

Doktori értekezés

**Rekreatív testmozgás kardioprotektív és gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata
patkánymodellben**

Hegyköziné Veszélka Médea

Témavezető:

Dr. Pósa Anikó

egyetemi docens



Biológia doktori iskola

Szegedi Tudományegyetem

Természettudományi és Informatikai Kar

Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék

Szeged

2018

1. TARTALOMJEGYZÉK

1. TARTALOMJEGYZÉK	1
2. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	3
3. BEVEZETÉS	6
4. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
4.1. Mozgás hatása a szervezetre	7
4.2. Metabolikus szindróma hatása	9
4.3. A nemi hormonok hatására kialakult kardiovaszkuláris változások	12
4.4. Gyulladásos folyamatok a kardiovaszkuláris rendszerben	19
4.5. Aginin-vazopresszin	27
5. CÉLKITŰZÉSEK	28
6. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	29
6.1. Rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata hím patkánymodellben	29
6.1.1 Vizsgált állatcsoportok	29
6.1.2. MMP-2 aktivitás mérése	30
6.1.3. Bazális vérnyomás mérése	31
6.1.4. Adrenalin/fentolamin által kiváltott experimentális angina modell (ST depresszió)	31
6.1.5. Arginin vazopresszin indukált szívperfúzió mérése Langendorff szerint	32
6.1.6. Túlélő aorta-összehúzódás mérése	33
6.1.7. Regionális iszkémia/reperfúzió	33
6.1.8. Infarktusz terület meghatározása	34
6.1.9. Statisztikai analízis	34
6.2. A magas triglicerid tartalmú étrend és a rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata ösztrogénhiányos nőstény patkánymodellben	35
6.2.1. Vizsgált állatcsoportok	35
6.2.2. Aorta és szív hem-oxigenáz enzim aktivitásának meghatározása	38
6.2.3. HO-1, TNF- α és IL-6 koncentráció meghatározása	39
6.2.4. A mieloperoxidáz enzim aktivitásának meghatározása szívben és aortában	39
6.2.5. Statisztikai analízis	40
7. EREDMÉNYEK	41
7.1. Rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata hím patkánymodellben	41
7.1.1. A szérumban MMP-2 aktivitása	41
7.1.2. Bazális vérnyomás	43
7.1.3. Adrenalin és fentolamin által kiváltott experimentális angina modell	43

7.1.4. AVP indukálta szívperfúzió Langendorff szerint	44
7.1.5. AVP által kiváltott aortagyűrű-kontrakció	45
7.1.6. Az infarktusos terület nagysága	45
7.1.7. Az 64 kDa MMP-2 aktivitás változása	46
7.2. A magas triglicerid tartalmú étrend és a rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata	
E2 hiányos nőstény patkánymodellben	48
7.2.1. Szérum ösztrogénszint meghatározása	48
7.2.2. Testsúly meghatározása	48
7.2.3. A HO enzim aktivitása és a HO-1 koncentrációja aortában	49
7.2.4. A HO enzim aktivitása és HO-1 koncentrációja szívben.....	50
7.2.5. Plazma TNF- α és IL-6 koncentrációja.....	52
7.2.6. A MPO enzim aktivitása szívben és aortában	54
8. DISZKUSSZIÓ	57
8.1 Rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata hím patkánymodellben	57
8.2 A HT tartalmú étrend és a rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata	61
9. KÖVETKEZTETÉSEK	65
10. ÖSSZEFOGLALÁS.....	66
11. SUMMARY	70
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	74
13. IRODALOMJEGYZÉK.....	75
14. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA	83

2. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AVP: arginin-vazopresszin

CF: koronárián átáramló folyadékból

cGMP: ciklikus guanozin-monofoszfát

CHD: szívkoszorúér-betegségek

CO: szén-monoxid

COX: ciklooxygenáz

CRP: C-reaktív protein

CTRL: fitoösztrogénmentes étrend

CVD: kardiovaszkuláris betegség

E: ösztrogén

E1: ösztron

E2: ösztradiol

E3: ösztriol

EBP: ösztrogén kötő fehérje

EKG: elektrokardiográf

e NOS : endotheliális nitrogén monoxid szintáz

ER: ösztrogén receptor

ER- α , ER- β : ösztrogén receptor-alfa, ösztrogén receptor-béta

ERE: ösztrogén válasz elem

Fe³⁺: vasion

FSH: follikulus stimuláló hormon

HO: hem-oxigenáz enzim

HO-1: hem-oxigenáz-1 enzim

HO-2: hem-oxigenáz-2 enzim

HO-3: hem-oxigenáz-3 enzim

Hsp90,70,56: hősokk fehérjék

HT: magas triglicerid tartalmú étrend

IL-1 β : interleukin-1 β
IL-6: Interleukin-6
iNOS: indukálható nitrogén monoxid szintáz
I/R: iszkémia/ reperfúzió
LAD: bal leszálló koronária artéria
LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein
LH: luteinizáló hormon
LV: bal kamra
MAPK: mitogén-aktivált protein kináz
MetS: metabolikus szindróma
MMP: mátrix metalloproteináz
MMP-2: mátrix metalloproteináz-2
MPO: mieloperoxidáz enzim
NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NF- κ B: nuklearis faktor-kappa béta
NF κ B1: nuklearis faktor-kappa béta-1
NF κ B2: nuklearis faktor-kappa béta-2
NO: nitrogén-monoxid
NR: nem futó csoport
OVX: sebészi ovariectomia
p38-MAPK: p38 mitogén aktivált protein kináz
p50, p52, p65: NF κ B domének
p100: prekursor fehérje
PI3K: foszfatidilinozitol 3-kináz
R: futó csoport
RelA, Rel B, c-Rel: NF κ B domének
ROS: reaktív oxigéngyökök
SERM: szelektív ösztrogén receptor módosítók
sGC: szolubilis guanilát-cikláz

SO: áloperált

TACE: TNF- α konvertáz enzim

T2DM: 2-es típusú diabétesz mellitusz

TIMP: metallopeptidase inhibitor

TTC: triphenyl-tetrazolium-klorid

TNF- α : Tumor nekrózis faktor- α

TNFR1 és TNFR2: tumor nekrózis faktor receptor 1 és 2

WHO: Egészségügyi Világszervezet

3. BEVEZETÉS

A The Lancet Global Health 2018-as tanulmánya szerint a felnőtt lakosság kb. egy negyede fizikailag inaktívnak tekinthető. A mozgásszegény életmód egészségre gyakorolt káros hatásai jól megalapozottak, és magukban foglalják a metabolikus szindróma (MetS) és a kardiovaszkuláris betegségek (CVD) kialakulását, ami még mindig a leggyakoribb haláloknak tekinthető világszerte. A szívkoszorúér-betegségek (CHD) az Egészségügyi Világszervezet (WHO) felmérése alapján 1.8 millió halálesetért felelősek, vagyis az összes haláleset 20% -át teszi ki évente. Ami a nemek közötti eloszlást illeti, a fertilis korú nők kardiovaszkuláris morbiditása és mortalitása szignifikánsan, közel 50 % -kal alacsonyabb [1], mint az azonos korú férfiaké, azonban menopauza bekövetkeztével a különbség megszűnik. Az ösztrogén hiány következtében kialakult változások, mint például a lipid és szénhidrát háztartás zavara, a csökkent glükóztolerancia és az inzulinérzékenység, valamint az abdominális zsír felhalmozódás, mind drasztikus eseményeket okoznak a kardiovaszkuláris rendszerben [2]. Az elhízás és a mozgásszegény életmód hatására kialakuló gyulladásos folyamatok, a fokozott oxidatív stressz, azonban előjelei lehetnek a CVD-nek mind nőkben mind pedig a férfiakban. A rendszeres testmozgás egy alternatív megoldást jelenthet a szív-és érrendszeri, illetve a metabolikus elváltozások megelőzésére. Mint nem farmakológiai terápia, többek között csökkenti a zsírok lerakódását, növeli az inzulinérzékenységet, valamint csökkenti a daganatok kialakulását. Az „ülő életmód” számos betegség kockázati tényezője, negatív hatással van a mentális egészségre, valamint az életminőségre is. Ezek jelentős része megelőzhető lenne egészséges életmóddal.

4. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

4.1. Mozgás hatása a szervezetre

Az elmúlt évtizedben folytatott felmérésekben megállapították, hogy a mozgásszegény életmód a legnagyobb rizikófaktora számos krónikus betegség kialakulásának. A modern ember szokásai gyorsan megváltoztak: autóban ülés, számítógép előtt eltöltött idő, szórakoztató tevékenységek, mind a fizikai inaktivitás irányába sodorják az embereket [3, 4]. Az ülő életvitel kevesebb energiafelhasználást igényel, viszont az étkezési szokások deformításaival párhuzamosan még inkább nő a betegségek kialakulásának kockázata. Tekintettel arra, hogy a fejlett ipari országokban folyamatosan nő az elhízottak száma az inaktív életvitelnek köszönhetően, fontos bevezetni a rendszeres testmozgást, melyeknek jótékony hatását számos tanulmányban igazolták [5, 6]. A CVD, a cukorbetegség, a daganat és a légzőszervi megbetegedés globális szinten növeli a mortalitást és morbiditást. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) 2008-as tanulmánya is megerősíti a fizikai aktivitás kitüntetett szerepét ezen betegségek megelőzése kapcsán is. Fizikai aktivitás során a szív teljesítőképessége megnő, hatékonyabb összehúzódsra képes, továbbá megnő a szívizom oxigén ellátottsága is, valamint a rendszeres testmozgás hatására a miokardiális infarktus esélye is csökken [7].

Alap fizikai aktivitás során a mindennapi élet minimális erőt igénylő aktivitásait végezzük, mint az állás, lassú séta és könnyű dolgok megemelése. Azok az emberek, akik csupán ilyen testmozgásokat végeznek, inaktívnak tekinthetők. A rekreációs testmozgás az egészség, a jó közérzet és a felfrissülés elérése céljából történő mozgást jelent, amit szabadidőnkben végzünk. A fizikai aktivitás olyan mozgásforma, amelyet a vázizomzat hoz létre, és energiafelhasználás kíséretében. A sport során olyan tevékenység, melyet versenyszerűen vagy szabadidő eltöltése céljából is lehet végezni. Fejleszti a fizikai

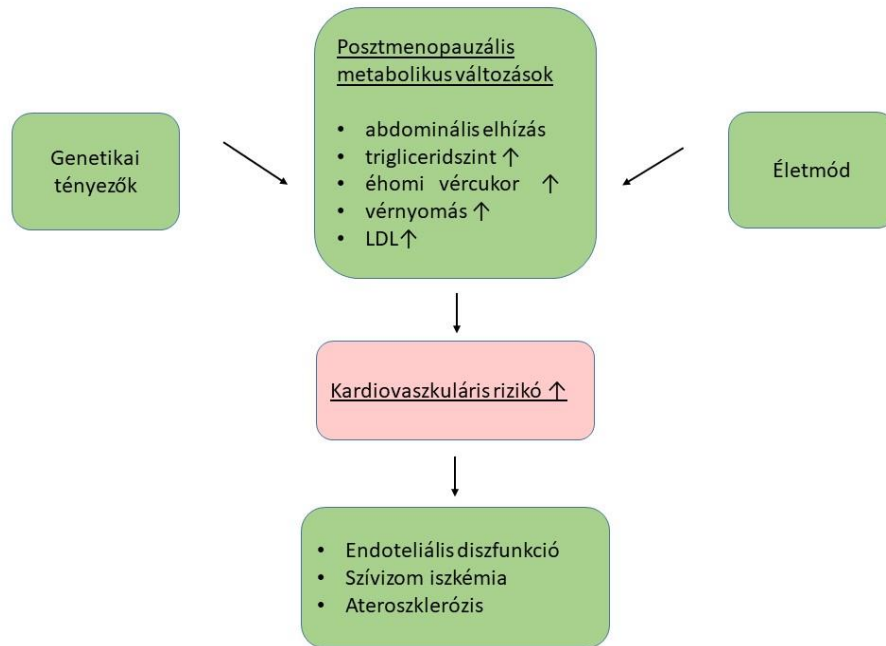
képességeket, javítja és szinten tartja az edzettségi állapotot. Célja az általános kedvező hatásán túl, a teljesítmény fokozása, illetve az egészségi állapot javítása, a betegségek prevenciója.

Hamilton és mtsai. szerint az ülő életmód minden olyan tevékenységet magában foglal, amely alacsony anyagcsere-energia-kiadással jár. Tanulmányukban taglalták, hogy a mozgásszegény életmódot folytató emberek különböző egészségügyi veszélyeknek vannak kitéve, mint például az anyagcserezavar [8]. A fizikai inaktivitás során a zsigeri (hasi) zsírszövet felszaporodását követően, hormonhatású anyagok (adipokinek) szabadulnak fel, ezzel aktiválva az ún. alacsony fokozatú gyulladásos (nem fertőző) folyamatokat. A gyulladáskeltő citokinek [9] elősegítik a CVD, az ateroszklerózis, a 2-es típusú diabétesz mellitusz (T2DM), a neurodegeneráció, a demencia (Alzheimer-kór) és a daganatos megbetegedések (főként vastagbél, végbél- és emlőrák kialakulását) [10, 11], a mozgás azonban képes ezen markerek csökkentésére [12-14].

A nem farmakológiai terápiás lehetőségek közül az életmódnak rendkívül nagy jelentősége van. A férfiak és nők életkilátásainak javítása céljából a mozgás kiemelkedő szerepet tölthet be a kardiovaszkuláris rizikó és MetS kialakulásával szemben. 2018-ban ezért már a WHO is közzétette a fizikai aktivitásra vonatkozó globális akciótervét, melyben fő szempont a krónikus betegségek megelőzése és kezelése. Mivel az elégtelen testmozgás közegészségügyi problémát jelent a gazdaságra nézve is, ezért ezzel nemzeti szinten is kell foglalkozni.

4.2. Metabolikus szindróma hatása

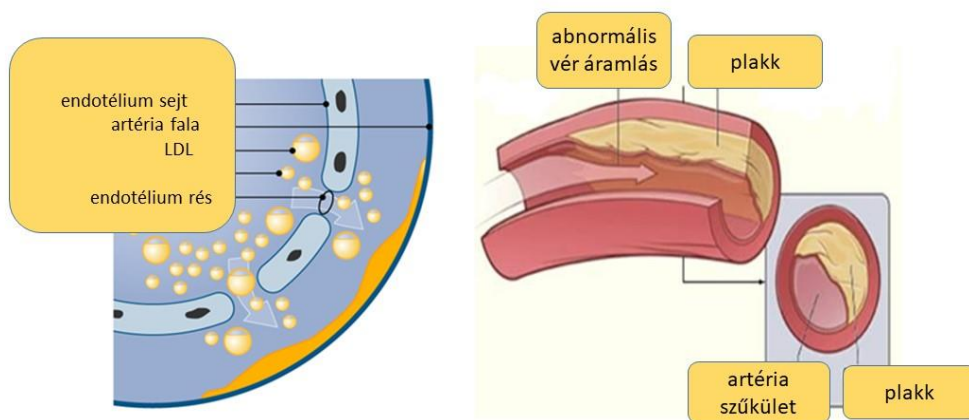
Számos olyan betegség van, amely önmagában vagy társulva más meglévő alapbetegséggel jelentősen megnöveli a kardiovaszkuláris kockázatot [15]. A MetS egy olyan tünetegyüttes, mely önmagában is nagy rizikót jelentő kockázati tényezők jelenlétekor áll fent. Korunk civilizációs problémái a mozgásszegény életmód és helytelen táplálkozási szokások a MetS megjelenését eredményezik. Járványszerű terjedésére már számos tanulmány felhívta a figyelmet a fejlett országokban [16, 17]. A MetS fogalmát klinikai megfigyelésekre alapozva Raven alkotta meg 1988-ban [18], ide sorolva az inzulinrezisztenciát, a dislipidémiát, a hipertóniát és a hiperuricaemiát. A tünetek közt ok-okozati összefüggéseket keresett. A MetS egy tünetegyüttes, amely magában foglalja a zsíryanycsere zavarát, az elhízást (főleg centrális, alma típusú), a magas vérnyomást és szénhidrátháztartás zavarát, amely kezdődő és manifesztálódó cukorbetegségben nyilvánul meg [19]. A posztmenopauzális metabolikus szindrómáról először Spencer és munkatársai [20] beszéltek, melyet hipertónia, károsodott endotél funkció, elhízás, inzulinrezisztencia, hiperinzulinaemia, triglicerid és LDL koleszterinszint emelkedés, fibrinogén és húgysavszint emelkedés jellemez (1. ábra).



1. ábra: A posztmenopauzális metabolikus szindróma kialakulása

Forrás: Spencer, Godsland et al. 2007

A MetS alatti fokozott LDL termelés nagymértékben hozzájárul az érlemeződés kialakulásához. Ezen folyamat során a rugalmas erek „megkeményedésnek” oka az érfalra történő egyre nagyobb méretű zsírlerakódás az emelkedett koleszterin szint miatt, mely csökkent vérátáramláshoz vezet. A lerakódás kezdeti szakaszán a lipoprotein molekulák kitapadnak, ezáltal az érfal megvastagszik, ami egy szerkezeti átalakulást indukál ezen a területen. Ezt követően az érfalba leukociták filtrálódnak, melyet fokozott citokin termelés követ. A gyulladásos reakció a plakk képződést eredményezi. A citokint is termelő makrofágok feladata az oxidált zsírmolekulák takarítása, melyek során ún. habos sejtekké alakulnak és felszaporodásuk a sárga elszíneződést eredményez az intimán [21] [22]. A plakkok, lecsökkentve az ér keresztmetszetét, a vér átáramlását gátolják (2. ábra).



2. ábra: Az érszűkület kialakulásának folyamata

Forrás: Fredrickson et al. NEJM 1967; 276: 148

Igazolták, hogy a nemi hormonok jelenléte is kulcsfontosságú szerepet játszik a metabolikus elváltozások kialakulásában [23, 24]. Számos vizsgálatban bizonyították, hogy a testmozgás fontos szerepet játszik a testtömeg kontrollban, csökkenti a MetS kialakulásának kockázatát, valamint a CVD-k megelőzésének fontos eleme. Munkacsoportunk korábbi tanulmánya már kimutatta, hogy a 12 hetes testmozgás jótékony hatással van a magas triglicerid tartalmú (HT) étrenden tartott, ovariectomizált (OVX) nőstény patkányok kedvezőtlen metabolikus paramétereire [25].

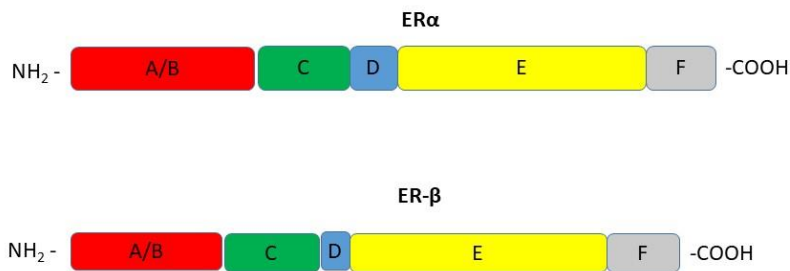
4.3. A nemi hormonok hatására kialakult kardiovaszkuláris változások

A kardiovaszkuláris megbetegedések napjainkban vezető haláloknak számítanak [26], kétszer annyi ember hal meg CVD-ben, mint daganatban. Becslések szerint 2030-ra az érintettek száma 23 millióra emelkedhet [27]. Mivel az elmúlt évtizedekben a korszerű diagnosztikai eljárásoknak, valamint a gyógyszeres kezeléseknek köszönhetően az átlagéletkor megnőtt, emiatt is fontos vizsgálni a CVD-t okozó rizikókat. A nemi hormonok szív-és érrendszerre gyakorolt hatásukat sokféleképpen fejtik ki. A női és férfi nemi hormonok közvetlen módon, direkt hatnak a szív működésére, befolyásolják az érrendszeri tónust és az endotélium működését. Az androgén és ösztrogén receptorok a szervezet számos területén elszórtan fordulnak elő, többek között a szív-és az érrendszer sejtjeiben, az endotéliumban, a simaizomsejteken, a szívizomsejteken, a makrofágokon, és a trombocitákon (Mendelsohn and Karas 2005). A posztmenopauzális állapotban lévő nők megemelkedett kardiovaszkuláris kockázata az ösztrogén hiányának tudható be, s az ennek következtében kialakuló anyagcsereváltozások okozta érrelmeszesedés kialakulásának valamint további szív érrendszeri elváltozásoknak. A magas vérnyomás, diszlipidémia, cukorbetegség, dohányzás, elhízás, mozgásszegény életmód okozzák a legtöbb kardiovaszkuláris eseményt, mint például az endotélium károsodást, az érrelmeszesedést és az érszűkületet [28]. A hipertónia során érsérülés keletkezhet, mely ez érendotél funkció lecsökkenését, s így a csökkent vazodilatáció révén az ateroszklerózis kialakulását is segíti. Azt is megfigyelték, hogy az adipocita felhalmozódás a nemi hormonok szintjének termelődésével összefügg mind férfiaknál mind nők esetében. Azonban nőknél az ösztrogén pótlásával a zsíreloszlás aránya javítható, ami nagy jelentőséggel bír, hiszen a hasi zsír felhalmozódása a kardiovaszkuláris rizikót emeli. A szénhidrát és lipid anyagcserére zavara, a megnövekedett inzulin rezisztencia mind a magas vérnyomás kialakulását,

érelmeszesedést és érgyulladást stb. okozhatnak. Appt vizsgálatai során az is kiderül, hogy a petefészek hiányában kialakult ösztrogén szint csökkenése fokozza az érelmeszesedés kialakulását, azonban a hormon pótlásával e folyamat lelassítható [29].

Igazolták, hogy a menopauza-t követő hormonális változások után nő a CVD-k kialakulásának kockázata. [30]. A nők életében meghatározó élettani változás a fogamzóképes korból való kilépés, azaz a menopauza, melynek során a petefészek működésének változása következik be, megemelkedik a follikulus stimuláló hormon (FSH) és a luteinizáló hormon (LH) szintje, valamint lecsökken a progeszteron és az ösztrogén termelődése, amit a menstruáció megszűnése követ. Számos vizsgálat igazolta már, hogy a női testben termelődő hormonok közül kiemelkedő szerepe van az ösztrogénnek, mint elsődleges nemi hormonnak, mely elsősorban a tüszőben termelődik. Három fő típust különíthetünk el - ösztroon (E1), ösztradiol (E2), valamint ösztriol (E3).

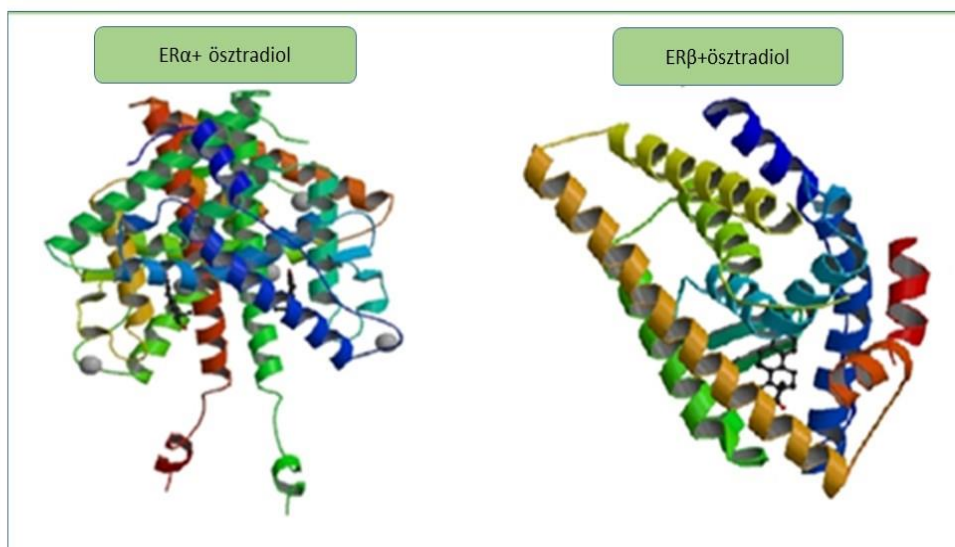
A szervezetben legnagyobb jelentőséggel az E2 bír, ezért a CVD vizsgálatok fókuszában ez a hormon áll. Az E2 javítja az érendotél és szív ereinek funkcióját, csökkenti a szisztémás vaszkuláris rezisztenciát [31, 32]. Az ösztrogén a férfiak szervezetében is előfordul, és szintén fontos szerepet tölt be itt is a kardiovaszkuláris események kialakulásában. Smith és kutatócsoportja kimutatta, hogy az ösztrogén receptorok (ER) vagy az E2 szintézis hibás működése során endotél diszfunkció alakul ki [33]. Az ösztrogének α és β receptoraikon keresztül fejtik ki hatásaikat (4 ábra).



4. ábra: Az ösztrogén receptorok strukturális egységei: Az ER 5 doménből áll, a molekula N terminálján helyezkedik el az A/B domén, aminek transzaktivációs szerepe van, a következő a C domén, ez a DNS kötésért felelős. A D domén a receptorok magba való transzkripciójának fontos része, az E domén ligandkötő, az F domén pedig a C-terminálon helyezkedik el.

Forrás: Raj Kumar et al.,2011

Az első ösztrogén receptort (ERα) 1986-ban Green és kutatócsoportja klónozták patkány uterusból [34], majd nem sokkal később a másik receptort, az ERβ-t is felfedezték [35]. A két receptor megtalálható a csontszövetben, bőrben, szívben, agyban és az erek falában is [36]. Ezen ER receptorokon keresztül történő génexpresszió és fehérjeszintézis felelős feltehetőleg az ösztrogén rövid és hosszútávú hatásaiért. A két receptor molekulásúlya különbözik egymástól (ERα 66kDa, ERβ 54,2kDa) azonban a DNS kötődési paramétereik 95% homológiát mutatnak [37] (5. ábra).



5. ábra: az ER α (balra) és az ER β (jobbra) 3-dimenziós struktúrájának képe az ösztradiollal kapcsolva

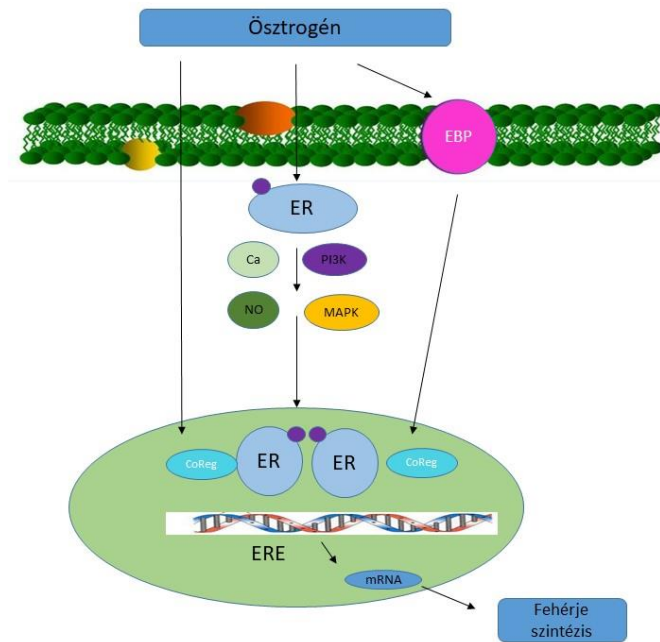
Forrás: Kumar, Zakharov et al. 2011

Az ER-ok eltérő szerv és szövetspecifikusak a szervezetben. Az ER α elsősorban a méhben, a májban, a vesében és a szívben, míg az ER β bélhámában és a vaszkuláris endotéliumban expresszálódik [38]. Mindkét receptor típus megtalálható az immunsejtekben, mint például a dendritikus sejtekben vagy a B-limfocitákban [39-41], valamint vaszkuláris szövetben és szívizomsejtekben [42]. A keringési rendszerben az alfa receptorok az érlemezés, valamint az érfal sérülések elleni védelemben játszanak kiemelkedő szerepet [43], míg a béta receptorok az értónus, illetve a vérnyomás szabályozásért felelős gének modulációjában fontosak [44].

Az E2 receptorokon keresztül kifejtett ún. klasszikus direkt genomikus hatásai lassan indulnak be (órák, napok) és hosszú távon fejtik ki hatásukat. Ezekben a folyamatokban az E2 lipofil tulajdonságai miatt könnyedén átmegy a sejtmembránon és hozzákapcsolódik

az ER-hoz. Az inaktív ER a citoplazmában helyezkedik el és hősokk fehérjékhez kapcsolt (Hsp90, Hsp70, Hsp56) valamint chaperon, co-chaperon molekulákhoz kötődik. A hősokk fehérjék leválnak a receptorról, ezt követően a receptor aktiválódik, dimerizálódik, majd transzlokálódik a sejtmagba. Az ER dimer közvetlenül a DNS kötő egységen keresztül kötődik a célgén DNS szakaszának a promoter régiójában található palindróm szekvenciához, az estrogen responsive element (ERE)-hez, és közvetetten hat az adott gén transzkripciójára. Számos gén tartalmaz ERE-t, melyen keresztül transzkripciójukat befolyásolja, ezáltal serkenve vagy gátolva működésüket. Csökkenti pl. az IL-6 és TNF- α termelést.

Az E2 másik, ún. nem-klasszikus hatása, már egy gyorsabb mechanizmusnak tekinthető. Ez az ioncsatornákon és az intracelluláris jelátviteli molekulákon keresztül valósul meg. Az E2 gyorsan aktiválja a mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) jelátvivő rendszert az intracelluláris jelátvivő molekuláin keresztül és a foszfoinozitol-3-kinázt (PI3K). Ez a hatásmechanizmus olyan celluláris válaszokat indukál, mint például a megnövekedett Ca^{2+} vagy nitrogén-monoxid (NO) koncentráció (5. ábra) [45]. A Ca^{2+} és NO is központi szerepet játszik a jelátvitelben is a jelátvivő rendszerek aktivációjában [45]. A vaszkuláris rendszerben termelődő NO köztudottan vazorelaxáns hatást fejt ki, valamint antioxidáns és gyulladáscsökkentő tulajdonsággal is rendelkezik [46].



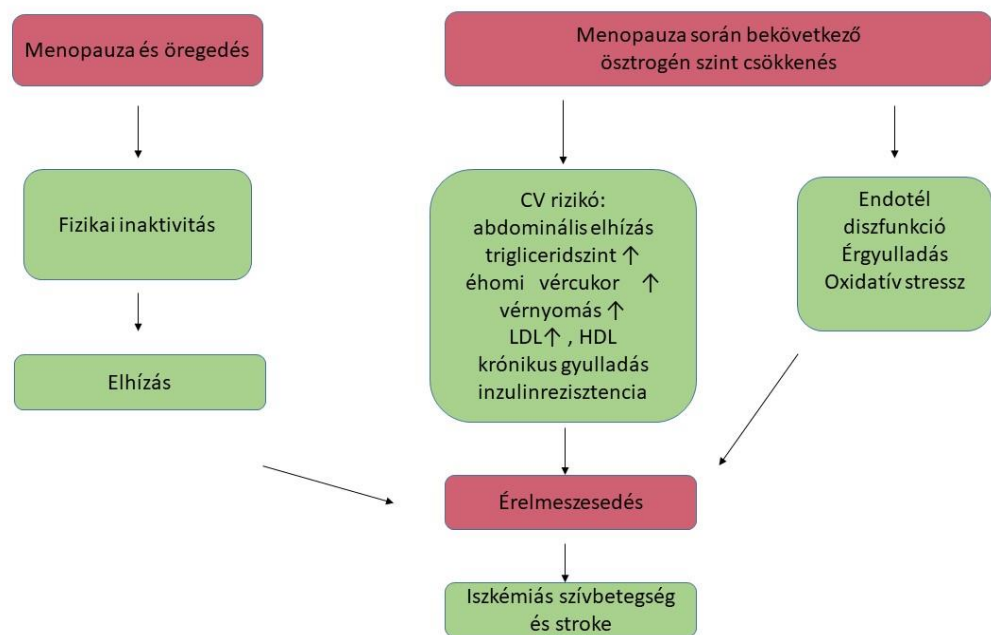
5. ábra: Az ösztrogén hatásának mechanizmusa

ER: ösztrogén receptor, Ca: kalcium, ERE: ösztrogén válasz elem , EBP: ösztrogén kötő fehérje, MAPK: mitogén-aktivált protein kináz, NO: nitrogén-monoxid, PI3K: foszfatidilinozitol 3-kináz

Forrás: Bonnie J. Deroo and Kenneth S. Korach, 2006

Az E2 fontos szerepet tölt be a különböző szövetek zsírsav mobilizációjában, a testzsír eloszlásban; jótékony hatást gyakorol az anyagcserére, mint a lipidprofilra, az LDL-oxidációra, a lipoprotein szintre, a koleszterin érfali lerakódására, a thrombocita-aggregációra, valamint az érfali myointimális sejtproliferációra. Továbbá vazorelaxáns hatást fejt ki a koszorúszereken egyes perifériás artériákon [47], illetve zsigeri artériákon is valamint növeli a csontképzést. Az E2 szint csökkenése, mely nőknél főleg a posztreproduktív időszakban következik be, olyan elváltozások sorát idézi elő, mint például a magas vérnyomás, metabolikus zavarok, növeli az inzulinrezisztencia, a hiperglikémia, illetve a hiperinzulinémia kialakulásának kockázatát [48]. A menopauza az egyik legkritikusabb szakasza a női hormonális folyamatoknak, melyben erőteljes változások zajlanak le [49], így például az elhízás előfordulási gyakorisága nagyobb, mint

bármely más életszakaszban [50, 51]. A klimax alatti elhízás folyamata ma már krónikusnak számít, melynek prevalenciája fokozatosan növekszik, globális incidenciája meghaladja a lakosság 50 %-át, így ma már a XXI. század járványáról beszélünk. Az elhízás, különösen a hasi adipociták megemelkedett szintje, mely endokrin hatással is bír, kiemelkedő fontosságú a krónikus CVD-re (6. ábra).



6 ábra: Menopauza hatásai:

Az ösztrogén szint csökkenése a megnövekedett zsigeri zsírral, a kedvezőtlen lipidprofillal és a megváltozott nitrogén monoxid szintáz (NOS) termeléssel függ össze, ami károsodott endotél funkcióhoz vezet. Az öregedéssel és a menopauzával kapcsolatos változások a magas vérnyomás, elhízás, T2DM fokozott kockázatához vezetnek, melyek ateroszklerózis, iszkémiás szívbetegség és stroke kialakulását eredményezhetik.

A zsírsejtek által termelt adipokinek hatással vannak a gyulladáskeltő ciktokinek termelődésére is [52]. Az érendotél relaxációjának csökkenése tapasztalható az E2 hiányt követően mely a reaktív oxigén szabadgyökök (ROS) megemelkedésével és a vaszkuláris NO redukciójával magyarázható [53]. A NO által mediált vazodilatáció, valamint trombocita aggregáció gátlás miatt gyulladáscsökkentő és anti-aterotikus tulajdonsággal rendelkezik.

A posztreproduktív időszak során lecsökkent E2 szint hiányának pótlására az utóbbi időszakban nagy hangsúlyt fektetnek. Több tanulmány is igazolta már, hogy a hormonpótló terápiával csökkenthetők a kardiovaszkuláris események, azonban hosszú távú hormonpótlás kockázatai még mindig veszélyt jelentenek a szervezetre, a daganatos betegségek (pl. endometrium karcinóma, emlőrák) fokozott kockázata miatt. A SERM (szelektív ösztrogén receptor-modulátor) vegyületek (tamoxifen és a raloxifen), alkalmazása ígéretes megoldásnak tűnik, s a kardiovaszkuláris rendszer prevenciójában jelentős eredményeket mutat [54, 55]. Ezek a vegyületek egyes szervekben ösztrogénagonista, más szervekben pedig antagonistá hatásokkal jellemezhetőek. A csontokra ösztrogénagonistaként hat, így hatékony védelmet jelent az osteoporosis ellen. Azonban az endometriumban vagy az emlőben antagonistá hatású, és így a daganatok kialakulásának kockázatát nem növeli.

A szív-és érrendszeri prevencióban azonban megoldást jelenthet a testmozgás is, mint nem farmakológiai terápia, mely a rizikótényezők csökkentésén kívül a mentális egészségre is pozitívan hat.

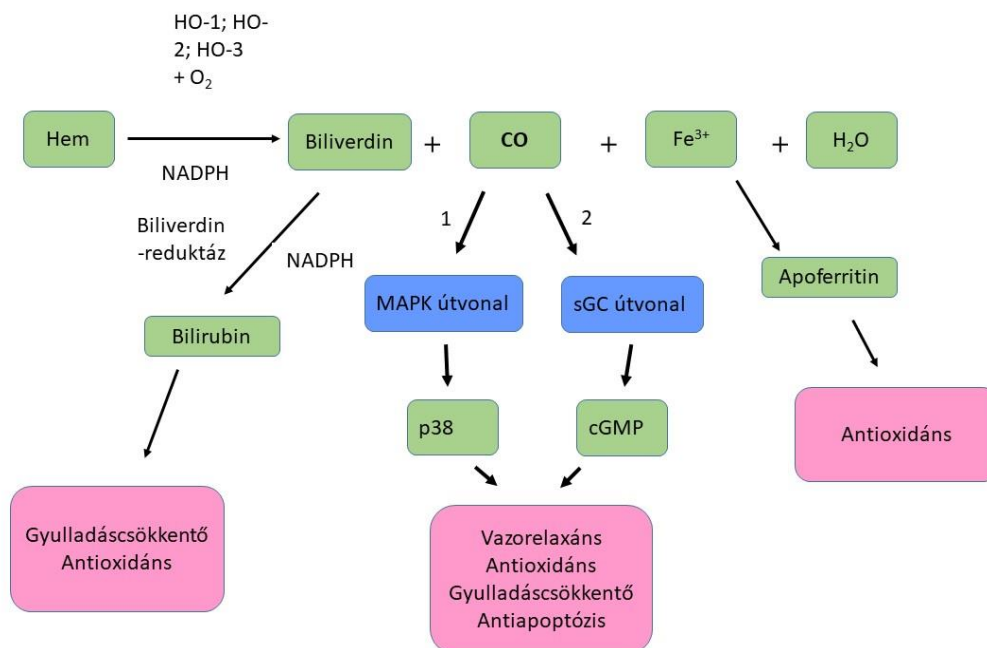
4.4. Gyulladásos folyamatok a kardiovaszkuláris rendszerben

A CVD-k kialakulásában fontos szerepet játszanak az oxidatív stressz és a szabadgyökök megváltozott szintjei is. Oxidatív stressz egy olyan állapot, amikor a prooxidánsok és az antioxidánsok egyensúlya eltolódik a prooxidánsok javára. A reaktív oxigén szabadgyökök (ROS) eliminálásának hibája az antioxidáns rendszer működésének csökkenéséhez és az oxidatív stressz kialakulásához vezet. Egyes enzimek expressziója megnő, mint pl. ciklooxygenáz-2 (COX-2) [56, 57] vagy az indukálható NO szintáz (iNOS). A ROS féléletideje rövid és toxikus hatású a miokardium számára [58], mely aktiválja a

gyulladásos transzkripciós faktort a nukleáris faktor-kappa β -t (NF- $\kappa\beta$) [59], melynek szerepe a sejthalálban fontos, azáltal, hogy antiapoptotikus fehérjék génjeit aktiválja.

Az antioxidáns rendszerek, fontos szerepet játszhatnak a gyulladásokkal szembeni védelemben.

Számos antioxidánsról kimutatták, hogy csökkenti az NF- $\kappa\beta$ függő gyulladásos (TNF- α) géneket. Az egyik jelentős antioxidáns rendszer a HO enzimrendszer. A HO olyan enzim, amely katalizálja a hem degradációt így vas (Fe^{3+}), szén-monoxid (CO) és a biliverdin keletkezik. A biliverdin biliverdin-reduktáz enzim hatására bilirubinná alakul át, melyet a hidrogén-peroxid pedig képes visszaoxidálni biliverdinné [60]. A bilirubin maga is hatékony antioxidáns, amely közvetlenül oxidálja a ROS-t és NADPH -oxidáz közvetlen inaktiválásán keresztül gátolja azok termelődését, mérsékli a sejtek oxidánsok hatására bekövetkezett károsodását, továbbá enyhíti az oxidatív stresszt. A felszabadított ferritint az apoferritin fehérje köti meg és leállítja az oxidatív károsodást. A CO és a bilirubin fontos szerepet töltenek be a szív- és érrendszerben [61]. A CO értágító hatással rendelkezik, csökkenti a szuperoxid gyökök (O_2^-) mennyiségét, illetve fontos antiapoptotikus és gyulladásgátló hatással is bír [62], mivel gátolja a gyulladáskeltő citokinek termelődését [63, 64]. Ez a hatás a p38 mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) szignalizációs útvonal során érvényesül (8 ábra) [60].



8. ábra: HO által aktivált lehetséges jelátviteli utak és hatások

A CO modulálja a MAPK útvonalakat (1) és aktiválja az sGC-t, ami cGMP előállítását eredményezi (2), ezáltal gyulladáscsökkentő, anti-apoptotikus és antiproliferatív hatásokat eredményez. sGC: szolubilis guanilát-cikláz, CO: szén-monoxid, HO-1: hem-oxigenáz-1 enzim, cGMP: ciklikus guanozin-monofoszfát, Fe^{3+} : vas ion, NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát; p38 MAPK: mitogén-aktivált protein kináz, Forrás: Pae HO, 2008, Forrás: Jansen and Daiber 2012

A HO enzimek két fő formában, a konstitutívan expresszáldó hem-oxigenáz-2 (HO-2) és hem-oxigenáz-3 (HO-3) valamint az indukálható hem-oxigenáz-1 (HO-1) izoformában vannak jelen [65].

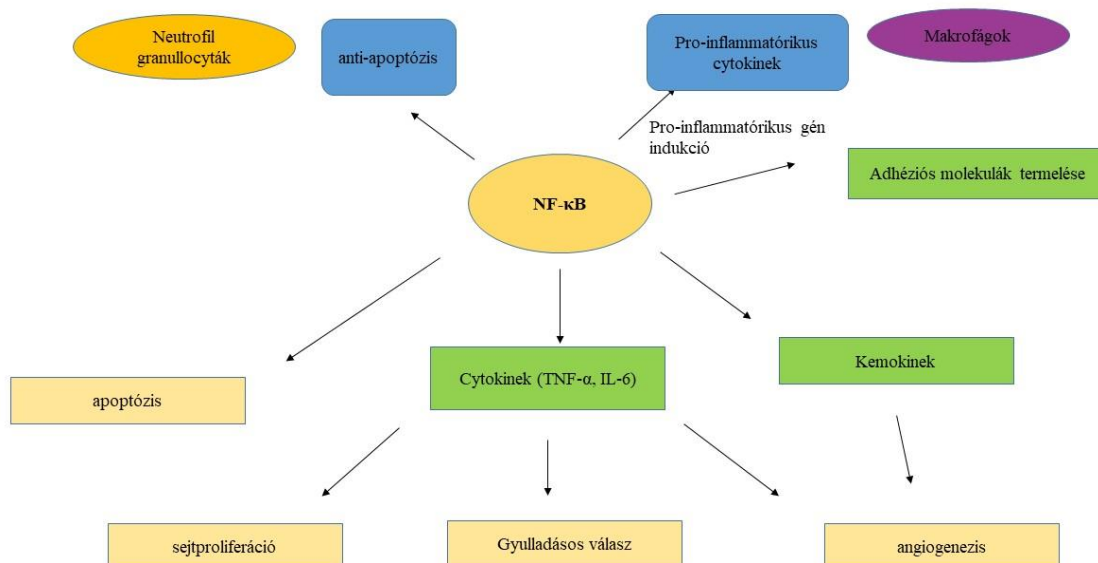
A HO-1 számos kóros állapotban indukálódik, mint például gyulladás és más szöveti sérülések [66]. Kutatások bizonyítják, hogy a CVD-k (érelmeszesedés, magas vérnyomás, szívelégtelenség) és az oxidatív stressz között szoros kapcsolat van. A HO-1 fontos védő szerepet tölt be a kardiovaszkuláris iszkémiával szemben, ugyanakkor expressziója és aktivitása eltérő nőkben és férfiakban [67].

A citokinek olyan kis molekulatömegű fehérjék, melyek számos élettani folyamatban közreműködnek, fontosak a gyulladásos válasz szabályozásában, továbbá részt vesznek az intracelluláris kommunikációban és hatásukat egyedi membrán receptorokon keresztül fejtik ki. A természetes immunitásban és gyulladásos reakciókban felszabaduló citokinek (TNF- α és az interleukin-6 - IL-6) koncentrációja korrelál a kardiovaszkuláris rizikóval, és a jövőbeni akut kardiovaszkuláris események prediktorai. A TNF- α és az IL-6 aktiválják az endotél, mobilizálják a csontvelőből a granulocitákat, és az akut-fázis reakció beindításával a gyulladást szisztémás szintre emelik.

A TNF- α pleiotróp gyulladásos citokin, mely elsősorban makrofágokból származik és központi szerepet játszik a gyulladásos és autoimmun betegségekben [68]. A TNF- α II. típusú membránfehérjeként szintetizálódik, stabil homotrimerekbe rendeződve jelenik meg a sejtfelszínen, ebből hasad le a TNF- α konvertáz enzim (TACE) hatására a szolúbilis homotrimer citokin [69]. A citokinek indukálják a kemokinek és adhézión molekulák expresszióját a vaszkuláris endotéliumon, ezáltal elősegítve a lymphocyták és monociták toborzásának folyamatát, illetve kitapadásukat a gyulladt érfalra. A TNF- α -t, az IL-6-hoz hasonlóan, akut fázis proteineknek is nevezik, hiszen a gyulladásos válasz során gyorsan felszabadulnak és jelentős mértékben megnő a plazma koncentrációjuk [70]. A folyamatok előrehaladottabb stádiumában a proinflammatorikus citokinek destabilizálják az ateroszklerotikus plakkokat azáltal, hogy elősegítik a sejt apoptózist és a mátrix degradációját. Bizonyított, hogy a TNF- α az ateroszklerózis, a miokardiális iszkémia/ reperfüziós sérülés és a szívelégtelenség folyamataiban rendkívül fontos szerepet tölt be [71-74].

A gyulladásos folyamatokban résztvevő elemek megjelenéséért többek között MAPK és NF- κ B útvonalak felelősek. A NF- κ B minden sejttypusban előfordul, fontos gyulladásos transzkripció faktor, ami többek között több citokin expressziójáért felelős. A NF- κ B

útvonalát prototipikus proinflammatorikus jelátviteli útvonalnak tekintik. Az NF- κ B család öt tagból áll: p65 (RelA), RelB, c-Rel, p50 (NF- κ B1) és p52 (NF- κ B2) [75]. Mindegyik N-terminális doménnel rendelkezik, mely 300 aminosavból áll, ez a DNS-hez való kötődésben játszik szerepet. A C-terminális végükön transzkripciót aktiváló doménnel rendelkező p65 (RelA), Rel B, c-Rel alkotja az egyik típust. Míg a másik csoportba tartozó p50 és p52 nagyméretű prekursor molekulák formájában expresszálódnak. Az olyan aktivációs szignálok hatására, mint például a citokinek, NF- κ B alegységek szabadulnak fel, majd transzlokálódnak, ahol a DNS promóter szekvenciához kapcsolódva több gén átírását szabályozzák [76]. Az NF- κ B aktiváció több útvonalon valósulhat meg. A klasszikus útvonal során az NF- κ B aktivációját a gyulladásos citokinek mellett bakteriális- és vírusfertőzések is okozhatják. Az aktiváció specifikus receptorokon keresztül valósul meg, mint pl. tumor nekrosis faktor receptor 1 és 2 (TNFR1 és TNFR2) [77]. Ez az útvonal elsősorban a p50:RelA és p50:c-Rel heterodimereket érinti [78]. A másik útvonal egy alternatív útvonal, mely során a p52: RelB szelektív aktivációja valósul meg; a p100 prekursor fehérjéből p52 keletkezik, amely a RelB-vel komplexet képezve transzlokálódik a sejtmagba. Ezt az útvonalat a TNF citokin család tagjai aktiválják, amely NF- κ B indukáló kináz közreműködésével megy végbe. Ez az útvonal szükséges a másodlagos nyirokszervek fejlődéséhez és a B sejtek éréséhez/túléléséhez [79]. Mitchell és kutatócsoportja rámutattak arra, hogy a TNF- α az NF- κ B aktivációt fokozza, mely a klasszikus NF- κ B jelátviteli útvonal során aktiválódik [80]. Az NF- κ B aktiváció nemcsak közvetlenül gyulladásos citokinek, kemokinek és adhézis molekulák termelésének növelésével, hanem a sejtproliferáció, az apoptózis, és a differenciálódás szabályozásában is szerepet játszik (9 ábra).



9 ábra: NF-κB aktiváció

NF-κB olyan célgénnek, amelyek a gyulladás kialakulásában és progressziójában szerepet játszanak.

Az NF-κB egy indukálható transzkripciós faktor, mely aktiválhatja a különböző gének transzkripcióját, és ezáltal szabályozhatja a gyulladást. Az NF-κB -aktiváció nemcsak közvetlenül gyulladásos citokinek, kemokinek és adhéziós molekulák termelésének növelésével, hanem a sejtproliferáció, az apoptózis, a morfogenezis és a differenciálódás szabályozásában is szerepet játszik. Forrás: NF-κB signaling in inflammation, 2017

Az IL-6 is egy olyan pleiotróp hatású citokin [81], amelyet nagyon sokféle sejttípus termel: monociták/makrofágok, endotél sejtek, aktivált T- és B-limfociták, simaizom sejtek, granulociták, hízósejtek és sokféle tumorsejt. A célsejt típusától függően lehet sejtosztódást serkentő és gátló, differenciálódást, sejtaktivitást elősegítő hatása. A gyulladásos folyamatok kialakulása során szerepe van a T-limfociták aktiválásában és megsokszorozódásában, a B-sejtek differenciálódásában és a májsejtek akut fázis fehérje termelésének indukálásában, ezért pro-inflammatorikus, gyulladásserkentő citokinnek nevezhető.

A keringésben mérhető IL-6 mennyiség 1/3-a származik a zsírszövetből, ami pozitív összefüggésben van az obezitás és az inzulinrezisztencia mértékével [82]. Az IL-6 szint

csökkenése azonban súlyvesztést eredményez. A gyulladásos markerek tartósan megemelkedett szintje a szisztémás gyulladásos állapotok, illetve a krónikus megbetegedések rizikófaktorai, mint például: CVD, illetve a T2DM [83]. Az IL-6 az atheroscleroticus érelváltozásokhoz vezető gyulladásos folyamatok egyik kulcsszereplője [84, 85]. Mint pro-inflammatorikus citokin, felelős lehet a koszorúereken lévő ateroszklerotikus plakkok destabilizálásáért és a mátrix metalloproteázok (MMP) termelésének emelkedésével részt vehet az ér remodellingben. Ismert, hogy a szívelégtelenségben mért magasabb IL-6 szérumszint szoros korrelációt mutat a betegség súlyosságával és a szimpatikus, illetve a renin-angiotenzin rendszer aktivitásával. A magas IL-6 szint jelentős prognosztikai értékkel bír az időskori és a szívelégtelenség közötti mortalitás, illetve az instabil angina kedvezőtlen kimenetele szempontjából.

A gyulladásos folyamatok során keletkező mieloperoxidáz (MPO) enzim szintén kiemelt szereppel bír a kardiovaszkuláris kórképek kialakulásában. A MPO egy olyan hem tartalmú enzim, mely elsősorban a neutrofil granulocitákból szabadul fel [86], de kimutatható monocitákban és eozinofil granulocitákban is. Jelenléte kardiovaszkuláris rizikó becslésére alkalmas [87, 88], emelkedett szintje a betegség súlyosságával arányos [89]. Az MPO továbbá hozzájárul a NO szintjének csökkenéséhez, mely fontos anti-inflammatorikus és vazodilatív hatású. A MPO, valamint a működése következtében létrejött oxidatív származékok is kimutathatóak az ateroszklerotikus plakkokban [90]. Az MPO vizsgálata során megfigyelték, hogy az iszkémia utáni reperfüzió, valamint az infarktust követő miokardiális remodelling folyamataiban fontos szerepe van [91]. A vizsgálatok során kimutatták, hogy infarktust követően plazmában mért szintje emelkedett értéket mutat, ami valószínűsíthetően az infarktus helyére lokalizálódó neutrofil granulocitáknak köszönhető. A MPO katalizálta reakcióban hidrogén-peroxid jelenlétében a kloridion hipoklórsavvá oxidálódik, ami reagál a bakteriális eredetű

proteinekkal, citotoxikus klóraminok keletkeznek és a leukociták aktiválása után kiválasztódik. [92]. A leukociták által szekretált MPO lebontja a kollagénréteget, amely védi az érfalat. Ezen információk alapján elmondható, hogy a humán ateroszklerotikus léziókban lokalizálódó MPO a plakkképződés folyamatának aktív részese.

A mátrix metalloproteinázok (MMP) olyan endopeptidázok, amelyek az extracelluláris mátrixfehérje degradációjában illetve gyulladásos folyamatokban [93] és CVD-ben vesznek részt. Az MMP-ok kulcsfontosságú szerepet játszanak az embriogenezisben vagy angiogenezisben [94]. Körülbelül 30 tagja ismert (például kollagenázok, zselatinázok, stb.) [95, 96]. A pro- és antiinflammatorikus citokinek jelentősen befolyásolják a MMP-okat és azok inhibitorai a metalloproteinázok szöveti inhibitorait, és más citokinekkel, növekedési faktorokkal vagy oxidált lipidekkel szinergikusan hatnak az extracelluláris mátrix sok összetevőjének jelentős átalakítására. Számos tanulmányban bizonyították, hogy a MMP-ok megemelkedett szintje előjele lehet a szívelégtelenségnek. A MMP-ok működése transzkripciós komplexek valamint endogén inhibitorok által [97, 98] és a szöveti metalloproteináz inhibitor (TIMP) által szabályozott, mely kollagenáz bontó szerepet tölt be. A TIMP-MMP egyensúly zavara kardiovaszkuláris események kialakulásához vezet [99]. Iszkémiát követően komplex védekező mechanizmus aktiválódik, mely a gyulladásos válaszreakciók folyamatait indítja be. Ezáltal megemelkedik a ROS, valamint a proinflammatorikus citokinek szintje is. A szívizomban legnagyobb mennyiségben előforduló MMP a zselatinázok közé tartozó MMP-2, melynek fontos szerepe van a miokardiális iszkémia/reperfúziós károsodásban [100], illetve ateroszklerotikus plakkok kialakulásában. Kutatások igazolják, hogy a szérumban MMP-2 jelezheti az infarktus méretét és a kamrai diszfunkció mértékét miokardiális infarktusban [101]. Grandas és mtsai. igazolták, hogy az MMP-2 emelkedett szintje magasabb IL-6 értéket eredményezett [102].

Mivel kutatócsoportunk korábban egyértelműen bizonyította az ösztrogénhiány, energiadús táplálkozás, az elhízás és a metabolikus elváltozások közötti összefüggést [25], ezért a doktori munkám egyik fókuszába az antioxidáns enzimek és gyulladásos paraméterek vizsgálata került.

4.5. Aginin-vazopresszin

Az arginin vazopresszin (AVP) egy nonapeptid hormon, melyet a hipotalamusz termel. Az AVP számos stimulus hatására bekerülhet a keringésbe; antidiuretikus, illetve vazopresszor hatással bír. Elsődleges funkciója a folyadékviasszatartás szabályozása [103]. Az AVP a V_1 receptorokon keresztül fejt ki vazokonstriktív, vérlemezke-adhéziós és koronária simaizomsejt-proliferációra gyakorolt hatásait. Az AVP ösztrogén mediátor tulajdonságát ex vivo aortagyűrű kontrakciós kísérletekben már korábban igazoltuk. Hím patkányokban szignifikánsan magasabb AVP-re (2,0 $\mu\text{g/ml}$) adott kontrakciós választ mutattunk ki [67].

5. CÉLKITŰZÉSEK

PhD munkám során vizsgáltam a testmozgás, mint nem farmakológiai terápia lehetséges szerepét a kardiovaszkuláris rendszer védelmében, gyulladásos folyamatok és antioxidáns homeosztázis javításában. Tanulmányoztam az ösztrogén hiány és környezeti tényezők (túlzott táplálkozás vagy a mozgásszegény életmód) szerepét a fenti folyamatokban.

1. Az **első kísérletsorozatunkban** arra kerestük a választ, hogy a mozgás milyen változásokat idéz elő a 6 hetes rekreatív testmozgást követően hím patkánymodellben.

Tisztázni kívántam, hogy:

- A testmozgás hogyan befolyásolja a bazális vérnyomás értékeit, az infarktus méretét, az ST depresszió mértékét, az AVP-re adott vérnyomásválaszt és aortakontrakciót ?
- Milyen különbségek figyelhetők meg futó és nem futó csoportok között a MMP-2 aktivitását tekintve?

2. A **második kísérletsorozatunkban** további célom volt még a táplálkozás (magas triglicerid tartalmú étrend -HT, normál étrend (fitoösztrogénmentes táp)-CTRL) és az ösztrogén hiány hatásának vizsgálata 12 hetes rekreatív testmozgást követően.

Tisztázni kívántam, hogy:

- A 12 hetes testmozgás hogyan befolyásolja a HO aktivitását aortában és szívben, ösztrogén hiányos állapotban és HT étrend hatására?
- A 12 hetes testmozgás milyen hatással van ösztrogén hiányában és HT étrenden a gyulladásos paraméterekre (IL-6, TNF- α szint, MPO aktivitás)?

6. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

6.1. Rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata hím patkánymodellben

6.1.1 Vizsgált állatcsoportok

Első kísérletsorozatunkhoz hím Wistar patkányokat ($n = 70$, súly: 200-230 g, Toxi-Coop Zrt., Magyarország) használtunk. Az állatokat véletlenszerűen két csoportra osztottunk. A fizikai aktivitást végző állatokat futókerékkel ellátott ketrecekben helyeztük el (Acéllabor Ltd., Budapest), mérőórával felszerelve (Union 5N/8N/10N) (1. kép), melyet szabadidős testmozgásként definiáltuk (futó).



1. kép: Futókerékkel ellátott ketrec

A 6 hétig tartó tréning periódus alatt az állatok a nap 24 órájában szabadon hozzáférhettek a kerékhez [104]. A futási periódus alatt az átlagos futási távolság $3,91 \pm 1,27$ km / nap / állat volt. Korábbi vizsgálatokkal már igazoltuk a 6 hetes testmozgás jótékony szerepét, ezért választottuk ezt a modellt a hím patkánykísérletben is [104]. A hím patkányok másik részét futókerék nélküli ketrecekben helyeztük el (nem futó). Az állatokat standard

körülmények (hőmérséklet, világítás) között tartottuk. A patkányok csapvizet ad libitum kaptak és standard granulált patkánytápot fogyasztottak. A kísérleteink során felhasznált állatok tartása és felhasználása az Európai Parlament és a Tanács 2010/63/EU előírásainak alapján, a magyar törvényi szabályozásnak (XXVIII/1998) és a 40/2013. II. 14. kormányrendeletnek megfelelően történt.

A kísérlet során vizsgált csoportok:

- 6 hetes nem futó hím patkányok
- 6 hetes futó hím patkányok

6.1.2. MMP-2 aktivitás mérése

Az 64kDa és 72kDa izoformájú MMP-2 aktivitását szérumból és koronárián átáramló folyadékból (CF) zselatin zimográfia segítségével határoztuk meg. A reperfúzió első 5 percében gyűjtött koronárián átáramló folyadékot (CF) Amicon Ultra (Millipore) centrifugacsőben koncentráltuk 5000 g-n és 4°C-on. Zselatin zimográfia során 8 % poliakrilamid gélt kopolimerizáltunk zselatinnal (20 mg/ml, A- típus sertésbőrűből; Sigma-Aldrich), és állandó fehérjemennyiséget (50 µg) vittük fel. A 150 V, 1,5 órás elektroforetikus lépést követően a géleket 2,5 %- os Triton X- 100- zal, 3x15 percig renaturáló oldatban mostuk és 20 óráig, 37 °C- on inkubáltuk inkubációs pufferben (50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 10 mM CaCl₂, pH=8). A géleket ezután 0,05 %- os Coomassie Brilliant Blue oldattal (G-250; Sigma-Aldrich) festettük 4 % metanol/ 8 % ecetsav, sav/víz (2,5:1:6,5; v/v) elegyben. A zselatináz aktivitását a világos sávok

sötétkéék háttértől való elkülönülése alapján detektáltuk. A zimogramokat digitálisan szkenneltük, a sávok intenzitását a Quantity One szoftver (Bio-Rad, Hercules, CA) segítségével értékeltük [105].

6.1.3. Bazális vérnyomás mérése

A kísérleti állatokat uretánnal (30 %, 0,50 ml/100 g, i.p.) altattuk el. Az állatok testhőmérsékletét 37 °C-on tartottuk. (Harvard Instrument, UK). A preparálás első lépéseként a nyak középvonalában hosszanti metszést végeztünk, az izmokat tompán szétválasztottuk, majd a nervus vagust és a szimpatikus idegkötegeket különválasztottuk. Az arteria carotist a fej felőli végén elkötöttük, az alsó részen a másik fonálból kis hurkot készítettünk. Az alsó részen egy ércsipesszel a carotist elszorítottuk. A két elszorítás között az eret érollóval bemetszettük, a részbe polietilén kanült vezetünk és fonál lekötéssel rögzítettük. A kanült csatlakoztattuk a Statten fejhez, melynek érzékelő membránja a vérnyomásváltozást elektromos jellé alakítja. A véralvadás megakadályozása végett 10 %-os heparinnal töltöttük meg a kanült. A vérnyomás-emelkedést a jobb oldali arteria carotisban mértük. A vérnyomásmérés eredményeit a HAEMOSYS program (Experimetria, UK, London) segítségével értékeltük.

6.1.4. Adrenalin/fentolamin által kiváltott experimentális angina modell (ST depresszió)

Az állatokat 30 % uretánnal (0,50 ml/100 g, i.p.) altattuk el és testhőmérsékletüket 37 °C-on tartottuk. Méréseinkhez Einthoven f. III elvezetést alkalmaztunk. Az EKG vizsgálatához az elektródokat a bőr alá szúrtuk a végtagokon. A fekete elektród (földelés)

a jobb lábra, piros elektród a bal lábra és lila elektród a bal mellső lábra került. A szívizom iszkémia meghatározásához az ST változást használtuk fel. ST szegmens értéként az S hullám csúcsa után 13 ms-mal mért átlagos EKG feszültséget definiáltuk [106]. Kiszámoltuk az anginát kiváltó ágensek alkalmazása előtti és utáni, ST szegmens amplitúdókban tapasztalt különbségeket, és mV-ban fejeztük ki az ST szegmens depresziójaként. Az adrenalin-fentolamin modellben egyetlen dózisnyi adrenalin (10,0 µg/kg) majd 30 s elteltével α-adrenoceptor antagonistá fentolamint (15,0 mg/kg) adtunk az állatok farki vénájába. Az egyes ágenseket 0,20 ml fiziológiás sóoldatban oldottuk fel. [67].

6.1.5. Arginin vazopresszin indukált szívperfúzió mérése Langendorff szerint

Az állatoknak a cervikális diszlokációt megelőzően 10-20 perccel heparin injekciót adtunk (500 IU, i.p.), majd a szívüket gyorsan izoláltuk (perfúzióig eltelt idő átlagosan 2 perc) és Langendorff perfúziós oszlopra helyeztük. A szíveket az aortán keresztül perfundáltuk a Langendorff-módszer alapján, 70 Hgmm állandó nyomáson, 37 °C hőmérsékleten. Perfúziós oldatként 118 mM NaCl; 4,70 mM KCl; 2,50 mM CaCl₂, 1,18 mM MgSO₄, 25 mM NaHCO₃, 1,18 mM KH₂PO₄ és 5,5 mM glükóz tartalmú Krebs-Henseleit puffert használtunk. A perfúziós elegyet 95 % O₂/5 % CO₂-dal oxigenizáltuk, és a pH-ját 7.4 -re állítottuk be. AVP-re (1 µg) adott válaszként megjelenő szívperfúziót 15 perces stabilizációs periódus elteltével mértük, és % -ban fejeztük ki a bazális értékkel összehasonlítva.

6.1.6. Túlélő aorta-összehúzódnás mérése

Dekapitálást követően az állatok hasi aortáját kipreparáltuk, Krebs-Henseleit bikarbonát oldatba (37 °C, 95 % O₂ /5 % CO₂) (118 mM NaCl; 25 mM NaHCO₃; 1,18 mM KH₂PO₄; 4,7 mM KCl; 1,18 mM MgSO₄; 2,5 mM CaCl₂; 5,5 mM glükóz; pH 7.4) helyeztük, majd a zsír- és kötőszöveti elemek eltávolítása után az aortagyűrű (3 mm hosszú) tömegét lemértük és két rozsdamentes acélhorogra tettük. Az alsó horog egy rögzített rozsdamentes acélrúdhoz csatlakozott, a felső pedig egy transzducerrel állt összeköttetésben az izometriás nyomás mérése céljából. Az aortafeszülés folyamatos mérése érdekében a transzducer ISOSYS számítógépes programhoz (Experimetria, London, Egyesült Királyság) volt csatlakoztatva. A felhelyezést követően a gyűrűket azonnal 15 ml 37 °C-os, 95 % O₂ – 5 % CO₂-dal dúsított inkubációs oldatot tartalmazó szervedényben inkubáltuk 20-30 percig, 2,5 g passzív nyomáson, majd 2,0 µg/ml AVP-t adtunk az inkubációs elegyhez. A kísérletek előtt fokozatosan növekvő vazopresszin mennyiségek hozzáadásával kiszámítottuk az AVP-re adott optimális kontrakciós választ, amit az aortagyűrű nyomásával fejeztünk ki (g/mg aortagyűrű) [67].

6.1.7. Regionális iszkémia/reperfúzió

Cervikális diszlokációt követően a szívet Langendorff perfúziós oszlopra helyeztük. Perfúziós oldatként 118 mM NaCl, 4,0 mM KCl, 2,5 mM CaCl₂, 1,18 mM MgSO₄, 25 mM NaHCO₃, 1,18 mM KH₂PO₄ és 5,5 mM glükóz tartalmú Krebs-Henseleit puffert használtunk. A perfúziós elegyet 95 % O₂/5 % CO₂-dal oxigenizáltuk, és a pH-ját 7.4 -re állítottuk be. 10 perc aerob perfúziót követően elkööttük a bal leszálló koronária artériát

(LAD), így 30 percig regionális iszkémiát hoztunk létre. A 120 perces reperfúzió elindításához megszüntettük az elkötetést [105]. A koronária átáramlást a szívből kicsepegő puffer mennyiségéből határoztuk meg.

6.1.8. Infarktusos terület meghatározása

Az infarktus méretét a LAD okklúzió által indukált regionális iszkémia után mértük [107]. A szíveket Evans blue oldattal perfundáltuk, majd lefagyasztottuk. A fagyasztott szíveket 2 mm-es szeletekre vágtuk, ezt követően 2,3,5- trifeniltetrazolium-klorid (TTC) oldatban festettük. A TTC-festést követően a szeleteket 10 percig formalinba (10 %) tettük, majd foszfátpufferbe (pH 6) helyeztük. A metszeteket két üveglemez közé helyezve digitálisan szkenneltük és Image J programmal értékeltük. Az infarktusos terület nagyságát, a területekre (rizikózóna) vonatkozó %-os arányban fejeztük ki [108].

6.1.9. Statisztikai analízis

Az adatokat átlag $\pm$ S.E.M.-ként fejeztük ki. A statisztikai szignifikanciát ANOVA teszttel állapítottuk meg és az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

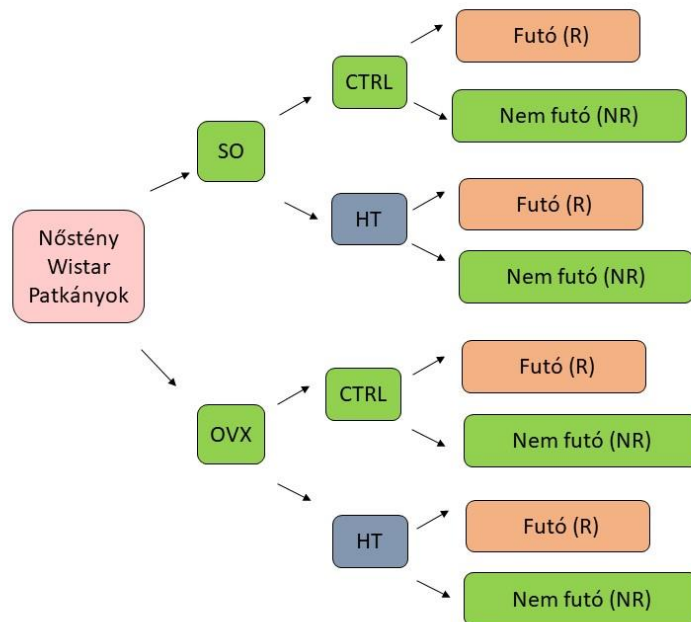
6.2. A magas triglicerid tartalmú étrend és a rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata ösztrogénhiányos nőstény patkánymodellben

6.2.1. Vizsgált állatcsoportok

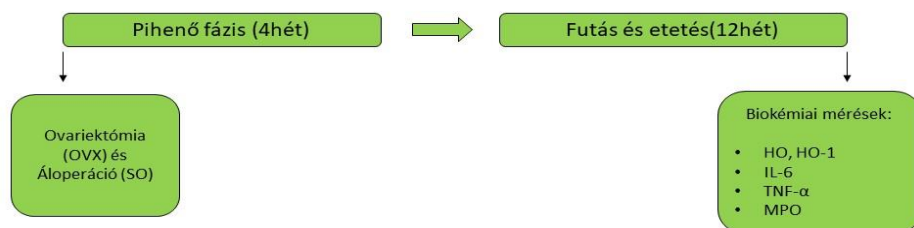
Munkánk során 10 hetes nőstény Wistar patkányokat használtunk (Toxi-Coop Zrt., Magyarország). A kísérleteket a Szegedi Tudományegyetem által elfogadott „A kísérleteink során felhasznált állatok tartása és felhasználása az Európai Parlament és a Tanács 2010/63/EU előírásainak alapján”, a magyar törvényi szabályozásnak (XXVIII/1998) és a 40/2013. II. 14. kormányrendeletnek megfelelően történt. A kísérleti állatok egy részén sebészi ovariectómiát (OVX) hajtottunk végre, míg a másik csoporton áloperálást (SO) végeztünk. Az OVX az uterusz elkötését és a petefészek kimetszését jelentette, mindkét oldalon. Áloperálás során, az állatokon bemetszést ejtettünk, azonban a petefészek nem kerültek eltávolításra. Négy hetes pihenési periódust követően az OVX és SO csoportokat az etetés típusa (fitoösztrogénmentes táp: CTRL, fitoösztrogénmentes táp magas triglicerid tartalmú 40 %-os zsírtartalommal: HT) (11. ábra) és a testmozgás alapján csoportosítottuk (12. A. ábra). A negyedik hét végén meghatároztuk az ösztrogén szérum szintjét ELISA módszerrel (Quantikine patkány ösztrogén ELISA kit, R&D Systems Inc.) (12. B. ábra).

Táp összetétel	Fitoösztrogén-mentes táp (%)	Fitoösztrogén-mentes táp magas triglicerid tartalmmal – HT (%)
Cirok	58,4	18,0
Burgonya fehérje	15	6,0
Szentjánoskenyér-hüvely dara	13	28
Édes tejsavó por, sovány	5,5	40,0
Búzaszalma	5,0	5
Mono-kalcium-foszfát	1,5	1,5
L-lizin-HCl	0,7	0,4
NaCl	0,4	0,6
Vitamin és mikroelem keverék	0,5	0,5
ÖSSZESEN	100	100

11. ábra: Fitoösztrogénmentes és a HT táp összetétele



12. A ábra: SO és OVX nőstények csoportosítása a tréning és az étrend alapján



12. B ábra: Kísérelti protokoll

A fizikai aktivitást végző állatokat futókerékkel ellátott ketrecekben helyeztük el, melyet szabadidős testmozgásként definiáltuk. Az etetési és a tréning periódus 12 hétig tartott, melyet követően meghatározásra kerültek az antioxidáns és gyulladásos paraméterek. A magas triglicerid tartalmú étrend hatásának elérésére több időt vesz igénybe, ezért alkalmazzuk a 12 hetes etetési és futási periódust, mely során a patkányok testtömegét nyomonkövettük.

6.2.2. Aorta és szív hem-oxigenáz enzim aktivitásának meghatározása

Cervikális diszlokációt követően eltávolítottuk a szív és aorta szöveteket, majd jégen tartott pH 7.4 -es, 10,0 mM N-2-hidroxi-etilpiperazin-N'-2-etánszulfonát (HEPES), 32 mM szacharóz, 1 mM dithiotreitol, 0,1 mM etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA), 10 µg/ml tripszin inhibitor, 10 µg/ml leupeptin és 2 µg/ml aprotonin tartalmú elegyben homogenizáltuk (Ultra Turrax T25; 13500 min⁻¹; 2x30 s). A 1,5 ml végtérfogatú, 2 mM glükóz-6-foszfátot, 0,14 U/ml glükóz-6-foszfát-dehidrogenázt, 15 µM hemint, biliverdin-reduktáz forrásként 120 µg/ml patkánymáj-citoszolt, 2 mM MgCl₂·6H₂O-t és 100,0 mM KH₂PO₄-ot tartalmazó reakcióelegyhez 150 µl-nyi, centrifugálással (20 perc, 15000 g, 4 °C) nyert felülúszót adtunk. A reakció elindításához 100 µl β-nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfátot (β-NADPH; 150 µM) adtunk a mintákhoz, majd sötétben, 37 °C-on inkubáltuk 60 percen keresztül. A reakció leállítására érdekében a mintákat jégre tettük. Standardként bilirubin oldatot (58,47 µg/ml; 10,0 µM) alkalmaztunk. A vak mintákat (β-NADPH-mentes reakció elegy) azonnal lemértük. A mérések 460 és 530 nm-en történtek.

A HO összaktivitás értékeit a β -NADPH-s és vak minták optikai denzitásának egységnyi fehérjetartalomra vonatkoztatott különbsége adta (nM/óra/mg fehérje). [109].

6.2.3. HO-1, TNF- α és IL-6 koncentráció meghatározása

A gyulladásokeltő citokinek meghatározása ELISA (Quantikine patkány TNF- α és IL-6 ELISA kit, R&D Systems Inc.) módszerrel történt plazmából. A HO-1 enzim koncentrációját szintén ELISA módszerrel határoztuk meg szívből és aortából. A szív és aorta mintáinkat foszfát pufferben homogenizáltuk (pH 7.4) Ultra-Turrax homogenizáló segítségével (2 x 30 sec), majd 1000 g-vel 20 percig 4 °C-on centrifugáltuk. Továbbiakban minden lyukba 50 μ l-t piettáztunk az RD-41-es oldatból, majd 50 μ l standardot, mintát (szövet, plazma) vagy kontrollt. Szobahőmérsékleten, ELISA plate rázó segítségével végzett 2 órás inkubáció után a plate-et 5x mostuk, minden esetben 400 μ l mosóoldattal. Ezt követően 100 μ l HO-1/TNF- α / IL-6 konjugátumot adagoltunk és ismét szobahőmérsékleten 2 óráig tartó inkubáció következett. A reakciót 100 μ l STOP oldattal állítottuk le, majd az optikai denzitást 450 nm-en mértük ELISA reader (Benchmark Microplate reader; Bio-Rad) segítségével. A TNF- α és IL-6 értékeit pg/mg plazma fejeztük ki. A HO-1 koncentráció értékét ng/mg fehérjében adtuk meg

6.2.4. A mieloperoxidáz enzim aktivitásának meghatározása szívben és aortában

A MPO enzim mennyisége a neutrofil granulociták infiltrációjakor megemelkedik, mennyisége a gyulladás mértékével korrelál. A minták homogenizálását 0,5 % hexadeciltrimetilammónium-bromidot tartalmazó foszfát pufferben (50 mM, pH 6,0)

végeztük. A szívet és az aortát hideg pufferben, Ultra-Turrax homogenizáló segítségével (2 x 30 sec; 13 500 rpm) homogenizáltuk. A mintákat folyékony nitrogénben lefagyasztottuk, majd 37 °C-os vízfürdőben felolvasztottuk. A fenti folyamatot még kétszer megismételtük. Ezt követően a mintáinkat 5000 g-vel 15 percig 4 °C-on lecentrifugáltuk és a felülúszót használtuk a mérésekhez. Az MPO aktivitás méréseinkhez peroxidázt használtunk standardként (0; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 U/ml). A mérés során 96 lyukú plate-be tettünk 280 µl O-dianisidin-diHCl-t (0,167 mg/1 ml foszfát puffer). Ehhez adtunk a felülúszónkból vagy a standardunkból 12 µl-t és a reakciót 10 µl 0,03 %-os hidrogén-peroxiddal indítottuk. 90 másodperces rázatás után 490 nm-en ELISA reader (Benchmark, BIO-RAD) segítségével mértük a kialakult színváltozásokat. Eredményeinket mU/mg fehérjére vonatkoztattuk [109].

6.2.5. Statisztikai analízis

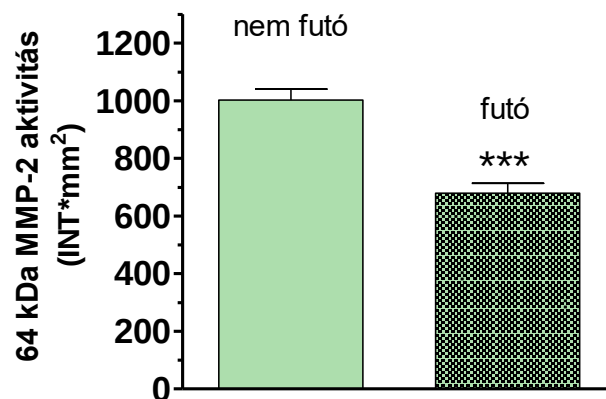
Az adatok normalitását Shapiro-Wilk teszttel igazoltuk. A nyolc kísérleti csoport adatai (minden vizsgált biológiai változó esetében) egyutas ANOVA-val (Geisser-Greenhouse korrekcióval), majd Tukey vizsgálattal hasonlítottuk össze. A testtömeg változásait F teszttel hasonlítottuk össze. A 0,05-nél kisebb P értékeket szignifikánsnak tekintettük. Minden adatot átlag ± SEM –ként fejeztünk ki.

7. EREDMÉNYEK

7.1. Rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata hím patkánymodellben

7.1.1. A szérum MMP-2 aktivitása

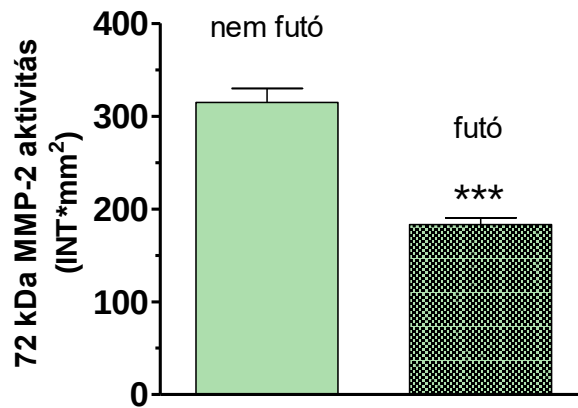
A 64 és 72 kDa MMP-2 szint változásait a 13A, 13 B. és 14. ábrán mutatjuk be. 6 hetes szabadidős testmozgást követően szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a szérum MMP-2 aktivitásában. (64 kDa MMP-2 $1002,71 \pm 37,50$ és $679,73 \pm 34,35$ intenzitás $\times \text{mm}^2$, valamint a 72 kDa MMP-2 $314,93 \pm 14,80$ és $183,33 \pm 7,12$ intenzitás $\times \text{mm}^2$, $n = 12-13$).



13 A. ábra: nem futó és futó hím patkányok szérum 64 kDa MMP-2 aktivitása

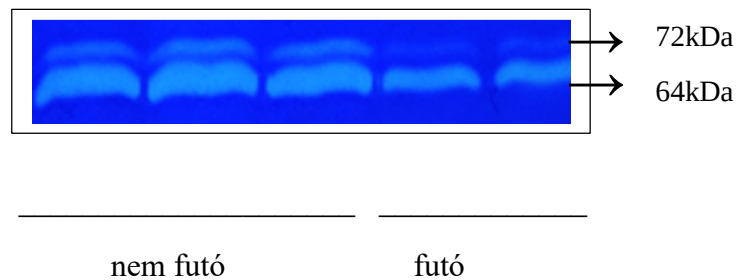
Az eredmények INT*mm²-ben értendők és átlag $\pm$ S.E.M.-ben vannak megadva ($n=12-13$)

*** $p < 0,01$: Szignifikáns különbség a nem futó csoporthoz viszonyítva



13 B. ábra: nem futó és futó hím patkányok szérum 72 kDa MMP-2 aktivitása

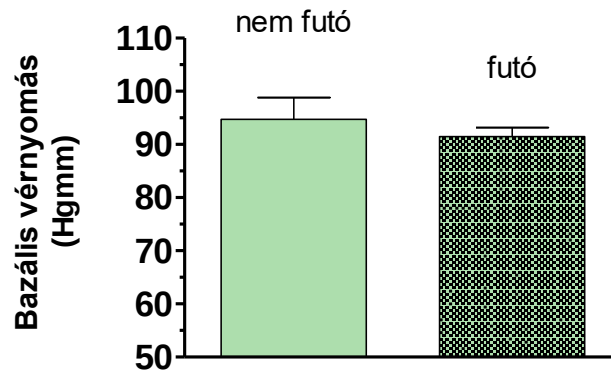
Az eredmények INT*mm²-ben értendők és átlag ± S.E.M.-ben vannak megadva (n=12-13)



14. ábra: A nem futó és futó hím patkányok szérum 64 kDa és 72 kDa MMP-2 aktivitása közti különbség (reprezentatív kép) (n=12-13)

7.1.2. Bazális vérnyomás

Az arteria carotisban mért bazális vérnyomás értékeket az 15. ábrán szemléltettük. A nem futó állatok értékei hasonló értéket mutattak a futó állatokhoz viszonyítva (94.71 ± 4.13 vs 91.48 ± 1.69 , Hgmm $n = 14-18$).

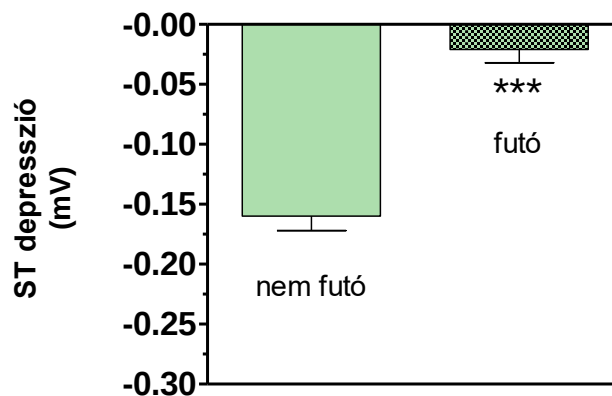


15. ábra: nem futó és futó hím patkányok bazális vérnyomás értékei (Hgmm)

Az eredmények Hgmm-ban értendők és átlag $\pm$ S.E.M.-ként vannak megadva, $n = 14-18$

7.1.3. Adrenalin és fentolamin által kiváltott experimentális angina modell

Intravénásan epinefrin- (A; $10 \mu\text{g/kg}$), majd 30 s elteltével fentolamin (P; 15 mg/kg)-kezelést követően az ST szegmens változásait standard felszíni EKG -val tanulmányoztuk hím futó és nem futó patkányokban. A beavatkozás csak a nem futó hím állatoknál okozott szignifikáns ST depressziót ($-0,16 \pm 0,012 \text{ mV}$, $n=14-18$). 6 hetes futási protokoll javulást eredményezett az ST szegmens depresszió tekintetében ($-0,021 \pm 0,011 \text{ mV}$, $n=14-18$). Az eredmények a 16. ábrán vannak feltüntetve.

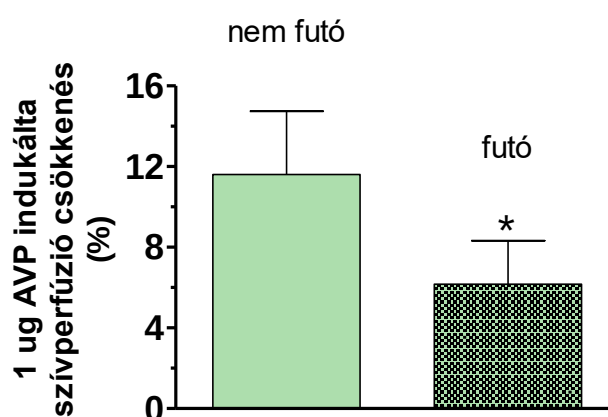


16. ábra: ST szegmens változása adrenalin + fentolamin modellben nem futó és futó hím patkányokban

Az eredmények mV-ban értendők és átlag $\pm$ S.E.M.-ként vannak megadva, $n = 14-18$

*** $p < 0,001$: Szignifikáns különbség az SO csoporthoz viszonyítva

Az izolált szív perfúzióját Langendorff szerint vizsgáltuk. Az inkubációs közeghez adott 0,01-0,1 μg AVP futók és nem futók közt nem okozott perfúzió csökkenését. Azonban 1 μg AVP-re adott válasznál a futó állatokban a csökkenés szignifikánsan erőteljesebb volt ($11,6 \pm 3,14 - 6,17 \pm 2,16$ %; $n = 8-10$) a nem futó csoporthoz viszonyítva. Az eredményeket a 17. ábra mutatja.



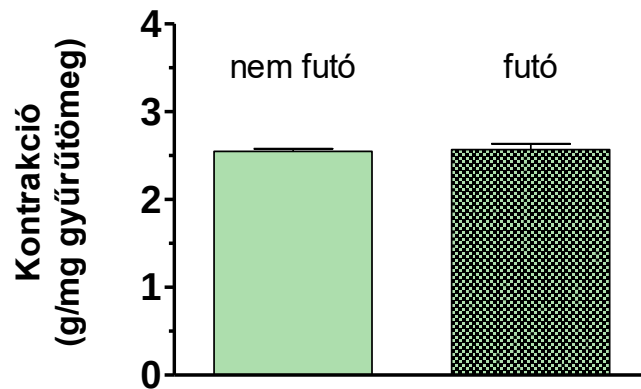
17. ábra Az izolált szívperfúzió csökkenése nem futó és futó hím patkányokban

Az eredmények mV-ban értendők és átlag $\pm$ S.E.M.-ben vannak megadva, $n = 8-10$

* $p < 0,05$: Szignifikáns különbség a nem futó csoporthoz viszonyítva

7.1.5. AVP által kiváltott aortagyűrű-kontrakció

A túlélő patkány aortagyűrű-kontrakció eredményei a 18. ábrán tüntették fel. Az AVP (2.0 µg/ml) hatására bekövetkező vazokonstrikció nem mutatott különbséget futó és nem futó csoportok közt ($2,55 \pm 0,03$ vs $2,57 \pm 0,07$ g/mg gyűrűtömeg, $n=9-10$).

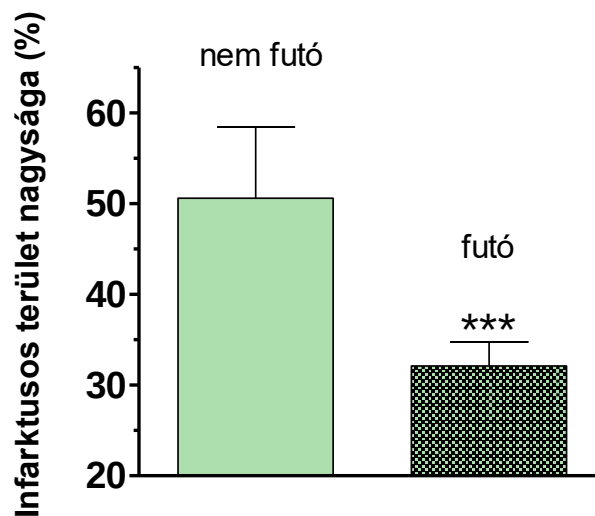


18. ábra: AVP által indukált aortagyűrű-kontrakció (g/mg gyűrűtömeg) nem futó és futó hím patkányokban

Az eredmények g/mg-ban értendők és átlag $\pm$ S.E.M.-ben vannak megadva, $n= 9-10$

7.1.6. Az infarktusos terület nagysága

Az infarktusos terület nagyságát, a rizikózónára vonatkozó %-os arányban fejeztük ki. A 6 hetes testmozgás hatására szignifikánsan csökkent az infarktusos terület mértéke a nem futó hím állatokhoz képest ($50,6 \pm 7,86$ % vs $32,12 \pm 2,66$ %, $n=11-12$). Az eredményeket a 19. ábra mutatja.



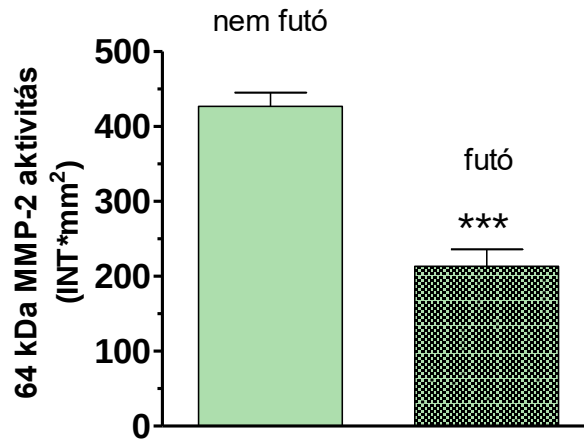
19. ábra: Infarktusos terület nagysága nem futó és futó hím patkányokban

Az eredmények %-ban értendők és átlag $\pm$ S.E.M.-ben vannak megadva, $n = 11-12$

*** $p < 0,001$: Szignifikáns különbség a nem futó csoporthoz viszonyítva

7.1.7. Az 64 kDa MMP-2 aktivitás változása

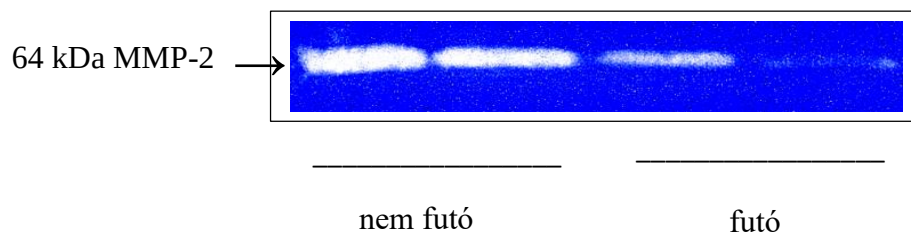
Az MMP-2 aktivitást a 30 perces LAD okklúziót követően gyűjtött CF-ből határoztuk meg. Eredményeinkben csak a 64 kDa MMP-2 aktivitása volt kimutatható, mely szignifikánsan csökkent a nem futó csoporthoz képest ($P < 0,001$) ($426,94 \pm 18,37$ vs $213,32 \pm 22,45$ intenzitás $\times$ mm², $n = 10$). Az MMP-2 aktivitás változását a 20. A és B ábrán mutatjuk be.



20.A ábra: A 64 kDa MMP-2 aktivitás CF-ben nem futó és futó hím patkányokban

Az eredmények INT*mm²-ben értendők és átlag ± S.E.M.-ben vannak megadva (n=10)

***p<0,05 Szignifikáns különbség a nem futó csoporthoz viszonyítva



20. B. ábra: A 64 kDa MMP-2 aktivitás CF-ben nem futó és futó hím patkányokban(reprezentatív kép) (n=10)

7.2. A magas triglicerid tartalmú étrend és a rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata E2 hiányos nőstény patkánymodellben

7.2.1. Szérum ösztrogénszint meghatározása

A szérum ösztrogénszintjét a SO és OVX műtétet követő 4 hetes pihenő periódus után határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy az OVX szignifikánsan csökkenti az ösztrogén szintjét a SO állatokhoz viszonyítva (SO: $387,38 \pm 41,31$ pg / ml vs. OVX: $144,0 \pm 8,93$ pg / ml).

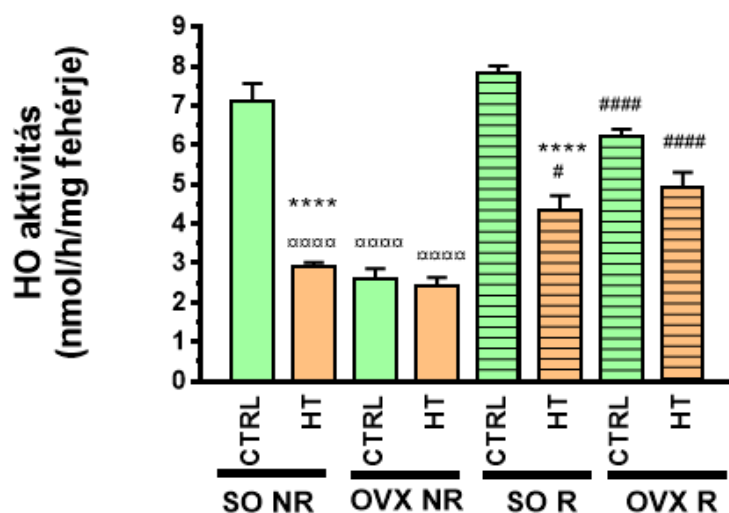
7.2.2. Testsúly meghatározása

A testtömeg változásait a 12 hetes kísérleti periódus során is követtük. Szignifikáns különbségeket találtunk a következő csoportok között: OVX CTRL R vs. SO HT R ($p = 0,0346$), OVX HT R vs. SO HT R ($p = 0,0009$) OVX HT R vs. SO HT NR ($p = 0,0023$), OVX HT NR vs. SO HT R ($p = 0,0083$) és OVX HT NR vs. SO HT NR ($p = 0,0217$) (21. ábra). A három csoport közül (táplálkozás, OVX, testmozgás) az E2 hiányos állapot okozta a legszembetűnőbb változásokat (21. ábra).

testsúly (12 hét)	szignifikancia	p
OVX CTRL R vs. SO HT R	*	0,0346
OVX HT R vs. SO HT R	***	0,0009
OVX HT R vs. SO HT NR	**	0,0023
OVX HT NR vs. SO HT R	**	0,0083
OVX HT NR vs. SO HT NR	*	0,0217

7.2.3. A HO enzim aktivitása és a HO-1 koncentrációja aortában

Az SO CTRL NR csoporthoz képest a HT és OVX által okozott ösztrogénhiány jelentősen csökkentette az aorta HO aktivitását, míg a 12 hetes testmozgást követően a HT étrendben is láthattunk csökkenést, azonban jelentős változást az E2 hiányos csoportokban tapasztaltunk (22. ábra). A HT étrend a SO HT NR csoportban a SO CTRL NR csoporthoz viszonyítva és a SO HT R csoportban a SO CTRL R csoporthoz viszonyítva okozott szignifikáns csökkenést. Az aorta HO-1 koncentrációjának mérése során hasonló eredményeket kaptunk, mint az aorta HO aktivitásának mérése során (23. ábra).



22. ábra Hem-oxigenáz aktivitása aortában *nőstény patkányban

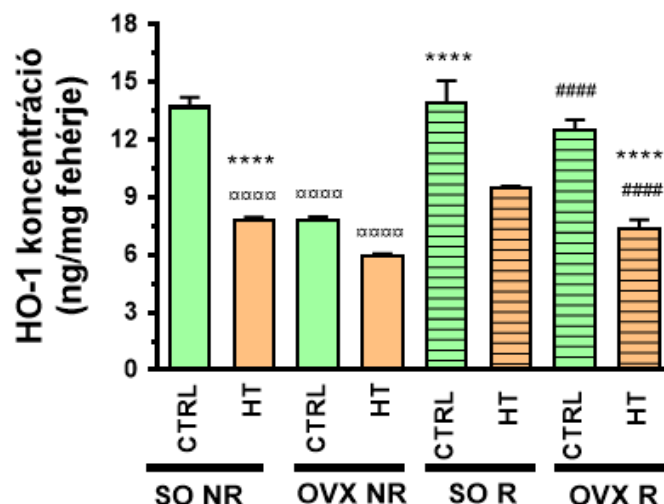
Az eredményeket nmol / h / mg fehérjeként fejeztük ki és átlag $\pm$ S.E.M.-ben adtuk meg (n = 8-9).

○ ○ ○ ○ p < 0,0001 Szignifikáns különbség SO CTRL NR csoporthoz képest

#p < 0.05, ####p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül a NR és a R állatok között

****p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül CTRL és a HT állatok között

SO = áloperált, OVX = ovariectomizált, CTRL = fitoösztrogén mentes étrend, HT = magas triglicerid tartalmú étrend, NR = nem futó, R = futó



23. ábra Hem-oxigenáz-1 koncentrációja aortában, nőstény patkányban

Az eredményeket ng/mg fehérjeként fejeztük ki és átlag $\pm$ S.E.M.-ben adtuk meg (n = 6-9).

○ ○ ○ ○ p < 0,0001 Szignifikáns különbség SO CTRL NR csoporthoz képest

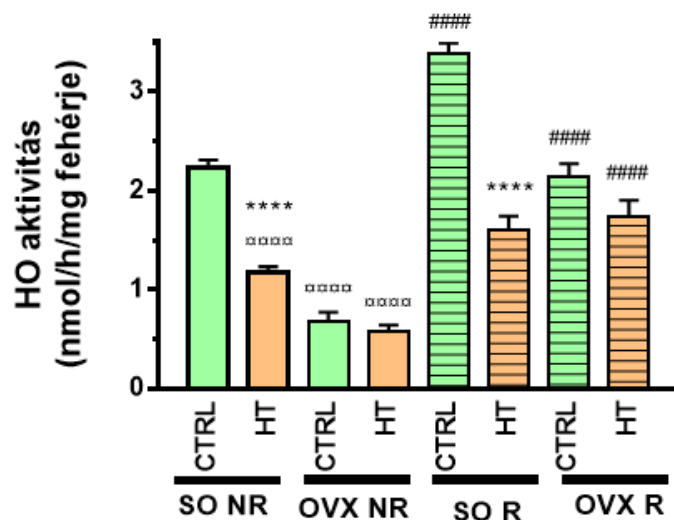
p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül a R és NR állatok között

**** p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül CTRL és a HT állatok között

SO = áloperált, OVX = ovariectomizált, CTRL = fitoösztrogén mentes étrend, HT = magas triglicerid tartalmú étrend, NR = nem futó, R = futó

7.2.4. A HO enzim aktivitása és HO-1 koncentrációja szívben

A 24. és 25. ábrán láthatjuk, hogy mind a HT étrend, mind az ovariectomia szignifikánsan csökkentette szívben a HO-aktivitását és a HO-1 koncentrációját az SO CTRL NR csoporthoz képest. Szignifikáns csökkenést tapasztaltunk az SO csoportokban is magas triglicerid tartalmú étrend eredményeképpen a SO CTRL csoporthoz viszonyítva NR és R csoportokban egyaránt. A 12 hetes futást követően azonban jelentősen megnövekedett a szívizom HO-aktivitása és a HO-1 koncentrációja is (24, 25 ábra).



24. ábra Hem-oxigenáz aktivitása szívben nőstény patkányban

Az eredményeket nmol / h / mg fehérjeként fejeztük ki és átlag $\pm$ S.E.M.-ben adtuk meg (n = 6-9).

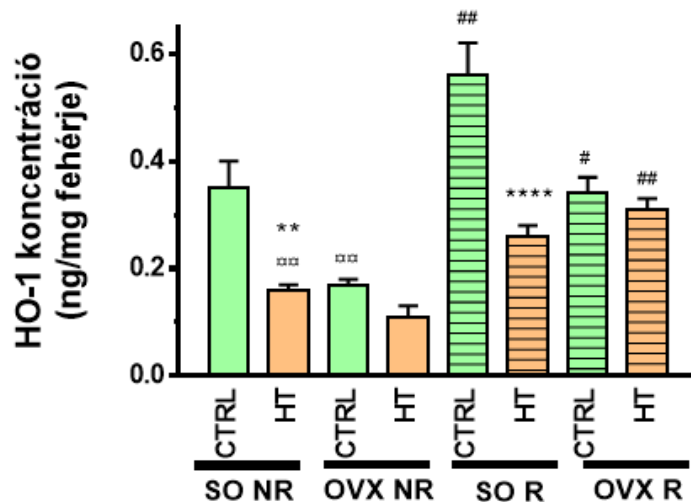
○ ○ ○ ○ p < 0,0001 Szignifikáns különbség SO CTRL NR csoporthoz képest

p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül NR és a R állatok között

**** p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül CTRL és a HT állatok között

SO = áloperált, OVX = ovariectomizált, CTRL = fitoösztrogén mentes étrend,

HT = magas triglicerid tartalmú étrend, NR = nem futó, R = futó



25. ábra: Hem-oxigenáz-1 koncentrációja szívben nőstény patkányban

Az eredményeket ng/mg fehérjeként fejeztük ki és átlag $\pm$ S.E.M.-ben adtuk meg (n = 6-11).

○○ p < 0,01 Szignifikáns különbség SO CTRL NR csoporthoz képest

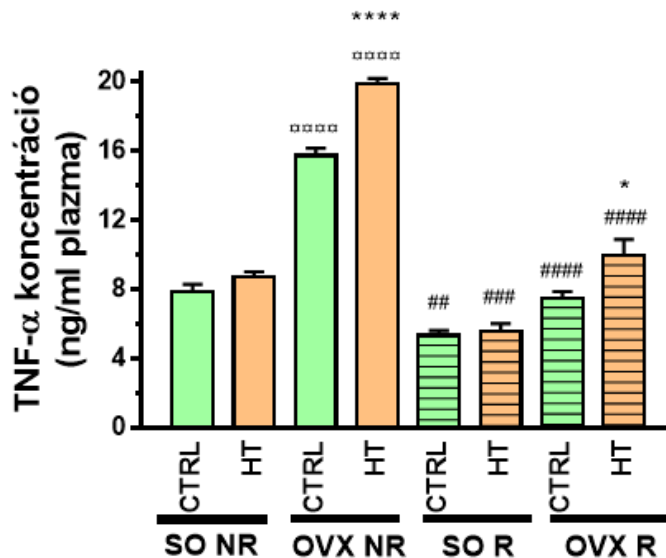
#p < 0.05, ## p < 0.01 Szignifikáns különbség egy csoporton belül R és NR állatok között

** p < 0.01, **** p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül CTRL és a HT állatok között

SO = áloperált, OVX = ovariectomizált, CTRL = fitoösztrogén mentes étrend, HT = magas triglicerid tartalmú étrend, NR = nem futó, R = futó

7.2.5. Plazma TNF- α és IL-6 koncentrációja

A HT-étrend önmagában nem befolyásolta a plazma TNF- α gyulladásokeltő citokin koncentrációját. Ezzel szemben a petefészek-eltávolítást követően szignifikánsan megnövekedett a plazma TNF- α szintje a nem futó csoportban. A HT étrendet követően szignifikáns emelkedést tapasztaltunk az OVX CTRL csoportokhoz képest, mind nem futó, mind futó csoportokban. Azonban a 12 hetes testmozgás jelentősen csökkentette a TNF- α szinteket, még a SO CTRL R csoportokban is. A legjelentősebb változást az OVX és HT-étrend kombinált hatása során tapasztaltuk (26. ábra).



26. ábra: TNF- α koncentrációja szívben nőstény patkányban

Az eredményeket ng/ml-ben fejeztük ki és átlag $\pm$ S.E.M.-ben adtuk meg (n = 7-9).

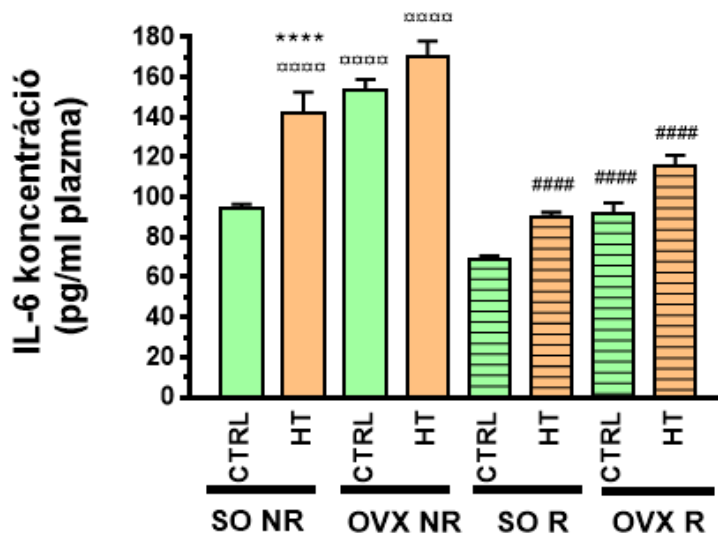
○ ○ ○ ○ p < 0,0001 Szignifikáns különbség SO CTRL NR csoporthoz képest

##p < 0.01, ###p < 0.001, ####p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül R és NR állatok között

* p < 0.05, ****p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül CTRL és a HT állatok között

SO = áloperált, OVX = ovariectomizált, CTRL = fitoösztrogén mentes étrend, HT = magas triglicerid tartalmú étrend, NR = nem futó, R = futó

Az IL-6 gyulladáskeltő citokin koncentrációja, mind a HT-étrend, mind a petefészek eltávolítás által kiváltott ösztrogénhiányt követően szignifikánsan megemelkedett. Ugyanakkor a 12 hetes testmozgás képes volt szignifikánsan csökkenteni az IL-6 szintet, zsírdús étrenden lévő és ösztrogénhiányos állatokban egyaránt (27. ábra).



27. ábra IL-6 koncentrációja szívben nőstény patkányban

Az eredményeket pg/ml-ben fejeztük ki és átlag $\pm$ S.E.M.-ben adtuk meg (n = 6-11).

○ ○ ○ ○ p < 0,0001 Szignifikáns különbség SO CTRL NR csoporthoz képest

#p < 0.05, ## p < 0.01 Szignifikáns különbség egy csoporton belül a R és NR állatok között

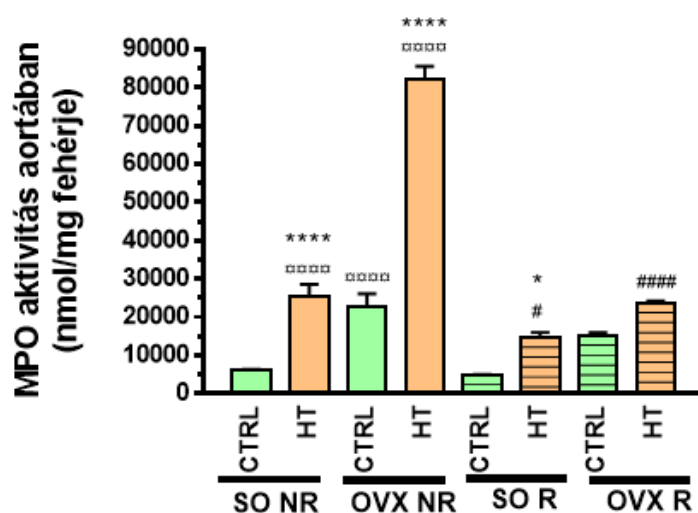
****p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül CTRL és a HT állatok között

SO = áloperált, OVX = ovariectomizált, CTRL = fitoösztrogén mentes étrend, HT = magas triglicerid tartalmú étrend, NR = nem futó, R = futó

7.2.6. A MPO enzim aktivitása szívben és aortában

Aortában és szívben mért MPO aktivitás eredményeit a 28. és 29. ábrán tüntettük fel. Az SO CTRL NR csoporthoz képest mind a HT-étrend, mind a petefészekeltávolítás jelentősen növelte az aorta és a szív MPO aktivitását. A HT étrend szignifikáns

emelkedést eredményezett a SO CTRL NR és SO CTRL R, valamint OVX CTRL NR csoportokhoz képest minden alcsoporton belül. A plazma IL-6 és TNF- α koncentráció értékekhez hasonlóan a 12 hetes testmozgás csökkentette ezeket a paramétereket a nem futó csoportokhoz képest.



28. ábra Aortában mért MPO aktivitása nőstény patkányban

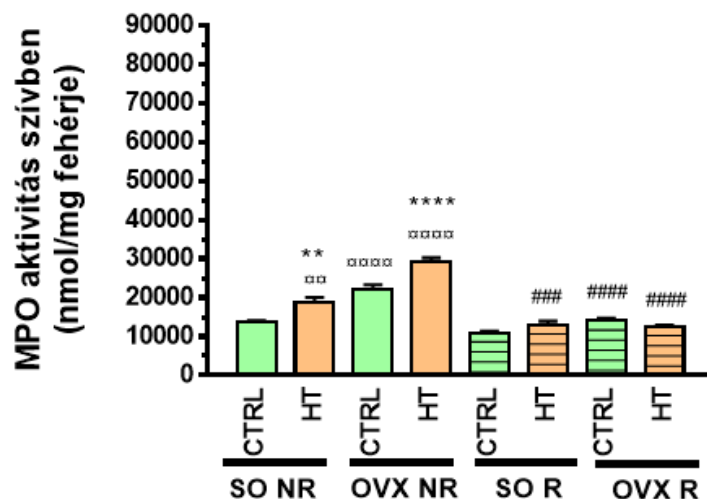
Az eredményeket nmol/mg fehérjeként fejeztük ki és átlag $\pm$ S.E.M.-ben adtuk meg (n = 6-8).

○ ○ ○ ○ p < 0,0001 Szignifikáns különbség SO CTRL NR csoporthoz képest

#p < 0.05, #### p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül NR és a R állatok között

* p < 0.05, **** p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül CTRL és a HT állatok között

SO = áloperált, OVX = ovariectomizált, CTRL = fitoösztrogén mentes étrend, HT = magas triglicerid tartalmú étrend, NR = nem futó, R = futó



29. ábra Szívben mért MPO aktivitása nőstény patkányban

Az eredményeket nmol/mg fehérjeként fejeztük ki és átlag $\pm$ S.E.M.-ben adtuk meg (n = 6-8).

○ ○ p < 0.01, ○ ○ ○ ○ p < 0.0001 Szignifikáns különbség SO CTRL NR csoporthoz képest

p < 0.001, #### p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül NR és a R állatok között

** p < 0.01, **** p < 0.0001 Szignifikáns különbség egy csoporton belül CTRL és a HT állatok között

SO = áloperált, OVX = ovariectomizált, CTRL = fitoösztrogén mentes étrend, HT = magas triglicerid tartalmú étrend, NR = nem futó, R = futó

8. DISZKUSSZIÓ

A CVD-k a vezető halálokok világszerte. Az orvostudomány fejlődésével párhuzamosan a rizikótényezők és a betegségek patogenezise is tisztázódni látszik, de még így is nagyszámú nő és férfi szenved CVD-ben. Ezen betegség főbb kockázati tényezői az elhízás, a cukorbetegség, a stressz, a magas vérnyomás és a magas koleszterinszint [110, 111]. Ezek szoros kapcsolatban vannak az életmóddal, a helytelen étkezési szokásokkal és a fizikai inaktivitással. Nők esetében a CVD-kkel azonban összefüggésbe hozható az ösztrogén hiányos állapot is. A férfiak halálozása magasabb a premenopauzában lévő nőkhez képest, azonban posztmenopauzát követően, az ösztrogénhiányos állapot fokozza az elhízást, a gyulladásos folyamatokat és az oxidatív stressz kialakulását, ezáltal növeli a kardiovaszkuláris rizikót [109]. Eredményeinkből egyértelműen kiderül, hogy a rekreatív testmozgás jótékony hatással van a kardiovaszkuláris rendszerre, mint nem farmakológiai terápia képes csökkenteni a kardiovaszkuláris események kockázatát.

8.1 Rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata hím patkánymodellben

Vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy 6 hetes testmozgást követően a szérum MMP-2 aktivitás szintje szignifikánsan csökken. Megállapítottuk továbbá, hogy testmozgást követően csökkent az infarktusos terület nagysága, a szívperfúziója és a mozgás az ST-depresszió javulását eredményezte. A rekreatív testmozgás az aortakontrakció és bazális vérnyomás értékeiben nem okozott változást.

Korábbi kísérletekkel már bizonyították, hogy a futókerekes testmozgás kedvezően befolyásolja a kardiovaszkuláris elváltozásokat [112, 113]. A vizsgálataink során felhasznált állatokat futókerekes ketrecekben helyeztük el, melyekben az állatok 6 héten

keresztül önkéntesen futottak, saját maguk által kiválasztott időpontokban és intenzitásban a nap 24 órájában.

Számos kísérlet eredményeképpen bebizonyosodott már, hogy a testmozgás hatására indukálódó antioxidáns védelmi rendszerek szerepet játszanak a kardioprotekcióban [114, 115]. Hasonló, testmozgás hatására indukálható mechanizmus az MMP-2 szint csökkenése, mely legfőképp a vázizomzat, valamint a szívizomzat szöveteiben termelődik [116, 117]. Illetve olyan szív-és érrendszeri megbetegedések során expresszálnak és aktiválódnak, mint például az ateroszklerózis, a miokardiális infarktus és egyéb szívet érítő rendellenességek [118]. Jelen tanulmány egyik célja az volt, hogy futókerekes ketrecben elhelyezett patkányok szérum MMP-2 aktivitását vizsgáljuk. Kísérletünk során megállapítottuk, hogy 6 hetes önkéntes testmozgás szignifikánsan csökkentette a 64 és 72 kDa MMP-2 szérumszinteket a nem futó csoportokhoz képest. A MMP szintjének csökkenése összefügghet a TIMP expressziójával, a proteáz degradációval és a proinflammatorikus citokin TNF- α csökkenésével [119]. A gyulladásos biomarkerek csökkenő szintje befolyásolja a MMP-2 termelődését [120]. Lucotti és mtsai. az aerob testmozgás hatásait vizsgálva igazolták, hogy a MMP-2 szintje 20 %- al csökkenthető testmozgás hatására [121], melynek során a lecsökkent MMP érték a gyulladásos paraméterek szintjére is jótékony hatással van. Cheung és munkacsoportja által elvégzett tanulmány szerint MMP-2 felszabadulása figyelhető meg perfúzió következtében koronárián átáramló folyadékban, mely a reperfúzió első és ötödik percében volt a legmagasabb és a fokozódó iszkémiával arányosan emelkedett értéket mutatott [122]. Lalu és mtsai. szívet vizsgálva megfigyelték, hogy a MMP-2 felszabadulása a szívkoszorúérben nagyobb volt az I/R után. Köztudott, hogy a reperfúzió első percében ROS-ok szabadulnak fel, amelyek meghatározzák a reperfúziós károsodás súlyosságát [123]. A folyamat során

szintetizálódó szabad gyökök direkt sejtkárosító hatással és pro-inflammatorikus hatással rendelkeznek. A gyulladásos folyamat révén aktiválják a beáramló leukocytákat, thrombocytákat és lokális endothelsejteket, illetve csökkentik az endothel NO termelését, amely perfúziós zavarokat generál, illetve fokozza a sejtek gyulladásos interakcióit. Gielen és kutatócsoportja is megállapították, hogy a MMP-2 fokozott termelődése az endotél működési zavarát vonja maga után, a vaszkuláris permeabilitás csökken, szívkoszorúér betegség és szívelégtelenség alakul ki [124].

Korábbi kísérletekkel egyértelműen bizonyították, a testmozgás csökkenti a halálozás kockázatát I/R károsodás során [125]. Vizsgálatunk eredményei arra mutatnak rá, hogy 6 hetes futókerekes testmozgás a patkányok koronária keringését javította, ezáltal csökkentette a szívinfarktus bekövetkeztének kockázatát és az infarktusos terület méretét. Doustar és mtsai. nem figyeltek meg az I/R okozta sérüléssel szembeni védelmet szívben 4 hetes mozgást követően [126]. Számos tanulmány látott már napvilágot azzal kapcsolatban, hogy az infarktusos terület nagysága és az MMP-2 szint között szoros összefüggés van [127]. Jelen tanulmányunkban is bebizonyítottuk a MMP-2 aktivitás és a csökkent infarktusos terület nagysága közti kapcsolatot.

A testmozgás hatására kialakult szív-és érrendszeri védelemnek fontos funkcionális és strukturális jelentősége is van. A testmozgás hatására endoteliális nitrogén-oxid-szintáz (eNOS) szabadul fel, ami vazodilatációt eredményez[124]. Az eNOS hatására keletkező NO részt vesz a testmozgás által nyújtott kardiovaszkuláris védelemben [128]. A NO hatására kialakult, fokozott artériás dilatáció jótékony hatással van a szívizom oxigénellátására, ami további endotheliális védelmet biztosítva megakadályozza az iszkémiás eseményeket. A testmozgás hatására termelődő NO lehet a HO enzimrendszer egyik potenciális induktora. Sun és munkacsoportja kísérleteik során azt tapasztalták, hogy a testmozgás által kiváltott HO emelkedése a kardiovaszkuláris adaptációban

kiemelkedő szerepet játszik [129]. Hafstad és mtsai. a bal kamrai (LV) funkciót és a mechanoenergetikai károsodást mérsékelt intenzitású mozgással normalizálták. Kimutatták, hogy a változások összhangban állnak az intracelluláris MMP-2 koncentrációval és az oxidatív stressz mértékével egyaránt [130].

Ahhoz, hogy bizonyítsuk a futókerekes testmozgás protektív hatását, az állatoknál a szív elektromos paramétereinek a változását is mértük. EKG-val az ST szakasz változását figyeltük, mely érzékeny mutatója a koronáriás keringésben törtéteknek. Az izommunka növekedésével a szív terhelése fokozódik, az izmokhoz egyre több vért kell eljuttatni, a szívnek gyakrabban és erősebben kell összehúzódnia. Ehhez a szívizomzatnak több oxigénre van szüksége, azonban ha a koszorúereken szűkület van, az oxigénellátás nem megfelelő, és ez az EKG-n ST-depresszió (azaz az ST-szakasz megsüllyedése) formájában válik láthatóvá. 6 hetes futókerekes mozgás csökkentette az ST depresszió mértékét, ezáltal csökkent a szívinfarktus kialakulásának kockázatát. A nyugalmi szív perfúziója hasonló volt a futó és a nem futó csoportokban. A vazopresszinnek érszűkítő hatása van: ezt a hatását az 1-es típusú vazopresszin receptorhoz (V1-receptor) kötődve fejt ki. A peptid a prekapilláris rezisztenciaerek simaizomzatára hat, vazokonstriktót okoz. $1.0 \mu\text{g}$ AVP adása a szív perfúziójának jelentős javulását mutatta futás hatására. Az AVP indukálta perfúzió változás arra enged következtetni, hogy egy 6 hetes futás már hatékony lehet a kardiovaszkuláris rendszer állapotának javításában.

Kísérletünkben rekreatív testmozgás hatását vizsgáltuk az AVP-indukálta aortagyűrűkontrakcióra és a vérnyomásra. Korábbi tanulmányunkban a túlélő aortagyűrűösszehúzását mértük hím és nőstény patkányokban (AVP: $2,0 \mu\text{g/mL}$) [67]. A $2 \mu\text{g/mL}$ AVP dózis bizonyult a leghatékonyabbnak, ezért alkalmaztuk ezt a kezelést a jelen

vizsgálatban is. Annak ellenére, hogy eredményeinktől javulást vártunk, az aorta-kontrakcióban nem tapasztaltunk különbséget a nem futó és a futó állatok között.

A bazális vérnyomás értékeit vizsgálva szintén nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a nem futó és a futó patkányok között. Roque és mtsai. kísérletük során megállapították, hogy normotenzív patkányoknál, úszást követően nem történt a mozgás hatására vérnyomásváltozás [131]. Az aerob testmozgásnak a normotenzív állatok és az emberek vérnyomására gyakorolt hatása minimálisnak tűnik. Caponi és mtsai. leírták, hogy aerob testmozgást követően hipertóniás és metabolikus szindrómában szenvedő patkányoknál vérnyomás változását nem tapasztaltak [132, 133].

8.2 A HT tartalmú étrend és a rekreatív testmozgás hatásának vizsgálata E2 hiányos patkánymodellen

A szervezetben kialakuló metabolikus zavarok és ebből kialakuló kardiovaszkuláris elváltozások napjaink egyik fő halálozási okának tekinthetők, mely nagy terhet ró a gazdaságra. Kutatócsoportunk korábbi korábbi eredményeivel igazolta, hogy ösztrogénhiányos modellekben csökken a szívizom iszkémia elleni védelem, a HO aktivitás és expresszió, valamint ez a hiány a proinflammatorikus citokinek szekréciójának növekedésével is együttjár [109]. Ezért jelen vizsgálatunkban az elhízás, az antioxidáns enzimrendszer és a gyulladásos folyamatok közötti kapcsolatokat vizsgáltuk a HT étrenden lévő OVX nőstény patkányokban. Továbbá kísérletünk célja még, hogy tisztázzuk az rekreatív testmozgás szervezetre gyakorolt hatásait ösztrogén hiányos állapotban, ezért a vérplazma, a szív és az aorta szöveteket vizsgáltuk meg ELISA és spektrofotometriás módszerrel.

A szabadidős testmozgás preventív szerepe a krónikus, illetve CVD-kkel kapcsolatban már számos tanulmányban napvilágot látott [134], azonban a mozgás által befolyásolt folyamatok egyes részleteinek feltérképezése még nem teljesen tisztázott.

Ösztrogén hiányos állapotban az oxidatív stressz elleni védelem lecsökken, ezáltal a szuperoxid termelés fokozódik. De Melo és kutatócsoportja összegezték, hogy a petefészek hormonok hiánya, a magas vérnyomás, a kóros plazma lipid felhalmozódás, az endotheliális diszfunkciók, az emelkedett oxidatív stressz és a cukorbetegség, mind a magas kardiovaszkuláris morbiditáshoz és mortalitáshoz vezet [135]. Kísérletünkben résztvevő OVX patkányok centrális területén adipocita felhalmozódást figyeltünk meg, mely az ösztrogén hiánynak, valamint a kalóriadús étrendnek volt köszönhető [25]. Az elhízás és az ösztrogén termelésének felborulása már külön-külön is, de együttesen még inkább a HO enzim aktivitás és koncentráció csökkenését eredményezi [109]. Vizsgálatunk során egyértelműen kimutattuk, hogy a HT étrend és OVX hatására bekövetkező változások a HO aktivitásában és koncentrációjában szignifikáns csökkenést eredményeztek. Nicolai és mtsai. kísérleteikkel bizonyították, hogy az elhízás növeli a ROS szintjét, valamint csökkenti a HO-1 expresszióját és aktivitását [136]. Az endogén ösztrogén alacsonyabb szintje továbbá endotél diszfunkciót eredményez a ROS megnövekedett termelésével [137]. Sacerdoti és munkacsoportja megfigyelték, hogy az endoteliális sejtekben történő HO-1 felszabadulás csökkenti a glükóz mediálta oxidatív stresszt, a DNS sérüléseket és a sejthalált [138]. A hem katabolizmus alatt termelt CO értágító, anti-trombotikus, gyulladásgátló és anti-apoptotikus tulajdonságokkal rendelkezik és fontos szerepet játszik az ösztrogén által közvetített kardioprotekcióban [139]. Kutatócsoportunk korábbi kísérlettel már bizonyította, hogy a HO enzimek aktivitásának és expressziójának csökkenése szorosan összefügg a gyulladásos folyamatokkal [109].

Az elhízás során felgyülemlett hasi adipociták kardiometabolikus hatását és a gyulladásos faktorok emelkedését korábbi tanulmányok már igazolták [140, 141]. Emelkedő HO-1 expresszió párhuzamosan növelte az inzulin szenzitivitást, csökkentette a vizszerális és hasi zsírtömeget, valamint a plazma TNF- α és IL-6 szintjét [142]. Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a pro-inflammatorikus citokin IL-6 és TNF- α szintje szignifikáns emelkedést eredményezett HT étrendet követően. Továbbá az is kiderült, hogy OVX hatására, mely az ösztrogén hiányát eredményezi, ezen citokinek plazma koncentráció szintje szintén szignifikánsan megemelkedett. A legszembetűnőbb különbséget azonban OVX és HT kombinált hatása során tapasztaltunk. Az elhízás során kialakuló gyulladás eredményeképpen megnő a keringésben és szövetekben a fehérvérsejtek száma és a gyulladásos citokinek szintje. Ludgero-Correra és mtsai. által végzett kutatások is bizonyítják, hogy az ösztrogén hiánya miatt bekövetkező elhízás TNF- α és az IL-6 szintjének szignifikáns emelkedését eredményezte [143]. Ez szintén alátámasztja azt a megállapítást miszerint az ösztrogén hiányállapot összefüggésbe hozható az endotél diszfunkciójával, ami hozzájárul a gyulladásos citokinek fokozódásához [144]. Korábbi kísérleteink eredményeinek megfelelően, most is igazoltuk, hogy a megfelelő mértékű testmozgás a gyulladásos faktorok csökkenéséhez vezet [145], ami a kardiovaszkuláris elváltozások prevenciójában nagy jelentőségű lehet. Hemati és kutatócsoportjának eredményei is rámutattak arra, hogy a fizikai aktivitás CVD megbetegedésben szenvedő betegekben javította a krónikus gyulladás mértékét, redukálta a proinflammatorikus citokinek termelődését és csökkentette az oxidatív stressz kialakulását [146].

Az MPO enzim szintén fontos a gyulladásos folyamatokban és emelkedett aktivitása szív- és érrendszeri kockázatot jelent [147, 148]. Ehhez hasonló eredményeket kaptunk kísérletünkben, miszerint a HT étrend és OVX szignifikánsan megemelte a MPO enzim

aktivitását, mind aorta, mind szív szövetekben. Korábban bizonyították, hogy a fizikai aktivitás csökkenti a MPO aktivitás mértékét a szív- és érrendszerben, ezáltal csökkentve a CVD-k kialakulásának veszélyét [149].

Az ösztrogén kimerülése és a túlzott kalóriefogyasztás negatív hatással van a HO enzimrendszer működésére és fokozza a gyulladásos folyamatokat. Vanella és mtsai. kísérleteikben bizonyították, hogy a megnövekedett HO-1 expresszió csökkentette az adipocita differenciálódást [150]. A HO-1 eredetű CO emelkedése az endotélsejtekben, fokozott endothelialis sejtproliferációhoz vezet. [151]. A HO-1 fontos szerepet játszhat az adipocita differenciálódásban számos érbetegségben, valamint a MetS következtében kialakuló betegségek elleni védelemben [63]. Korábbi tanulmányunkban kimutattuk, hogy az önkéntes testmozgás, mint nem farmakológiai terápia, a metabolikus paraméterek javításában jelentős szerepet játszik [25] és csökkenti az I/R károsodást [108]. Számos tanulmány megerősítette, hogy a rendszeres testmozgás fontos a súlygyarapodás csökkentésében és az érrendszeri funkciók javulásában, ami összefügg a gyulladásos citokinek csökkenésével [152]. Linden és munkacsoportja vizsgálták a 12 hetes mérsékelt intenzitású testmozgás hatását a magas zsírtartalmú étrenden tartott patkányok gyulladásos génexpressziójára és az IL-1 β , az IL-6 és a TNF- α gyulladásos génválaszainak csökkenését tapasztalták [153]. Vizsgálatunkban a 12 hetes önkéntes futás javította a HO-enzim koncentrációját és aktivitását aorta- és szív szövetekben, ami hatást az ösztrogénhiány és a HT-étrend csökkentett. Továbbá mind a TNF- α , mind az IL-6 szintjének szignifikáns csökkenését figyeltük meg a nem futó csoportokhoz képest a 12 hetes testmozgás hatására, ehhez hasonlóan az MPO aktivitás is szignifikánsan csökkent minden egyes csoportban. A mozgás serkenti a HO szív és aorta simaizom-upregulációját, valamint a vaszkuláris cGMP útvonal növelésével és relaxálásával növeli a vérellátást. A CO tartalom emelkedése pedig növelheti a HO gyulladásgátló hatását.

9. KÖVETKEZTETÉSEK

Eredményeink választ adtak a célkitűzésekben megfogalmazott kérdésekre:

1. Az első kísérletben a rekreatív testmozgás hatásait vizsgáltuk hím patkánykísérletben

Megállapítottuk, hogy a 6 hetes rekreatív testmozgás kardioprotektívnek bizonyult hím patkánymodellben. A szérum MMP-2 aktivitása csökkent testmozgás hatására. Az infarktus méretének csökkenése, az MMP-2 felszabadulása a kardioprotektív hatások közé tartozhat. Továbbá, a testmozgás képes volt javítani a szív angina érzékenységét és az AVP-re adott perfúziós választ.

2. A második kísérletsorozatunkban 12 hetes kísérleti periódust követően vizsgáltuk az HT tartalmú étrend és mozgás hatásait áloperált (SO) és ösztrogénhiányos (OVX) nőtény patkányokban

Tanulmányunkban tisztáztuk, hogy az ösztrogén hiány és a HT étrend külön-külön s együtt is hozzájárul az HO enzimek termelődésének és aktivitásának változásához, illetve a TNF- α és IL-6 gyulladáskeltő citokinek koncentráció és a MPO enzim aktivitásának emelkedéséhez. Azonban a 12 hetes futókerekes testmozgás, mint nem farmakológiai terápia segít a gyulladásos paraméterek szintjét lecsökkenteni és az antioxidáns enzimek szintjét megnövelni.

10. ÖSSZEFOGLALÁS

Az elhízás és a CVD-k gyakorisága riasztóan növekszik. A CVD a világon vezető haláloknak számítanak. A krónikus gyulladás és az oxidatív stressz számos CVD kialakulásához vezet, beleértve a magas vérnyomást, a szívelégtelenséget. Ezeknek a betegségeknek a kockázata jelentősen csökkenthető lenne megfelelő életmódbeli változtatásokkal, például fokozott fizikai aktivitással. A CVD kialakulásának pontos mechanizmusa még nem teljesen ismert. Hölgyeknél az ösztrogén hiány az életkorral összefüggő betegségek egyik fő oka a kardiovaszkuláris rendszerben. Számos tanulmány szerint a kardiovaszkuláris morbiditás és a mortalitás jóval kisebb a premenopauzás nőknél, mint az azonos korú férfiaknál, melynek feltehető oka az ösztrogén védő szerepe a CVD-kkel szemben. Bár az ösztrogén hiány önmagában is megnöveli a túlsúlyt és elhízást a posztmenopauzás nőkben, számos genetikai, valamint környezeti hatás (például életmód, táplálkozás és dohányzás) befolyásolhatja a testzsír felhalmozódását. A posztmenopauza korba lépett nők életük harmadát ösztrogén hiányos állapotban töltik, ezért az elhízás és az elhízás okozta szövődmények kezelése fontos egészségügyi jelentőséggel bír a 21. században. Az ösztrogén alapvető szerepet játszik az antioxidáns és gyulladáscsökkentő mechanizmusokban, és pozitívan szabályozza a lipid és a glükóz metabolizmusát, ezért a posztmenopauzában lévő nők hajlamosabbak az elhízásra, a gyulladásos folyamatokra és érzékenyebbek az oxidatív stresszre. A testzsír felhalmozódása gyulladásos citokinek termelésének fokozásával elősegíti a pro-inflammatorikus citokinek termelődését, mint például a TNF- α , IL-6. Ez az elhízás okozta gyulladásos állapot az oxidáns / antioxidáns homeosztázis felborulásához vezet, mely az oxidatív stressz fokozódását eredményezi.

Munkánk során a testmozgás hatásait vizsgáltuk hím és ösztrogénhiányos nőstény patkányok szív-és érrendszerében.

Kísérleteink első szakaszában célul tűztük ki az önkéntes testmozgás hatásainak vizsgálatát patkány szív-és érrendszerében.

Hím Wistar patkányokat nem futó és futó csoportokra osztottunk. A fizikai aktivitás vizsgálata érdekében egy önkéntes futókerekes modellt alkalmaztunk, ahol az állatok önmaguk választhatták ki a futás időtartamát és intenzitását stresszmentes környezetben. 6 hetes periódust követően mértük az MMP-2 szérumszintjét, a vérnyomást, az AVP-indukálta szívizomperfúziót és az aortagyűrű összehúzódást. A szívizom iszkémiára való hajlamának vizsgálatához az EKG ST szegmens változását használtuk. Meghatároztuk az infarktus méretét valamint a koronária-effluens MMP-2 aktivitását mértük.

Zimográfiai mérés során kiderült, hogy hím állatoknál a 6 hetes önkéntes testmozgás csökkentette a 64- és 72 kDa MMP-2 izoformák szérumszintjét a futó állatokban a nem futó csoporthoz képest. Bizonyított, hogy az MMP-2 jelátviteli aktivitását az I / R előtt és után detektálva, az MMP-2 felszabadulása a CF-ben nagyobb volt az I/R után. Mérésünk során azt tapasztaltuk, hogy a 6 hetes önkéntes testmozgás védelmet nyújt a reperfúziós károsodás ellen, amely a 64 kDa MMP-2 felszabadulásának a csökkenésével magyarázható a futó patkányoknál. Azonban a 72 kDa izoforma aktivitásában nem tapasztaltunk változást. Vizsgálataink eredményei azt mutatják, hogy a 6 hetes önkéntes futókerekes testmozgás védelmet nyújt az I / R sérüléssel szemben a szívizominfarktus méretének csökkenésével arányosan. Adataink alátámasztják az MMP-2 aktivitás és a csökkent infarktusméret közötti kapcsolatot. A 6 hetes testmozgás csökkentette az ST szegmens depresszióját, és ezáltal javította az iszkémiás érzékenységet a szívben. Megfigyelésünk szerint, a normoxiás szív perfúzió hasonló volt a futó és a nem futó

csoportban. További vizsgálatainkban AVP-t alkalmaztunk, amely a hemodinamikai paramétereket szabályozza mérsékelt vazokonstrikciónak indukálásával. 1,0 µg AVP-re adott válaszként a testmozgás hatására szignifikáns javulást tapasztaltunk. Az AVP által kiváltott perfúziós változások azt sugallják, hogy a 6 hetes önkéntes testmozgás hatékony lehet funkcionális és szerkezeti adaptációra a szív- és érrendszerben.

Kísérletünk során az AVP-indukálta aorta gyűrű kontrakciót és a vérnyomást is mértük. A futás hatására az aorta-kontrakcióban nem volt különbség a nem futó és a futó állatok között. A bazális vérnyomás mérése során is ugyanezt tapasztaltuk. Tanulmányunkban a futás csökkentette a 64 kDa és a 72 kDa MMP-2 aktivitását a szérumban, valamint az MMP-2 felszabadulását a szívből a koszorúérbe, a 30 perces LAD-elzáródás következtében. Az MMP-2 értékek csökkenéséhez hasonlóan az infarktus mérete is csökkent. A futás hatásos stimulusnak bizonyult a funkcionális javulást, a szívizom perfúziót és a szív ischaemiás érzékenységet tekintve.

Összefoglalva, eredményeink adaptív és kardioprotektív hatásokat mutatnak szabadidős testmozgás során. A szérumban csökkent MMP-2 aktivitása hozzájárulhat a 6 hetes testmozgás többféle adaptációs mechanizmusához. Az infarktus méretének csökkenése azt sugallja, hogy az MMP-2 felszabadulása a perfúzióba a kardioprotektív hatások egyik oka lehet. Továbbá, a testmozgás képes volt javítani a szív angina érzékenységét és az AVP-indukálta perfúziós változások által észlelt funkcionális javulást okozni.

Második kísérletünkben nőstény állatokban megvizsgáltuk az ösztrogén hiány hatását a gyulladásos paraméterekre aortában és szívben. A menopauza utáni ösztrogén hiány túlsúlyos vagy elhízott állapothoz vezet, azonban a testmozgás a testtömeg-növekedés egyik fontos modulátora. Nőstény Wistar patkányokon OVX vagy SO hajtottunk végre. Az OVX és SO csoportokat további alcsoportokra osztottuk a testmozgás jellege (futó

(R) és nem futó (NR)) és a táplálék jellege alapján (CTRL, HT) 12 héten keresztül. Biokémiai mérések során meghatároztuk a plazmában mért TNF- α , IL-6 gyulladásos citokinek szintjét., valamint a HO-1 koncentrációját ELISA módszerrel. A MPO és HO enzimek aktivitását aortában és szívben spektrofotometriás módszerrel vizsgáltuk.

A HO-1 katalizálja a hem oxidatív lebomlását, így ekvimoláris mennyiségű biliverdin, szabad vas és CO keletkezik. A CO antiapoptotikus és gyulladáscsökkentő hatást fejt ki az oldható guanil-cikláz indukálásával. A CO továbbá elnyomja a proinflammatorikus citokinek termelését, mint például a TNF- α .

Az aortában és a szívben mért HO aktivitása és a HO-1 koncentrációja szignifikánsan csökkent mind a NR OVX és az SO HT csoportban. A 12 hetes testmozgás hatására azonban javulást tapasztaltunk a HO-1 értékek estében. A plazma IL-6 koncentrációk magasabbak voltak az NR OVX állatokban és a HT étrenden lévő patkányoknál az SO CTRL patkányokhoz képest. A TNF- α koncentráció szignifikánsan magasabb volt az NR OVX csoportokban. A 12 hetes edzés szignifikánsan csökkentette mind a TNF- α , mind az IL-6 koncentrációját az NR patkányokhoz képest. A MPO aktivitása az OVX és a HT étrend következtében szignifikánsan megnövekedett, azonban az önkéntes kerek futás helyreállította az emelkedett értékeket.

Ebben a jelenlegi tanulmányban tisztáztuk, hogy az ösztrogén hiány és a túlzott HT tartalmú étrend hogyan befolyásolja a HO enzimrendszert és a gyulladásos folyamatokat. A posztmenopauzában lévő nők várható élettartamára hatással van a HO-1 koncentrációjának és aktivitásának csökkenése, valamint a TNF- α , IL-6 szint és az MPO enzimaktivitás szintjének emelkedése. Összességében megállapítható, hogy a 12 hetes önkéntes testmozgás javítja a lecsökkent HO értékeket és csillapítja a gyulladásos paramétereket, így a futás úgynevezett nem farmakológiai terápiának tekinthető.

11. SUMMARY

CVD remains the leading cause of death in the world. Chronic inflammation and oxidative stress are associated with the development of various cardiovascular diseases including hypertension and heart failure. The risk of these diseases is significantly reduced by appropriate lifestyle modifications such as increased physical activity. The exact mechanisms by which exercise influences the development and progression of CVD are unclear. Estrogen deficiency in women is one of the main causes of age-associated diseases in the cardiovascular system. Cardiovascular morbidity and mortality are far less in premenopausal women compared to age-matched men because the estrogen seems to have a protective effect. Though, estrogen deficiency in itself increases overweight and obesity in postmenopausal women, many genetic and environmental effects (e.g. lifestyle, nutrition, and smoking) can further determine the pathophysiology of body fat accumulation. Postmenopausal women spend the third of their lifetime in estrogen-depleted state, therefore the management of obesity and obesity-related comorbidities has important health significance in the 21st century. While estrogen plays a fundamental role in antioxidant and anti-inflammatory mechanisms and positively regulates lipid and glucose metabolisms, postmenopausal women more likely tend to suffer from obesity, inflammation and oxidative stress. Body fat accumulation causes low-grade chronic inflammation by enhancing the production of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6. This obesity-related inflammatory state can be associated with disruption of the oxidant/antioxidant homeostasis which cause an enhancement of oxidative stress.

In our study, we examined the effects of physical exercise on the cardiovascular system in male and female rats.

In our first experiment, our aim was to confirm the beneficial effects of voluntary physical exercise.

For this end, male Wistar rats were divided into control and exercising groups. We used a voluntary wheel-running model where the animals were able to self-select the time, duration, and the intensity of exercise in a nonstressful environment. After a 6-week period we determined, the serum levels of MMP-2, the basal blood pressure, the AVP-induced heart perfusion and the aorta ring contraction. Electrocardiogram ST segment changes were used to detect cardiac ischemia susceptibility the ST segment depression provoked. Furthermore, we measured the infarct size and coronary effluent MMP-2 activity as well.

Our zymography analyses revealed that 6 weeks of voluntary exercise training in male rats decreased the serum levels of the 64- and the 72 kDa MMP-2 isoforms compared to the control group. Gelatinolytic activities of MMP-2 were detected before and after I/R as well, and it was found that the release of MMP-2 into the coronary effluent was higher after I/R. Our data demonstrated that 6-week voluntary exercise was protective against reperfusion damage, since we found that the release of 64 kDa MMP-2 into the perfusate decreased significantly in the exercising rats. However, we did not identify the 72 kDa isoform activity in the coronary effluent. The results of our study showed that 6-week voluntary wheel-running provides protection against I/R injury by reducing the myocardial infarct size in rats. Our current data support this possible link between the released MMP-2 activity and the reduced infarct size. 6 weeks of voluntary exercise diminished the ST segment depression and therefore reduced the susceptibility of the heart against ischemia. We have observed that basal normoxic heart perfusion was similar in the exercising group and the control group. Further examination we utilized AVP, which can regulate the hemodynamic parameters by inducing moderate vasoconstriction. In a response to 1.0 μg AVP, a significant improvement was observed in the heart perfusion after exercise training. The AVP-induced perfusion changes imply that a 6-

week period of voluntary exercise may be effective in producing functional and structural adaptations in the cardiovascular system.

We also measured the AVP-induced aorta ring contraction and the basal blood pressure. After voluntary exercise training, no differences were observed in aorta contraction between the control and the exercising animals. Similarly, no alteration was detected in basal blood pressure between the control and the exercising rats.

In this current study, wheel-running exercise decreased the activities of both 64 kDa and 72 kDa MMP-2 in the serum and also the release of MMP-2 from the heart into the coronary effluent as a consequence of 30-minute LAD occlusion. Similar to the decreases in the MMP-2 values, the infarct size was also reduced. In summary, such a training period seems to be a potent stimulus for functional recovery in favour of the myocardial perfusion and ischemic susceptibility of the heart.

In conclusion, our results showed adaptive and cardioprotective effects of voluntary wheel-running exercise. The reduced activity of serum MMP-2 might be contributing to the multiple adaptation mechanisms of 6-week physical exercise. The fact that the infarct size is decreased suggests that the release of MMP-2 into the perfusate could be a part of the observed cardioprotective effects. Moreover, our training program was able to improve the angina susceptibility of the heart and causes functional recovery detected by AVP-induced perfusion changes.

In our second experiment, we examined estrogen deficiency in female Wistar rats on inflammatory, aortic and cardiac parameters.

The estrogen deficiency after menopause leads to overweight or obesity. However the physical exercise is one of the main important modulators against this body weight gain. Female Wistar rats underwent OVX or SO as a control. OVX and SO groups were

randomized into new groups based on the voluntary physical activity (with or without running) and the type of diet for 12 weeks. Rats were fed CTRL and HT diet. In our study, we measured the concentrations of pro-inflammatory TNF- α , IL-6 and the concentration of HO-1, the activity of MPO and HO enzymes in aorta and heart. HO-1 can catalyze the oxidative degradation of heme to yield equimolar amounts of biliverdin, free iron, and CO. Biliverdin is metabolized to bilirubin by biliverdin reductase. CO exerts antiapoptotic and anti-inflammatory effects through the induction of soluble guanylate cyclase. CO additionally suppresses the production of proinflammatory cytokines, such as TNF- α .

Through the measuring of aortic and cardiac HO activity and HO-1 concentrations, we found a significant decrease in all of the NR OVX and SO HT groups. However, the 12-week physical exercise was found to improve HO-1 values. Plasma IL-6 concentrations were higher in the NR OVX animals and rats fed with HT diet compared to SO CTRL rats. TNF- α concentrations were significantly elevated in the NR OVX groups. 12 weeks of exercise significantly reduced the concentrations of both TNF- α and IL-6 compared to the NR group. The activity of MPO was significantly increased as a result of OVX and HT diet, however voluntary wheel-running exercise is able to restore the elevated values.

In this current study we clarified how estrogen depletion and overnutrition related to the disruption of HO enzyme system and to inflammatory processes. Decrease in the concentration and activity of HO-1 and increase in the levels of TNF- α , IL-6 and MPO enzyme activity are the major causes of life expectancy in postmenopausal women. However, 12 weeks of voluntary wheel-running exercise seems to be a potential non-pharmacological strategy to improve the deteriorated HO and to ease inflammatory parameters.

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Varga Csaba tanszékvezető egyetemi docensnek, hogy helyet biztosított a munkám elvégzéséhez a SZTE, TTIK, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszéken. Külön köszönet, Dr. Pósa Anikónak témavezetői munkájáért, tanácsaiért, építő jellegű kritikájáért, hogy irányításával elsajátíthattam a tudományos kutatás elvi és gyakorlati alapjait.

Köszönettel tartozom laborunk egykori és jelenlegi munkatársainak: Almási Nikolettának, Amin Al Awarnak, Börzsei Denisenek, Hoffmann Alexandrának, Juhász Katalinnak, Dr. Kupai Krisztinának, Dr. László Ferencnek, ifjabb †Dr. László Ferencnek, Magyar Ferencnek, Magyariné Berkó Anikónak, Dr. Szalai Zitának, Dr. Szabó Renátának, Török Szilviának és Dr. Varga Csabának a sok segítségért, valamint Juhász Katalinnak és Veketyné Váradi Margitnak az adminisztrációs segítséget.

Szeretném megköszönni az Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék valamennyi dolgozójának a barátságos légkört.

Végül szeretném megköszönni a Családom minden tagjának az odaadó gondoskodást és támogatást és külön hálával tartozom legfontosabb támaszomnak, Férjemnek a szeretetéért, türelméért és támogatásáért.

Kutatási támogatások:

GINOP-2.3.2-15-2016-00062, EFOP-3.6.1-16-2016-00008, valamint az ÚNKP-17-4, ÚNKP-17-3 és ÚNKP-17-2. A kutatást továbbá az Emberi Erőforrások Minisztériuma támogatta 20391-3/2018/FEKUSTRAT (Pósa Anikó, Szabó Renáta).

13. IRODALOMJEGYZÉK

1. Hu, F.B., et al., *Age at natural menopause and risk of cardiovascular disease*. Arch Intern Med, 1999. **159**(10): p. 1061-6.
2. Mauvais-Jarvis, F., et al., *Menopausal Hormone Therapy and Type 2 Diabetes Prevention: Evidence, Mechanisms, and Clinical Implications*. Endocr Rev, 2017. **38**(3): p. 173-188.
3. Owen, N., et al., *Too much sitting: the population health science of sedentary behavior*. Exerc Sport Sci Rev, 2010. **38**(3): p. 105-13.
4. Lakka, T.A. and C. Bouchard, *Physical activity, obesity and cardiovascular diseases*. Handb Exp Pharmacol, 2005(170): p. 137-63.
5. Colberg, S.R., et al., *Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary*. Diabetes Care, 2010. **33**(12): p. 2692-6.
6. Butts, J.F., M.H. Belfer, and K.B. Gebke, *Exercise for patients with COPD: an integral yet underutilized intervention*. Phys Sportsmed, 2013. **41**(1): p. 49-57.
7. Tao, L., et al., *Exercise Training Protects Against Acute Myocardial Infarction via Improving Myocardial Energy Metabolism and Mitochondrial Biogenesis*. Cell Physiol Biochem, 2015. **37**(1): p. 162-75.
8. Hamilton, M.T., et al., *Too Little Exercise and Too Much Sitting: Inactivity Physiology and the Need for New Recommendations on Sedentary Behavior*. Curr Cardiovasc Risk Rep, 2008. **2**(4): p. 292-298.
9. Monteiro, R. and I. Azevedo, *Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome*. Mediators Inflamm, 2010. **2010**.
10. You, T., et al., *Effects of exercise training on chronic inflammation in obesity : current evidence and potential mechanisms*. Sports Med, 2013. **43**(4): p. 243-56.
11. Goldspink, D.F., *Ageing and activity: their effects on the functional reserve capacities of the heart and vascular smooth and skeletal muscles*. Ergonomics, 2005. **48**(11-14): p. 1334-51.
12. Starkie, R., et al., *Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans*. FASEB J, 2003. **17**(8): p. 884-6.
13. Mathur, N. and B.K. Pedersen, *Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation*. Mediators Inflamm, 2008. **2008**: p. 109502.
14. Petersen, A.M. and B.K. Pedersen, *The anti-inflammatory effect of exercise*. J Appl Physiol (1985), 2005. **98**(4): p. 1154-62.
15. Lakka, H.M., et al., *The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men*. JAMA, 2002. **288**(21): p. 2709-16.
16. Grundy, S.M., *Metabolic syndrome pandemic*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008. **28**(4): p. 629-36.
17. Bataille, V., et al., *Metabolic syndrome and coronary heart disease risk in a population-based study of middle-aged men from France and Northern Ireland. A nested case-control study from the PRIME cohort*. Diabetes Metab, 2006. **32**(5 Pt 1): p. 475-9.
18. Reaven, G.M., *Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease*. Diabetes, 1988. **37**(12): p. 1595-607.
19. Eckel, R.H., et al., *The metabolic syndrome*. Lancet, 2010. **375**(9710): p. 181-3.
20. Spencer, C.P., I.F. Godsland, and J.C. Stevenson, *Is there a menopausal metabolic syndrome?* Gynecol Endocrinol, 1997. **11**(5): p. 341-55.
21. Byeseda, S.E., et al., *ICAM-1 is necessary for epithelial recruitment of gammadelta T cells and efficient corneal wound healing*. Am J Pathol, 2009. **175**(2): p. 571-9.

22. Sprague, A.H. and R.A. Khalil, *Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease*. Biochem Pharmacol, 2009. **78**(6): p. 539-52.
23. Chakrabarti, S., O. Lekontseva, and S.T. Davidge, *Estrogen is a modulator of vascular inflammation*. IUBMB Life, 2008. **60**(6): p. 376-82.
24. Mauvais-Jarvis, F., D.J. Clegg, and A.L. Hevener, *The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis*. Endocr Rev, 2013. **34**(3): p. 309-38.
25. Posa, A., et al., *Exercise training and calorie restriction influence the metabolic parameters in ovariectomized female rats*. Oxid Med Cell Longev, 2015. **2015**: p. 787063.
26. Townsend, N., et al., *Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016*. Eur Heart J, 2016. **37**(42): p. 3232-3245.
27. Mathers, C.D. and D. Loncar, *Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030*. PLoS Med, 2006. **3**(11): p. e442.
28. Miller, V.M., et al., *Sex-specific risk of cardiovascular disease and cognitive decline: pregnancy and menopause*. Biol Sex Differ, 2013. **4**(1): p. 6.
29. Appt, S.E., et al., *Low dose estrogens inhibit coronary artery atherosclerosis in postmenopausal monkeys*. Maturitas, 2006. **55**(2): p. 187-94.
30. Rosano, G.M., et al., *Menopause and cardiovascular disease: the evidence*. Climacteric, 2007. **10 Suppl 1**: p. 19-24.
31. Rosano, G.M., et al., *Acute administration of 17beta-estradiol reduces endothelin-1 release during pacing-induced ischemia*. Int J Cardiol, 2007. **116**(1): p. 34-9.
32. Rosano, G.M., et al., *Effect of estradiol 17beta upon coronary artery vasoconstrictor response to methylethylergometrine maleate in female menopausal patients*. Int J Cardiol, 2006. **107**(2): p. 254-9.
33. Smith, E.P., et al., *Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man*. N Engl J Med, 1994. **331**(16): p. 1056-61.
34. Green, S., et al., *Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A*. Nature, 1986. **320**(6058): p. 134-9.
35. Gustafsson, J.A., *Estrogen receptor beta--a new dimension in estrogen mechanism of action*. J Endocrinol, 1999. **163**(3): p. 379-83.
36. Mueller, S.O. and K.S. Korach, *Estrogen receptors and endocrine diseases: lessons from estrogen receptor knockout mice*. Curr Opin Pharmacol, 2001. **1**(6): p. 613-9.
37. Kumar, R., et al., *The dynamic structure of the estrogen receptor*. J Amino Acids, 2011. **2011**: p. 812540.
38. Matthews, J. and J.A. Gustafsson, *Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta*. Mol Interv, 2003. **3**(5): p. 281-92.
39. Du, S., et al., *Estrogen receptor-beta ligand treatment modulates dendritic cells in the target organ during autoimmune demyelinating disease*. Eur J Immunol, 2011. **41**(1): p. 140-50.
40. Hill, L., et al., *Differential roles of estrogen receptors alpha and beta in control of B-cell maturation and selection*. Mol Med, 2011. **17**(3-4): p. 211-20.
41. Pierdominici, M., et al., *Estrogen receptor profiles in human peripheral blood lymphocytes*. Immunol Lett, 2010. **132**(1-2): p. 79-85.
42. Skavdahl, M., et al., *Estrogen receptor-beta mediates male-female differences in the development of pressure overload hypertrophy*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005. **288**(2): p. H469-76.
43. Pare, G., et al., *Estrogen receptor-alpha mediates the protective effects of estrogen against vascular injury*. Circ Res, 2002. **90**(10): p. 1087-92.
44. Zhu, Y., et al., *Abnormal vascular function and hypertension in mice deficient in estrogen receptor beta*. Science, 2002. **295**(5554): p. 505-8.
45. Deroo, B.J. and K.S. Korach, *Estrogen receptors and human disease*. J Clin Invest, 2006. **116**(3): p. 561-70.

46. Lang, J.D., Jr., et al., *A randomized clinical trial testing the anti-inflammatory effects of preemptive inhaled nitric oxide in human liver transplantation*. PLoS One, 2014. **9**(2): p. e86053.
47. Iorga, A., et al., *The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy*. Biol Sex Differ, 2017. **8**(1): p. 33.
48. Nabulsi, A.A., et al., *Association of hormone-replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators*. N Engl J Med, 1993. **328**(15): p. 1069-75.
49. Brown, C.S., *Depression and anxiety disorders*. Obstet Gynecol Clin North Am, 2001. **28**(2): p. 241-68.
50. Sulak, P.J., *The perimenopause: a critical time in a woman's life*. Int J Fertil Menopausal Stud, 1996. **41**(2): p. 85-9.
51. Soares, C.N. and L.S. Cohen, *The perimenopause, depressive disorders, and hormonal variability*. Sao Paulo Med J, 2001. **119**(2): p. 78-83.
52. Lizcano, F. and G. Guzman, *Estrogen Deficiency and the Origin of Obesity during Menopause*. Biomed Res Int, 2014. **2014**: p. 757461.
53. Wang, D., et al., *Endothelial dysfunction and enhanced contractility in microvessels from ovariectomized rats: roles of oxidative stress and perivascular adipose tissue*. Hypertension, 2014. **63**(5): p. 1063-9.
54. Posa, A., et al., *Cardioprotective Effect of Selective Estrogen Receptor Modulator Raloxifene Are Mediated by Heme Oxygenase in Estrogen-Deficient Rat*. Oxid Med Cell Longev, 2017. **2017**: p. 2176749.
55. Posa, A., I. Pavo, and C. Varga, *Heme oxygenase contributes to estradiol and raloxifene-induced vasorelaxation in estrogen deficiency*. Int J Cardiol, 2015. **189**: p. 252-4.
56. Chiu, F.L. and J.K. Lin, *Tomatidine inhibits iNOS and COX-2 through suppression of NF-kappaB and JNK pathways in LPS-stimulated mouse macrophages*. FEBS Lett, 2008. **582**(16): p. 2407-12.
57. Jagtap, P., et al., *Novel phenanthridinone inhibitors of poly (adenosine 5'-diphosphate-ribose) synthetase: potent cytoprotective and antishock agents*. Crit Care Med, 2002. **30**(5): p. 1071-82.
58. Kaul, N., et al., *Free radicals and the heart*. J Pharmacol Toxicol Methods, 1993. **30**(2): p. 55-67.
59. Kim, J.H., et al., *The non-provitamin A carotenoid, lutein, inhibits NF-kappaB-dependent gene expression through redox-based regulation of the phosphatidylinositol 3-kinase/PTEN/Akt and NF-kappaB-inducing kinase pathways: role of H(2)O(2) in NF-kappaB activation*. Free Radic Biol Med, 2008. **45**(6): p. 885-96.
60. Jansen, T. and A. Daiber, *Direct Antioxidant Properties of Bilirubin and Biliverdin. Is there a Role for Biliverdin Reductase?* Front Pharmacol, 2012. **3**: p. 30.
61. Wu, Y., et al., *Low serum total bilirubin concentrations are associated with increased prevalence of metabolic syndrome in Chinese*. J Diabetes, 2011. **3**(3): p. 217-24.
62. Morse, D. and A.M. Choi, *Heme oxygenase-1: from bench to bedside*. Am J Respir Crit Care Med, 2005. **172**(6): p. 660-70.
63. Abraham, N.G. and A. Kappas, *Pharmacological and clinical aspects of heme oxygenase*. Pharmacol Rev, 2008. **60**(1): p. 79-127.
64. Alcaraz, M.J., P. Fernandez, and M.I. Guillen, *Anti-inflammatory actions of the heme oxygenase-1 pathway*. Curr Pharm Des, 2003. **9**(30): p. 2541-51.
65. Zhu, J., et al., *Total serum bilirubin level in umbilical cord blood and respiratory distress syndrome in very low birth weight infants*. J Perinat Med, 2011. **40**(1): p. 91-5.
66. Abraham, N.G. and A. Kappas, *Heme oxygenase and the cardiovascular-renal system*. Free Radic Biol Med, 2005. **39**(1): p. 1-25.
67. Posa, A., et al., *Sexual dimorphism of cardiovascular ischemia susceptibility is mediated by heme oxygenase*. Oxid Med Cell Longev, 2013. **2013**: p. 521563.

68. Zhai, J., et al., *Effects of Coenzyme Q10 on Markers of Inflammation: A Systematic Review and Meta-Analysis*. PLoS One, 2017. **12**(1): p. e0170172.
69. Introna, M. and A. Mantovani, *Early activation signals in endothelial cells. Stimulation by cytokines*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997. **17**(3): p. 423-8.
70. Gruys, E., et al., *Acute phase reaction and acute phase proteins*. J Zhejiang Univ Sci B, 2005. **6**(11): p. 1045-56.
71. Kleinbongard, P., G. Heusch, and R. Schulz, *TNFalpha in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure*. Pharmacol Ther, 2010. **127**(3): p. 295-314.
72. Ait-Oufella, H., et al., *Recent advances on the role of cytokines in atherosclerosis*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011. **31**(5): p. 969-79.
73. Tedgui, A. and Z. Mallat, *Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways*. Physiol Rev, 2006. **86**(2): p. 515-81.
74. Maddahi, A., et al., *The role of tumor necrosis factor-alpha and TNF-alpha receptors in cerebral arteries following cerebral ischemia in rat*. J Neuroinflammation, 2011. **8**: p. 107.
75. Sun, S.C., J.H. Chang, and J. Jin, *Regulation of nuclear factor-kappaB in autoimmunity*. Trends Immunol, 2013. **34**(6): p. 282-9.
76. Baldwin, A.S., *Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF-kappaB*. J Clin Invest, 2001. **107**(3): p. 241-6.
77. Tartaglia, L.A., et al., *The two different receptors for tumor necrosis factor mediate distinct cellular responses*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. **88**(20): p. 9292-6.
78. Zhang, H. and S.C. Sun, *NF-kappaB in inflammation and renal diseases*. Cell Biosci, 2015. **5**: p. 63.
79. Caamano, J. and C.A. Hunter, *NF-kappaB family of transcription factors: central regulators of innate and adaptive immune functions*. Clin Microbiol Rev, 2002. **15**(3): p. 414-29.
80. Mitchell, S., J. Vargas, and A. Hoffmann, *Signaling via the NFkappaB system*. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med, 2016. **8**(3): p. 227-41.
81. Hurst, S.M., et al., *IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation*. Immunity, 2001. **14**(6): p. 705-14.
82. Rotter, V., I. Nagaev, and U. Smith, *Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects*. J Biol Chem, 2003. **278**(46): p. 45777-84.
83. Wang, C., et al., *Positive association between high-sensitivity C-reactive protein and incidence of type 2 diabetes mellitus in Japanese workers: 6-year follow-up*. Diabetes Metab Res Rev, 2013. **29**(5): p. 398-405.
84. Huber, S.A., et al., *Interleukin-6 exacerbates early atherosclerosis in mice*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999. **19**(10): p. 2364-7.
85. Hartman, J. and W.H. Frishman, *Inflammation and atherosclerosis: a review of the role of interleukin-6 in the development of atherosclerosis and the potential for targeted drug therapy*. Cardiol Rev, 2014. **22**(3): p. 147-51.
86. Malle, E., et al., *Myeloperoxidase: a target for new drug development?* Br J Pharmacol, 2007. **152**(6): p. 838-54.
87. Baldus, S., et al., *Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes*. Circulation, 2003. **108**(12): p. 1440-5.
88. Brennan, M.L., et al., *Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain*. N Engl J Med, 2003. **349**(17): p. 1595-604.
89. Roman, R.M., A.E. Wendland, and C.A. Polanczyk, *Myeloperoxidase and coronary arterial disease: from research to clinical practice*. Arq Bras Cardiol, 2008. **91**(1): p. e11-9.

90. Daugherty, A., et al., *Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions*. J Clin Invest, 1994. **94**(1): p. 437-44.
91. Askari, A.T., et al., *Myeloperoxidase and plasminogen activator inhibitor 1 play a central role in ventricular remodeling after myocardial infarction*. J Exp Med, 2003. **197**(5): p. 615-24.
92. Klebanoff, S.J., et al., *Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms*. J Leukoc Biol, 2013. **93**(2): p. 185-98.
93. Chow, A.K., J. Cena, and R. Schulz, *Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature*. Br J Pharmacol, 2007. **152**(2): p. 189-205.
94. Cai, W., et al., *Altered balance between extracellular proteolysis and antiproteolysis is associated with adaptive coronary arteriogenesis*. J Mol Cell Cardiol, 2000. **32**(6): p. 997-1011.
95. Van Lint, P. and C. Libert, *Matrix metalloproteinase-8: cleavage can be decisive*. Cytokine Growth Factor Rev, 2006. **17**(4): p. 217-23.
96. Dorman, G., et al., *Matrix metalloproteinase inhibitors: a critical appraisal of design principles and proposed therapeutic utility*. Drugs, 2010. **70**(8): p. 949-64.
97. Ali, M.A. and R. Schulz, *Activation of MMP-2 as a key event in oxidative stress injury to the heart*. Front Biosci (Landmark Ed), 2009. **14**: p. 699-716.
98. Spinale, F.G., *Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function*. Physiol Rev, 2007. **87**(4): p. 1285-342.
99. Brew, K. and H. Nagase, *The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity*. Biochim Biophys Acta, 2010. **1803**(1): p. 55-71.
100. Schulz, R., *Intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in cardiac disease: rationale and therapeutic approaches*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2007. **47**: p. 211-42.
101. Nilsson, L., et al., *Early measurements of plasma matrix metalloproteinase-2 predict infarct size and ventricular dysfunction in ST-elevation myocardial infarction*. Heart, 2012. **98**(1): p. 31-6.
102. Grandas, O.H., et al., *Regulation of vascular smooth muscle cell expression and function of matrix metalloproteinases is mediated by estrogen and progesterone exposure*. J Vasc Surg, 2009. **49**(1): p. 185-91.
103. Aoyagi, T., T.A. Koshimizu, and A. Tanoue, *Vasopressin regulation of blood pressure and volume: findings from V1a receptor-deficient mice*. Kidney Int, 2009. **76**(10): p. 1035-9.
104. Szalai, Z., et al., *Anti-inflammatory effect of recreational exercise in TNBS-induced colitis in rats: role of NOS/HO/MPO system*. Oxid Med Cell Longev, 2014. **2014**: p. 925981.
105. Posa, A., et al., *Cardioprotective effects of voluntary exercise in a rat model: role of matrix metalloproteinase-2*. Oxid Med Cell Longev, 2015. **2015**: p. 876805.
106. Nemcsik, J., et al., *Raloxifene lowers ischaemia susceptibility by increasing nitric oxide generation in the heart of ovariectomized rats in vivo*. Eur J Pharmacol, 2004. **495**(2-3): p. 179-84.
107. Kupai, K., et al., *Cholesterol diet-induced hyperlipidemia impairs the cardioprotective effect of postconditioning: role of peroxynitrite*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **297**(5): p. H1729-35.
108. Szabo, R., et al., *Role of Exercise-Induced Cardiac Remodeling in Ovariectomized Female Rats*. Oxid Med Cell Longev, 2018. **2018**: p. 6709742.
109. Posa, A., et al., *Endogenous Estrogen-Mediated Heme Oxygenase Regulation in Experimental Menopause*. Oxid Med Cell Longev, 2015. **2015**: p. 429713.
110. Saydah, S., et al., *Trends in cardiovascular disease risk factors by obesity level in adults in the United States, NHANES 1999-2010*. Obesity (Silver Spring), 2014. **22**(8): p. 1888-95.

111. Prospective Studies, C., et al., *Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies*. Lancet, 2009. **373**(9669): p. 1083-96.
112. Wang, Y., U. Wisloff, and O.J. Kemi, *Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy*. Physiol Res, 2010. **59**(5): p. 633-44.
113. Konhilas, J.P., et al., *Sex modifies exercise and cardiac adaptation in mice*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004. **287**(6): p. H2768-76.
114. Hamilton, K.L., et al., *MnSOD antisense treatment and exercise-induced protection against arrhythmias*. Free Radic Biol Med, 2004. **37**(9): p. 1360-8.
115. Hamilton, K.L., et al., *Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion*. Free Radic Biol Med, 2003. **34**(7): p. 800-9.
116. Rullman, E., et al., *Endurance exercise activates matrix metalloproteinases in human skeletal muscle*. J Appl Physiol (1985), 2009. **106**(3): p. 804-12.
117. Bellafiore, M., et al., *The involvement of MMP-2 and MMP-9 in heart exercise-related angiogenesis*. J Transl Med, 2013. **11**: p. 283.
118. Thorp, E.B., *Contrasting Inflammation Resolution during Atherosclerosis and Post Myocardial Infarction at the Level of Monocyte/Macrophage Phagocytic Clearance*. Front Immunol, 2012. **3**: p. 39.
119. Niessner, A., et al., *Endurance training reduces circulating inflammatory markers in persons at risk of coronary events: impact on plaque stabilization? Atherosclerosis*, 2006. **186**(1): p. 160-5.
120. Kwak, H.B., *Aging, exercise, and extracellular matrix in the heart*. J Exerc Rehabil, 2013. **9**(3): p. 338-47.
121. Lucotti, P., et al., *Aerobic and resistance training effects compared to aerobic training alone in obese type 2 diabetic patients on diet treatment*. Diabetes Res Clin Pract, 2011. **94**(3): p. 395-403.
122. Cheung, P.Y., et al., *Matrix metalloproteinase-2 contributes to ischemia-reperfusion injury in the heart*. Circulation, 2000. **101**(15): p. 1833-9.
123. Lalu, M.M., et al., *Preconditioning decreases ischemia/reperfusion-induced release and activation of matrix metalloproteinase-2*. Biochem Biophys Res Commun, 2002. **296**(4): p. 937-41.
124. Gielen, S., G. Schuler, and V. Adams, *Cardiovascular effects of exercise training: molecular mechanisms*. Circulation, 2010. **122**(12): p. 1221-38.
125. Reeve, J.L., et al., *Don't lose heart--therapeutic value of apoptosis prevention in the treatment of cardiovascular disease*. J Cell Mol Med, 2005. **9**(3): p. 609-22.
126. Doustar, Y., et al., *Role of four-week resistance exercise in preserving the heart against ischaemia-reperfusion-induced injury*. Cardiovasc J Afr, 2012. **23**(8): p. 451-5.
127. Giricz, Z., et al., *Hyperlipidemia attenuates the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning: role of matrix metalloproteinase-2 inhibition*. J Pharmacol Exp Ther, 2006. **316**(1): p. 154-61.
128. Thorp, D.B., et al., *Exercise training improves myocardial tolerance to ischemia in male but not in female rats*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2007. **293**(1): p. R363-71.
129. Sun, M.W., et al., *Effects of different levels of exercise volume on endothelium-dependent vasodilation: roles of nitric oxide synthase and heme oxygenase*. Hypertens Res, 2008. **31**(4): p. 805-16.
130. Hafstad, A.D., et al., *High- and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity*. Diabetes, 2013. **62**(7): p. 2287-94.
131. Roque, F.R., et al., *Moderate exercise training promotes adaptations in coronary blood flow and adenosine production in normotensive rats*. Clinics (Sao Paulo), 2011. **66**(12): p. 2105-11.

132. Caponi, P.W., et al., *Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes*. Clinics (Sao Paulo), 2013. **68**(7): p. 1010-7.
133. Leguisamo, N.M., et al., *GLUT4 content decreases along with insulin resistance and high levels of inflammatory markers in rats with metabolic syndrome*. Cardiovasc Diabetol, 2012. **11**: p. 100.
134. Dhaliwal, S.S., T.A. Welborn, and P.A. Howat, *Recreational physical activity as an independent predictor of multivariable cardiovascular disease risk*. PLoS One, 2013. **8**(12): p. e83435.
135. De Melo, V.U., et al., *Ovarian Hormone Deprivation Reduces Oxytocin Expression in Paraventricular Nucleus Preautonomic Neurons and Correlates with Baroreflex Impairment in Rats*. Front Physiol, 2016. **7**: p. 461.
136. Nicolai, A., et al., *Heme oxygenase-1 induction remodels adipose tissue and improves insulin sensitivity in obesity-induced diabetic rats*. Hypertension, 2009. **53**(3): p. 508-15.
137. Wang, Z. and T. Nakayama, *Inflammation, a link between obesity and cardiovascular disease*. Mediators Inflamm, 2010. **2010**: p. 535918.
138. Sacerdoti, D., et al., *Heme oxygenase overexpression attenuates glucose-mediated oxidative stress in quiescent cell phase: linking heme to hyperglycemia complications*. Curr Neurovasc Res, 2005. **2**(2): p. 103-11.
139. Ryter, S.W. and A.M. Choi, *Carbon monoxide: present and future indications for a medical gas*. Korean J Intern Med, 2013. **28**(2): p. 123-40.
140. Karalis, K.P., et al., *Mechanisms of obesity and related pathology: linking immune responses to metabolic stress*. FEBS J, 2009. **276**(20): p. 5747-54.
141. Mathieu, P., I. Lemieux, and J.P. Despres, *Obesity, inflammation, and cardiovascular risk*. Clin Pharmacol Ther, 2010. **87**(4): p. 407-16.
142. Li, M., et al., *Treatment of obese diabetic mice with a heme oxygenase inducer reduces visceral and subcutaneous adiposity, increases adiponectin levels, and improves insulin sensitivity and glucose tolerance*. Diabetes, 2008. **57**(6): p. 1526-35.
143. Ludgero-Correia, A., Jr., et al., *Effects of high-fat diet on plasma lipids, adiposity, and inflammatory markers in ovariectomized C57BL/6 mice*. Nutrition, 2012. **28**(3): p. 316-23.
144. Tabit, C.E., et al., *Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications*. Rev Endocr Metab Disord, 2010. **11**(1): p. 61-74.
145. Jun, J.K., et al., *Moderate intensity exercise inhibits macrophage infiltration and attenuates adipocyte inflammation in ovariectomized rats*. J Exerc Nutrition Biochem, 2014. **18**(1): p. 119-27.
146. Hemati, F., et al., *Effects of Complementary Creatine Monohydrate and Physical Training on Inflammatory and Endothelial Dysfunction Markers Among Heart Failure Patients*. Asian J Sports Med, 2016. **7**(1): p. e28578.
147. Loria, V., et al., *Myeloperoxidase: a new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes*. Mediators Inflamm, 2008. **2008**: p. 135625.
148. La Rocca, G., et al., *Oxidative stress induces myeloperoxidase expression in endocardial endothelial cells from patients with chronic heart failure*. Basic Res Cardiol, 2009. **104**(3): p. 307-20.
149. Kumral, Z.N., et al., *Regular exercise alleviates renovascular hypertension-induced cardiac/endothelial dysfunction and oxidative injury in rats*. J Physiol Pharmacol, 2016. **67**(1): p. 45-55.
150. Vanella, L., et al., *HO-1 expression increases mesenchymal stem cell-derived osteoblasts but decreases adipocyte lineage*. Bone, 2010. **46**(1): p. 236-43.
151. Quan, S., et al., *Regulation of human heme oxygenase in endothelial cells by using sense and antisense retroviral constructs*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(21): p. 12203-8.

152. Baynard, T., et al., *Exercise training effects on inflammatory gene expression in white adipose tissue of young mice*. Mediators Inflamm, 2012. **2012**: p. 767953.
153. Linden, M.A., et al., *Moderate exercise training provides modest protection against adipose tissue inflammatory gene expression in response to high-fat feeding*. Physiol Rep, 2014. **2**(7).

14. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

Veszélka Médea, MTMT azonosító: 10053090

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

Médea Veszélka*, Csaba Varga*, Krisztina Kupai, Denise Börzsei, Zoltán Deim, Renáta Szabó, Szilvia Török, Dániel Priksz, Rudolf Gesztelyi, Béla Juhász, Zsolt Radák, and Anikó Pósa.

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 and Medicine, 2018

****megosztott elsőszerzőség***

IF: 1,99

Pósa A, Szabó R, Kupai K, Baráth Z, Szalai Z, Csonka A, **Veszélka M.** Gyöngyösi M, Radák Z, Ménesi R, Pávó I, Magyariné Berkó A, Varga C:

Cardioprotective effects of voluntary exercise in a rat model: role of matrix metalloproteinase-2, Oxid Med Cell Longev, 2015;2015:876805., doi: 10.1155/2015/876805.

IF: 4,593

Egyéb közlemények:

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

Al-awar Amin, Kupai Krisztina, Veszelka Médea, Szűcs Gergő, Attieh Zouhair, Murlasits Zsolt, Török Szilvia, Pósa Anikó, Varga Csaba

Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models

JOURNAL OF DIABETES RESEARCH 2016: Paper 9051426. 12 p. (2016)

IF: 2.717

Pósa A, Szabó R, Csonka A, Veszelka M, Magyariné Berkó A, Baráth Z, Ménesi R, Pávó I, Gyöngyösi M, László F, Kupai K, Varga C:

Endogenous estrogen-mediated heme oxygenase regulation in experimental menopause, Oxid Med Cell Longev, 2015;2015:429713., doi: 10.1155/2015/429713.

IF: 4,593

Kupai K, Szabó R, Veszelka M, Awar AA, Török S, Csonka A, Baráth Z, Pósa A, Varga C: ***Consequences of exercising on ischemia-reperfusion injury in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rat hearts: role of the HO/NOS system.***, *Diabetol Metab Syndr*. 2015 Oct 6;7:85. doi: 10.1186/s13098-015-0080-x.

IF: 2.347,

Pósa A, Szabó R, Kupai K, Csonka A, Szalai Z, Veszelka M, Török S, Daruka L, Varga C: *Exercise training and calorie restriction influence the metabolic parameters in ovariectomized female rats*, *Oxid Med Cell Longev*, 2015;2015:787063., doi: 10.1155/2015/787063.

IF: 4,593

Zita Szalai, Krisztina Kupai, Médea Veszelka, Anikó Pósa, Szilvia Török, Anikó Magyariné Berkó, Zoltán Baráth, Ferenc A László, Csaba Varga

Novel features of the rat model of inflammatory bowel disease based on 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid - induced acute colitis

ACTA BIOLOGICA SZEGEDIENSIS 58:(2) pp. 127-132. (2014)

IF: 0.66