R.H. Fagard, Exercise is good for your blood pressure: effects of endurance training and resistance training, *Clin Exp Pharmacol Physiol* 33(9) (2006) 853-6.
- [106] B.T. Esch, J.M. Scott, M.J. Haykowsky, D.C. McKenzie, D.E. Warburton, Diastolic ventricular interactions in endurance-trained athletes during orthostatic stress, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293(1) (2007) H409-15.
- [107] A.V. Nosarev, L.V. Smagliy, Y. Anfinogenova, S.V. Popov, L.V. Kapilevich, Exercise and NO production: relevance and implications in the cardiopulmonary system, *Front Cell Dev Biol* 2 (2014) 73.
- [108] R.W.P. Kissane, O. Wright, Y.D. Al'Joboori, P. Marczak, R.M. Ichiyama, S. Egginton, Effects of treadmill training on microvascular remodeling in the rat after spinal cord injury, *Muscle Nerve* 59(3) (2019) 370-379.
- [109] S.F. Rocha, M. Schiller, D. Jing, H. Li, S. Butz, D. Vestweber, D. Biljes, H.C. Drexler, M. Nieminen-Kelha, P. Vajkoczy, S. Adams, R. Benedito, R.H. Adams, Esm1 modulates endothelial tip cell behavior and vascular permeability by enhancing VEGF bioavailability, *Circ Res* 115(6) (2014) 581-90.
- [110] A. Posa, R. Szabo, K. Kupai, Z. Barath, Z. Szalai, A. Csonka, M. Veszeka, M. Gyongyosi, Z. Radak, R. Menesi, I. Pavo, A.M. Berko, C. Varga, Cardioprotective effects of voluntary exercise in a rat model: role of matrix metalloproteinase-2, *Oxid Med Cell Longev* 2015 (2015) 876805.
- [111] W.H. Organization, Cardiovascular diseases (CVDs) Fact sheet. <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))>, 2021).

- [112] J.C. Duvigneau, H. Esterbauer, A.V. Kozlov, Role of Heme Oxygenase as a Modulator of Heme-Mediated Pathways, *Antioxidants (Basel)* 8(10) (2019).
- [113] R. Demirbag, R. Yilmaz, O. Erel, The association of total antioxidant capacity with sex hormones, *Scand Cardiovasc J* 39(3) (2005) 172-6.
- [114] I. Liguori, G. Russo, F. Curcio, G. Bulli, L. Aran, D. Della-Morte, G. Gargiulo, G. Testa, F. Cacciatore, D. Bonaduce, P. Abete, Oxidative stress, aging, and diseases, *Clin Interv Aging* 13 (2018) 757-772.
- [115] V.E. Bianchi, The Anti-Inflammatory Effects of Testosterone, *J Endocr Soc* 3(1) (2019) 91-107.
- [116] H. Jin, W.B. Qiu, Y.F. Mei, D.M. Wang, Y.G. Li, X.R. Tan, Testosterone alleviates tumor necrosis factor-alpha-mediated tissue factor pathway inhibitor downregulation via suppression of nuclear factor-kappa B in endothelial cells, *Asian J Androl* 11(2) (2009) 266-71.
- [117] R. Haring, S.E. Baumeister, H. Volzke, M. Dorr, T. Kocher, M. Nauck, H. Wallaschofski, Prospective inverse associations of sex hormone concentrations in men with biomarkers of inflammation and oxidative stress, *J Androl* 33(5) (2012) 944-50.
- [118] Y. Aratani, Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function, *Arch Biochem Biophys* 640 (2018) 47-52.
- [119] M.H. Kapturczak, C. Wasserfall, T. Brusko, M. Campbell-Thompson, T.M. Ellis, M.A. Atkinson, A. Agarwal, Heme oxygenase-1 modulates early inflammatory responses: evidence from the heme oxygenase-1-deficient mouse, *Am J Pathol* 165(3) (2004) 1045-53.
- [120] A.K. Lucas-Herald, R. Alves-Lopes, A.C. Montezano, S.F. Ahmed, R.M. Touyz, Genomic and non-genomic effects of androgens in the cardiovascular system: clinical implications, *Clin Sci (Lond)* 131(13) (2017) 1405-1418.
- [121] J.J. Cai, J. Wen, W.H. Jiang, J. Lin, Y. Hong, Y.S. Zhu, Androgen actions on endothelium functions and cardiovascular diseases, *J Geriatr Cardiol* 13(2) (2016) 183-96.
- [122] A. Paine, B. Eiz-Vesper, R. Blasczyk, S. Immenschuh, Signaling to heme oxygenase-1 and its anti-inflammatory therapeutic potential, *Biochem Pharmacol* 80(12) (2010) 1895-903.
- [123] N.O. Rizzo, E. Maloney, M. Pham, I. Luttrell, H. Wessells, S. Tateya, G. Daum, P. Handa, M.W. Schwartz, F. Kim, Reduced NO-cGMP signaling contributes to vascular inflammation and insulin resistance induced by high-fat feeding, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30(4) (2010) 758-65.
- [124] S.F. Weng, J. Kai, I.N. Guha, N. Qureshi, The value of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in cardiovascular disease risk assessment, *Open Heart* 2(1) (2015) e000272.

- [125] A.L. Eriksson, S. Skrtic, A. Niklason, L.M. Hulten, O. Wiklund, T. Hedner, C. Ohlsson, Association between the low activity genotype of catechol-O-methyltransferase and myocardial infarction in a hypertensive population, *Eur Heart J* 25(5) (2004) 386-91.
- [126] S. Deckx, S. Heymans, A.P. Papageorgiou, The diverse functions of osteoglycin: a deceitful dwarf, or a master regulator of disease?, *FASEB J* 30(8) (2016) 2651-61.
- [127] H. Feng, H. Li, D. Zhang, Y. Zhao, N. Jiang, X. Zhao, Y.U. Zhang, J. Tan, W. Fang, Y. Zhang, W. Liu, Aortic wall proteomic analysis in spontaneously hypertensive rats with a blood pressure decrease induced by 6-week load-free swimming, *Biomed Rep* 3(5) (2015) 681-686.
- [128] M. Hjorth, F. Norheim, A.J. Meen, S. Pourteymour, S. Lee, T. Holen, J. Jensen, K.I. Birkeland, V.N. Martinov, T.M. Langleite, K. Eckardt, C.A. Drevon, S.O. Kolset, The effect of acute and long-term physical activity on extracellular matrix and serglycin in human skeletal muscle, *Physiol Rep* 3(8) (2015).
- [129] V. Jazbutyte, J. Fiedler, S. Kneitz, P. Galuppo, A. Just, A. Holzmann, J. Bauersachs, T. Thum, MicroRNA-22 increases senescence and activates cardiac fibroblasts in the aging heart, *Age (Dordr)* 35(3) (2013) 747-62.
- [130] D. Garcia-Dorado, M. Ruiz-Meana, J. Inserte, A. Rodriguez-Sinovas, H.M. Piper, Calcium-mediated cell death during myocardial reperfusion, *Cardiovasc Res* 94(2) (2012) 168-80.
- [131] H. Xu, X. Chen, Z. Huang, Identification of ESM1 overexpressed in head and neck squamous cell carcinoma, *Cancer Cell Int* 19 (2019) 118.
- [132] M. Ruiz-Meana, D. Bou-Teen, P. Ferdinandy, M. Gyongyosi, M. Pesce, C. Perrino, R. Schulz, J.P.G. Sluijter, C.G. Tocchetti, T. Thum, R. Madonna, Cardiomyocyte ageing and cardioprotection: consensus document from the ESC working groups cell biology of the heart and myocardial function, *Cardiovasc Res* 116(11) (2020) 1835-1849.
- [133] M. Liu, P. Zhang, M. Chen, W. Zhang, L. Yu, X.C. Yang, Q. Fan, Aging might increase myocardial ischemia / reperfusion-induced apoptosis in humans and rats, *Age (Dordr)* 34(3) (2012) 621-32.

Tudományos közlemények listája:

Börzsei Denise MTMT azonosító: 10062102

A doktori eljárás alapját képező 2 db közlemény:

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, Switzerland), 8(8), 288.
<https://doi.org/10.3390/antiox8080288>

**megosztott elsőszerezőség*

IF: 4,520

Börzsei, D. *, Priksz, D., Szabó, R., Bombicz, M., Karácsonyi, Z., Puskás, L. G., Fehér, L. Z., Radák, Z., Kupai, K., Berkó, A. M., Varga, C., Juhász, B., & Pósa, A. (2021). *Exercise-mitigated sex-based differences in aging: from genetic alterations to heart performance*. American journal of physiology. Heart and circulatory physiology, 320(2), H854–H866.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00643.2020>

**megosztott elsőszerezőség*

IF: 4,026

Egyéb közlemények:

Börzsei, D. *, Sebestyén, J., Szabó, R., Lesi, N. Z., Pálszabó, A., Pálszabó, P., Szász, A., Priksz, D., Juhász, B., Veszélka, M., Turcsán, Z., Deim, Z., Varga, C., Pósa, A. (2022) *Resveratrol as a Promising Polyphenol in Age-Associated Cardiac Alterations*,
<https://doi.org/10.1155/2022/7911222>

**megosztott elsőszerezőség*

IF: 6,543

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>

***elsőszerzőség**

IF: 6,543

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>

***elsőszerzőség**

IF: 4,694

Szabó, R., **Börzsei, D.***, Karácsonyi, Z., Gesztelyi, R., Nemes, K., Berkó, A. M., Veszélka, M., Török, S., Kupai, K., Varga, C., Juhász, B., & Pósa, A. (2019). *Postconditioning-like effect of exercis: new paradigm in experimental menopause*. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 316(2), H400–H407. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00485.2018>

***megosztott elsőszerzőség**

IF: 3,569

Osváth, P., Szűcs, M., **Börzsei, D.**, Szabó, R., Lesi, Z. N., Turcsán, Z., Veszélka, M., Sebestyén, J., Juhász, B., Priksz, D., Varga, C., & Pósa, A. (2022). *Andrological Aspects of Exercise: Moderate Swimming Protects against Isoproterenol Induced Testis and Semen Abnormalities in Rats*. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 11(3), 436. <https://doi.org/10.3390/antiox11030436>

IF: 6,313

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: 6,313

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: 6,543

Szabó, R., Hoffmann, A., **Börzsei, D.**, Kupai, K., Veszélka, 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>

IF: 5,076

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: 4,556

Szabó, R., Ménesi, R., H Molnár, A., Szalai, Z., Daruka, L., Tóth, G., Gardi, J., Gálfi, M., **Börzsei, D.**, Kupai, K., Juhász, A., Radács, M., László, F. A., Varga, C., & Pósa, A. (2019). New Metabolic Influencer on Oxytocin Release: The Ghrelin. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(4), 735. <https://doi.org/10.3390/molecules24040735>

IF: 3,06

Varga, C., Veszelka, M., Kupai, K., **Börzsei, D.**, Deim, Z., Szabó, R., Török, S., Priksz, D., Gesztelyi, R., Juhász, B., Radák, Z., & Pósa, A. (2018). *The Effects of Exercise Training and High Triglyceride Diet in an Estrogen Depleted Rat Model: The Role of the Heme Oxygenase System and Inflammatory Processes in Cardiovascular Risk*. *Journal of sports science & medicine*, 17(4), 580–588.

IF: 1,774

Szabó, R., Karácsonyi, Z., **Börzsei, D.**, Juhász, B., Al-Awar, A., Török, S., Berkó, A. M., Takács, I., Kupai, K., Varga, C., & Pósa, A. (2018). *Role of Exercise-Induced Cardiac Remodeling in Ovariectomized Female Rats*. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 6709742. <https://doi.org/10.1155/2018/6709742>

IF: 4,593

Pósa A, Szabó R, Kupai K, Berkó AM, Veszelka M, Szűcs G, **Börzsei D**, Gyöngyösi M, Pávó I, Deim Z, Szilvássy Z, Juhász B, Varga C: *Cardioprotective Effect of Selective Estrogen Receptor Modulator Raloxifene Are Mediated by Heme Oxygenase in Estrogen-Deficient Rat*, *Oxid Med Cell Longev*, 2017;2017:2176749. doi: 10.1155/2017/2176749

IF: 4,593

Összesített IF: 72,716