

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát dizertační práce:



Léčba plicní hypertenze ovlivněna metabolismem cyklického guanosinmonofosfátu

Treatment of pulmonary hypertension affect the metabolism of cyclic guanosine monophosphate

MUDr Hikmet Al-Hiti

2011

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: Prof. MUDr Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště: Klinika kardiologie, IKEM, Praha

Školitel: MUDr Jiří Kettner, CSc

Konzultant (byl-li): MUDr Vojtěch Melenovský, CSc

Obsah

<i>Abstrakt (český)</i>	4
<i>Abstract (anglický)</i>	4

Kapitoly:

1. Úvod – plicní hypertenze	6
- léčba plicní hypertenze.....	7
2. Hypotézy a cíle práce – klinická část	7
3. Metodika.....	8
4. Výsledky.....	8
5. Diskuse.....	9
6. Hypotéza a cíl práce – experimentální část.....	11
7. Metodika.....	11
8. Výsledky.....	13
9. Diskuse.....	13
10. Klinická implikace.....	15
11. Použitá literatura.....	16
12. Obrázková příloha.....	20

Abstrakt

Chronické poškození plicních cév vede k plicní hypertenzi (PH). Různé formy PH jsou poměrně časté a jsou spojeny se značnou morbiditou a mortalitou. Léčba PH je nejúspěšnější, jestliže se podaří identifikovat a odstranit její příčinu ještě před ireverzibilním poškozením plicního cévního řečiště. U nemocných, u kterých odstranění vyvolávající příčiny není možné nebo u kterých je příčina neznámá, je terapie zaměřena na snížení plicního cévního odporu a zlepšení kardiální a cirkulační odpovědi na tlakové přetížení pravé komory srdeční. Jednou z možností léčby PH je ovlivnění metabolismu cyklického guanosinmonofosfátu (GMP), který je druhým poslem oxidu dusnatého a navozuje cévní vazodilataci. Cyklický GMP je degradován fosfodiesterázami (PDE 5).

V klinické části jsme testovali hypotézou, zda akutní inhibice PDE5A sildenafilem poskytne selektivnější plicní vazodilataci než podání vysokých dávek prostaglandinu E₁ (PGE₁). Studie prokázala, že vazodilatační účinky sildenafilu jsou u plicního oběhu zřetelnější než u oběhu systémového a že sildenafil měl vyšší schopnost odhalit reverzibilní prekapilární komponentu PH z důvodu pokročilého chronického srdečního selhání než PGE₁.

Cílem našeho sledování v experimentální práci bylo ověřit hypotézu, zda dlouhodobé podávání kombinace L-argininu, který je prekurzorem oxidu dusnatého, a sildenafilu přinese aditivní efekt na zlepšení hemodynamických parametrů v malém oběhu, snížení remodelace plicních arteriol a hypertrofie pravé komory srdeční u zvířecího modelu hypoxické PH. Naše práce prokázala příznivý efekt kombinovaného podávání L-argininu a sildenafilu, došlo k poklesu tlaků v arteria pulmonalis za současného ovlivnění remodelace periferních plicních cév. Kombinované podávání L-argininu a sildenafilu bylo výhodnější než samotné podávání pouze sildenafilu či L-argininu, protože došlo k potenciaci intracelulárního efektu cyklického GMP díky zvýšené tvorbě a inhibici jeho odbourávání.

Abstract

Chronic damage to pulmonary vessels leads to pulmonary hypertension (PH). Different forms of PH are quite frequent and are associated with significant morbidity and mortality. The treatment of PH is most successful, if its cause can be identified and removed before irreversible damage to the pulmonary vascular bed occurs. For patients, in whom the elimination of the underlying cause is not possible or where the cause is unknown, the treatment is aimed at reduction of pulmonary vascular resistance and improvement of cardiac and circulatory response to pressure overload of the right ventricle. One option for the PH treatment is modification of

metabolism of cyclic guanosine monophosphate (GMP), which is the second messenger of nitric oxide and induces vascular vasodilation. Cyclic GMP is degraded by phosphodiesterases (PDE 5).

In the clinical part, we tested the hypothesis that acute inhibition of PDE5 by sildenafil provides more selective pulmonary vasodilation than high doses of prostaglandin E1 (PGE1). The study showed that the vasodilator effects of sildenafil on pulmonary circulation is more pronounced than in the systemic circulation and that sildenafil had a greater ability to detect reversible component precapillary PH due to advanced chronic heart failure than PGE1.

The aim of our experimental work was to test the hypothesis that chronic administration of a combination of L-arginine, which is a precursor of nitric oxide, and sildenafil brings an additive effect on hemodynamic parameters in a pulmonary circulation, remodeling of pulmonary arterioles and right ventricular hypertrophy in animal models of hypoxic PH. Our study demonstrated a beneficial effect of combined administration of L-arginine and sildenafil as they lowered pulmonary artery pressures and decreased the peripheral pulmonary vascular remodeling. Combined administration of L-arginine, and sildenafil was better than only the use of sildenafil alone or L-arginine, because there was additional effect of intracellular cyclic GMP due to increased production and inhibition of its degradation.

Úvod

Plicní hypertenze je syndrom zvýšeného krevního tlaku v plicnici, zvýšeného plicního cévního odporu, anebo obou (1,2). Idiopatická plicní arteriální hypertenze (vyvolávající příčina je neznáma) je relativně vzácné onemocnění s velmi závažnou prognózou. Mnohem častější je plicní hypertenze důsledkem jiného onemocnění jako např. kardiovaskulárního či plicního onemocnění, jehož prognózu dále zhoršuje.

Poslední WHO sympóziium z roce 2008, klasifikuje plicní hypertenzi do pěti skupin : plicní arteriální hypertenzi, plicní hypertenzi při srdečních onemocněních, plicní hypertenzi při respiračních onemocněních, chronickou tromboembolickou plicní hypertenzi a plicní hypertenzi z jiných příčin. Plicní hypertenze je definována jako zvýšení středního tlaku v plicnici ≥ 25 mm Hg v klidu (3,4)

V současné době nejvíce poznatků o vzniku plicní vazokonstrikce u hypoxie, která se považuje za nejdůležitější funkční změnu při vzniku plicní hypertenze (5). Tlaková odezva plicních cév na hypoxii má dvě komponenty akutní a chronickou. Akutní fáze zahrnuje vazokonstrikci především malých plicních arteriol, která začíná s minutou nástupu hypoxie. Chronická fáze zahrnuje nejen vazokonstrikci, ale také morfologické změny v malých artériích.

Poškození stěny periferních plicních cév vede k vazokonstrikci, a později k muskularizaci plicních tepének až do periférie.

Klíčovou úlohu při vasodilataci má endotel. Endotelová buňka je stimulována řadou různých podmětů k produkci endotelového relaxačního faktoru (Endothelium-Derived Relaxing Factor, EDRF), látky, která byla identifikována jako oxid dusnatý. Oxid dusnatý je syntetizován z L-argininu reakcí katalyzovanou NO syntázou (NOS). Jsou známy tři izoformy tohoto enzymu- NOS 1, která se nachází v nervovém systému, NOS 2 vyskytující se v makrofázích a jiných buňkách imunitního systému a NOS 3 je přítomen v endotelových buňkách. NOS 1 a NOS 3 jsou aktivovány látkami, které zvyšují intracelulární koncentraci Ca^{2+} , včetně vazodilatačních látek acetylcholinu a bradykininu. NOS 2 v imunitních buňkách není aktivována Ca^{2+} , ale cytokiny. Oxid dusnatý, tvořený v endotelu, difunduje do hladkých svalových buněk, kde aktivuje rozpustnou guanylátcyklastu, ta vytváří cyklický GMP, který vede k relaxaci hladké cévní svaloviny (graf 1). Oxid dusnatý je inaktivován hemoglobinem (6).

Chronické poškození plicních cév vede k plicní hypertenzi (7). Přestože různé formy plicní hypertenze jsou poměrně časté a jsou spojeny se značnou morbiditou a mortalitou, mechanismus vzniku této poruchy není zcela jasný. Proto jsou i možnosti prevence a léčby plicní hypertenze omezené.

Léčba plicní hypertenze

Léčba plicní hypertenze je nejúspěšnější, jestliže se podaří identifikovat a odstranit její příčinu ještě před ireverzibilním poškozením plicního cévního řečiště. U nemocných, u kterých odstranění vyvolávající příčiny není možné nebo u kterých je příčina neznámá (idiopatická plicní arteriální hypertenze), je terapie zaměřena na snížení plicního cévního odporu a zlepšení kardiální a cirkulační odpovědi na tlakové přetížení pravé komory srdeční. V současné době můžeme ovlivňovat plicní hypertenzi třemi patofyziologickými cestami.

Klinická část - plicní hypertenze u chronického srdečního selhání.

U většiny pacientů s pokročilým srdečním selháním dochází k rozvoji prekapilární plicní hypertenze, která negativně ovlivňuje funkci pravé komory srdeční (8), toleranci zátěže (9) a prognózu (10). Ke zvýšení plicní vaskulární rezistence (PVR) může dojít z důvodu strukturálních změn plicního krevního řečiště, které vedou ke vzniku stálé, nevratné složky PVR. Častěji však ke zvýšení PVR dochází v důsledku vazomotorické nerovnováhy v oblasti plicního řečiště, která je částečně vratná hemodynamickou objemovou dekompresí (unloading) nebo podáním vazodilatancí. Zvýšení PVR a jeho reverzibilita podáním vazodilatancí jsou klíčovými parametry pro léčbu pacientů s pokročilým srdečním selháním (11,12). Zvýšená PVR, obzvláště pokud není reverzibilní pomocí vazodilatancí, je prediktorem špatného výsledku transplantace srdce, a to především z důvodu vysokého rizika pooperačního selhání pravé komory, která není schopná se přizpůsobit náhle vysokým tlakům v malém oběhu, tedy vysoké rezistenci (13).

Snížená citlivost na cyklický GMP-dependentní endogenní vasodilatátory je stále častěji považována za rozhodující mechanismus vedoucí ke zvýšení PVR (14). Intracelulární cyklický GMP je katabolizován cyklickým GMP-selektivní fosfodiesterázou 5A (PDE5A), enzymem, který je ve velké míře zastoupen v plicní tkáni (15). Inhibitory PDE5A, jako je sildenafil, indukují u pacientů s plicní arteriální hypertenzí výraznou plicní vasodilatační odpověď. U pacientů a experimentálních zvířat se srdečním selháním je aktivita PDE5A v plicní tkáni ještě vyšší (16) a plicní oběh může proto být k inhibici PDE5 ještě citlivější než cirkulace systémová. Cílem studie bylo porovnat hemodynamické parametry respektive účinnost sildenafilu a standardního vazodilatancia, běžně užívaného u pacientů s chronickým srdečním selháním a zvýšenou PVR. Naší hypotézou bylo, že akutní inhibice PDE5A sildenafilem poskytne selektivnější plicní vasodilataci než podání vysokých dávek prostaglandinu E₁ (PGE₁).

Metoda

Do sledovaného souboru byli zařazeni pacienti, u nichž byla zvažována transplantace srdce, a kteří měli závažnou prekapilární plicní hypertenzi a bylo u nich indikováno testování PVR reverzibility (transpulmonární gradient >15 mmHg nebo PVR > 3 WU při normovolemii). Katetrizace plicnice byla provedena cestou pravé vena jugularis interna pomocí Swan-Ganzova balónkového katétru velikosti F7 (Corodyn, Braun AG, Germany) a lůžkového monitoru s monitorací hemodynamiky (Solar 8000, GE, USA). V průběhu procedury dýchali pacienti vzduch v místnosti a nikdo z nich nebyl hypoxemický (saturace kyslíkem měřená oxymetricky $< 90\%$). Srdeční výdej byl měřen termodiluční metodou, přičemž byla zprůměrována alespoň 3 měření. Systémový krevní tlak byl měřen oscilometricky s manžetou umístěnou na levé ruce. Hemodynamické parametry byly měřeny po 20 minutách odpočinku (výchozí stav) a po 5 minutách kontinuální infuze PGE₁ (alprostadil-Alprostan, Léčiva, Česká republika, rychlost infuze $200 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) do centrální žíly. Po 30 minutovém období k vymytí alprostadilu byla podána perorální dávka sildenafilu (Revatio, Pfizer, USA, dávka 40 mg) a měření byla po 60 minutách opakována. Plicní cévní rezistence (PVR) byla vypočítána jako transpulmonální gradient (rozdíl středního tlaku v plicnici a středního tlaku v zaklínění) dělený srdečním výdejem a je udáván ve Woodových jednotkách (WU). Plicní selektivita byla kvantifikována jako poměr plicní vaskulární rezistence k systémové vaskulární rezistenci (PVR/SVR). Hodnoty vhodné pro přijetí transplantátu byly definovány jako transpulmonální gradient ≤ 15 mmHg a PVR ≤ 3 WU. Všechny hodnoty jsou prezentovány jako průměr \pm SD. Změny vyvolané použitým léčivem oproti výchozímu stavu byly porovnány pomocí párového t-testu. Výsledky byly považovány za signifikantní, pokud byla hodnota $p < 0,05$.

Výsledky

Do studie bylo zařazeno 13 pacientů s pokročilým symptomatickým srdečním selháním, převážně v důsledku onemocnění koronárních tepen (CAD). Klinické údaje popisující výběrový soubor jsou uvedeny v tabulce 1. Diabetes mellitus mělo v anamnéze 46% pacientů, 23% předchozí chirurgickou léčbu srdečního onemocnění a 54% mělo implantován kardioverter-defibrilátor. Jeden pacient trpěl permanentní fibrilací síní. Všichni (100%) pacienti užívali diuretika a betablokátory, 84% inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu nebo antagonisty receptorů pro angiotenzin, 77% antagonisty aldosteronových receptorů, 46% statiny, 23% digoxin a 31% nízké dávky dobutaminu. Hemodynamické parametry ve výchozím období a po podání obou léků jsou shrnuty v tabulce 2. Všichni pacienti měli významnou prekapilární hypertenzi a byli normovolemičtí. Výchozí PVR pozitivně korelovala se systémovou vaskulární rezistencí ($r=0.86$) a negativně se srdečním výdejem ($r = -0.67$).

Podání prostaglandinu E₁ vedlo k významnému snížení PVR (-28%) a systémové vaskulární rezistence (-30%), poklesu středního tlaku v plicnici a tlaku v zaklínění při současném zvýšení srdečního indexu a tepového objemu. Poměr pulmonální vaskulární rezistence k systémové (PVR/SVR) se po podání infuze PGE₁ nezměnil (z 0,27±0,06 na 0,28±0,08, p=0,6), což naznačuje, že se PVR snížila přímo úměrně ke snížení SVR. Po infuzi PGE₁ dosáhlo 31% pacientů hodnot transpulmonálního gradientu a PVR, které jsou akceptovatelné pro zařazení na čekací listinu kandidáta transplantace srdce. Všichni pacienti tolerovali celou dávku PGE₁.

Podání 40 mg sildenafilu vedlo ke snížení PVR (-49%), transpulmonálního gradientu (-36%), středního tlaku v plicnici, tlaku v zaklínění a poklesu systémové vaskulární rezistence (-26%) a ke zvýšení srdečního indexu a tepového objemu. Poměr PVR/SVR se snížil o 32% (z 0,27±0,06 na 0,19±0,08, p=0,0008, obrázek 2), což naznačuje, že snížení PVR navozené sildenafilem bylo neúměrně vyšší než snížení SVR. 69% pacientů dosáhlo hodnot transpulmonálního gradientu a PVR akceptovatelných z hlediska zařazení na čekací listinu transplantace srdce.

Hodnoty PVR a transpulmonálního gradientu u jednotlivých pacientů po obou typech léčby jsou shrnuty v obrázku 1. (vlevo). Jediná osoba, u které nedošlo ke snížení PVR po sildenafilu, měla také minimální odpověď na PGE₁. U tohoto pacienta byla snaha snížit PVR biventrikulární mechanickou srdeční podporou, ale pacient bohužel zemřel na krvácení a pooperační pravostranné selhání krátce po transplantaci. Snížení PVR nebo transpulmonálního gradientu po sildenafilu poměrně korelovalo se změnami vyvolanými PGE₁, tzn. že pacienti, kteří dostatečně nereagovali na léčbu PGE₁ reagovali špatně i na léčbu sildenafilem (obrázek 1 – pravá část). Změny PVR, transpulmonálního gradientu a průměrných hodnot systémového krevního tlaku vyvolané sildenafilem byly obecně významně vyšší než hodnoty dosažené podáním PGE₁. Obě látky se rovněž významně lišily ve změně poměru PVR/SVR (p=0,001), což prokazuje vyšší vasodilatační selektivitu sildenafilu k plicnímu oběhu (obrázek 2).

Diskuze

Hlavním zjištěním této studie je, že dilatace způsobená sildenafilem je významnější v plicním cévním řečišti než v systémovém cévním řečišti, zatímco účinky PGE₁ jsou obdobné v obou řečištích. Přestože mechanismus zvýšené citlivosti plicních cév na sildenafil u pacientů s chronickým srdečním selháním není ještě přesně objasněn, je možné, že jsou spojeny s vyšší expresí PDE5A v plicních rezistentních arteriolách než v arteriolách systémových. Vysoká aktivita PDE5A vede k desenzitizaci cévních stěn na endogenní cyklický GMP-dependentní vazodilatancia, obzvláště NO a natriuretické peptidy (16). V nedávné době bylo prokázáno, že u pacientů se srdečním selháním a vysokou PVR dochází ke snížení uvolňování cyklického GMP v plicích,

kteře se podáním sildenafilu může dostat na původní hladinu (14). Inhibice PDE5A vyvolává větší plicní vasodilataci než podání samotného NO, neboť je tak ovlivněn dřívější stupeň tohoto procesu. Nitroglycerin a nitroprusid mají proto pouze minimální vliv (< 10%) na poměr PVR/SVR (17). Významnější snížení PVR než SVR sildenafilem u pacientů se srdečním selháním bylo zaznamenáno již dříve (18,19), ale naše studie je první, která porovnává sildenafil s jiným vazodilatanciem.

PGE₁ oproti tomu vede k méně selektivní vasodilataci s pouze minimální změnou poměru PVR/SVR a má vyšší potenciál vyvolávat systémovou hypotenzi. Alprostadil (PGE₁) a další analogy prostacyklinu jsou významnou měrou odbourávány během prvního průchodu plicní cirkulací, avšak některé produkty tohoto odbourávání (PGE₀) mají rovněž vasodilatační vlastnosti. Analogy prostacyklinu podávané ve vysokých dávkách často způsobují, spolu se svými aktivními metabolity, které se dostávají do systémové cirkulace, systémovou hypotenzi (20,21) s nežádoucí aktivací sympatického nervového systému (22).

Studie poskytuje řadu relevantních klinických informací týkajících se patofyziologie a terapie srdečního selhání. Pokud není zvýšená PVR u pacientů se srdečním selháním reverzibilní pomocí vazodilatancia, je riziko selhání pravé komory dárcovského srdce velmi vysoké (11). Na druhou stranu mají pacienti s reverzibilním PVR obdobné výsledky po transplantaci srdce jako pacienti s nízkým PVR (23). V naší studii prokázal sildenafil vyšší schopnost než PGE₁ odhalit reverzibilní komponentu plicní hypertenze. Téměř 3/4 (73%) pacientů, v porovnání s pouze 31% pacientů na PGE₁, dosáhlo uspokojivého snížení transpulmonálního gradientu. Testování hemodynamiky u kandidátů na transplantaci srdce po podání sildenafilu se zdá být slibnou alternativou k testování za použití PGE₁, obzvláště pokud se jedná o intravenózní formu (19). Vzhledem k tomu, že přínosy sildenafilu pro plicní hemodynamiku jsou trvalého charakteru, bez vzniku lékové tolerance, mohli by být pacienti odpovídající na léčbu následně dlouhodobě léčeni perorální formou (9,24).

U chronického srdečního selhání je zvýšená vazokonstrikce plicního cévního řečiště částečně adaptivním mechanismem, který má zabránit městnání v malém oběhu. U hypervolemických pacientů se srdečním selháním může silná a selektivní plicní vasodilatace (například inhalovaným NO) zvýšit plicní kapilární tlak a vyvolat plicní edém (25). Tento jev v naší studii pozorován nebyl – průměrný tlak v zaklínění se po podání sildenafilu snížil i přes výraznou plicní vasodilataci. To může být vysvětleno současným zvýšením diastolické compliance levé komory srdeční, zvýšením tepového objemu v důsledku snížení afterload levé komory, nebo snížením interventrikulární diastolické interakce na základě objemové dekomprese (unloading) pravé komory (26). Zvýšená srdeční kontraktilita by teoreticky mohla rovněž přispět ke zvýšení tepového objemu, avšak u sildenafilu byly dříve prezentovány buď pouze neutrální (27) nebo negativní (28) účinky na

kontraktilitu levé komory. V několika krátkodobých studiích s pacienty se srdečním selháním zlepšil sildenafil hemodynamiku, kvalitu života a toleranci k zátěži (24), avšak dlouhodobá bezpečnost inhibice PDE5A musí být u obecné populace se srdečním selháním teprve pečlivě ověřena.

Závěrem lze shrnout, že studie prokázala, že vasodilatační účinky sildenafilu jsou u plicního oběhu zřetelnější než u oběhu systémového a že sildenafil měl vyšší schopnost odhalit reverzibilní prekapilární komponentu plicní hypertenze z důvodu pokročilého chronického srdečního selhání než PGE₁.

Experimentální část

Hypotéza

Cílem našeho sledování je ověřit hypotézu zda dlouhodobé podávání kombinace L- argininu a sildenafilu přinese aditivní efekt na zlepšení hemodynamických parametrů v malém oběhu, snížení remodelace plicních arteriol a hypertrofie pravé komory srdeční u zvířecího modelu hypoxické plicní hypertenze. Podkladem naší teorie je předpoklad, že nadbytek L- argininu povede k zvýšení produkci oxidu dusnatého solubilní guanylcyklásou. Po podání L- argininu se zvyšuje koncentrace NO (29,30), tento předpoklad nepřímo podporuje nález zvýšení hladiny citrulinu, vedlejšího produktu NO produkující reakce (31).

NO pak prostupuje do hladkých svalových buněk, kde se váže na hemovou část solubilní guanylcyklázy, kterou aktivuje. Guanylcykláza přeměňuje guanosintrifosfát na cyklický guanosinmonofosfát. Zvýšená koncentrace cyklického guanosinmonofosfátu aktivuje proteinkinázu G, které se podílí na inhibici vstupu kalcia do buňky, dochází ke změně polarizace a k relaxaci svalových buněk. Cyklický guanosinmonofosfát je degradován fosfodiesterázami. Sildenafil je specifický inhibitor cyklického GMP- specifické fosfodiesterázy 5, který zvyšuje intracelulární koncentraci cyklického guanosinmonofosfátu a tímto mechanismem působí vasodilataci.

Metody

Experimentální protokol

Plicní hypertenzi, která byla navozena u potkanů kmene Wistar chronickou hypoxií v normobarické hypoxické komoře (FiO₂ = 0.1). 50 potkanů o hmotnosti 250-320 g, bylo rozděleno do pěti skupin. Čtyři skupiny potkanů, byly vystaveny hypoxii po dobu tří týdnů. První skupině (n=10) byl podáván samotný L- arginin (Sigma), druhé skupině (n=10) kombinace L-argininu a sildenafilu (Pfizer), třetí skupině (n=10) byl podáván samotný sildenafil, čtvrtá skupina (n=10) nebylo podáváno žádné léčivo. Pátá skupina (n=10) byla kontrolní normoxická neléčena. (n=10). L- arginin byl podáván jednou denně perorálně gaváží v dávce 250 mg/kg, sildenafil byl podáván stejnou cestou jedenkrát denně v dávce 25 mg/kg.

Po podání anestezie thiopentalem (30 mg/kg tělesné hmotnosti i.p.) jsme měřili střední tlak v plicnici, srdeční výdej, hematokrit a hmotnost srdce. Kvantitativní histologií byla hodnocena přítomnost morfologických změn v periferním plicním řečišti způsobených chronickou hypoxií.

U potkanů, kteří spontánně dýchali atmosférický vzduch, byla preparována pravá krční žíla, a následně provedena pravostranná katetrizace bez otevření hrudníku a zaznamenán tlak v plicnici (32). Poté byla zavedena tracheální kanyla a potkani byli převedeni na umělou plicní ventilaci pozitivním tlakem (maximální inspirační tlak 10 cm H₂O bez PEEP), použit byl pokojový vzduch a rychlost ventilace byla 50 dechů/min. Hrudník byl otevřen sternotomií, přičemž bylo dbáno na to, aby bylo minimalizováno krvácení. Srdeční výdej byl vypočten z průtoku aortou měřeného ultrazvukovou průtokovou sondou (2,5 mm série SS s J snímačem, Transonic Systems, Ithaca, NY, USA) umístěnou na ascendentní aortě (33). Po dokončení měření byly z hrudního koše vyjmuty srdce a plíce. Pravá a levá komora a septum byly odděleny a zváženy (34). Plíce byly skrze tracheu tlakem 12 cm H₂O naplněny neutrálním roztokem formolu a následně umístěny do stejného roztoku na přibližně 3 – 4 týdny. Jednotlivé části plic pak byly odděleny a obarveny metodou hematoxylin-resorcin-fuchsin. Přestavba stěn periferních plicních cév byla zhodnocena pomocí sčítání distálních cév, které na jednom preparátu od každého potkana nasedaly na alveolární ducti alveolares nebo alveoly, a určení podílu těchto cév, který byl muskularizován (35,36). Za muskularizované byly považovány cévy, u kterých na alespoň polovině obvodu cévy došlo k oddělení lamina elastica interna a externa. Do sčítání byly zařazeny všechny periferní plicní cévy nalezené v sagitálním řezu oblastí hilu pravé a levé plíce. Všechny součty byly provedeny jednou osobou zaslepenou vůči zařazení jednotlivých preparátů do skupin. U každého potkana bylo do výpočtu zařazeno 52 – 85 (rozpětí) cév. Výsledek je uváděn jako procentuální podíl periferních cév s oddělenými laminae (muskularizovaných, % DL) (37).

Analýza produkce NO byla provedena u dalších 4 experimentálních skupin potkanů, kteří byly vystaveni identickému experimentálnímu protokolu jako popsáno výše. U bdělých zvířat těchto skupin byl pomocí chemiluminiscenčního NO analyzátoru stanoven výdej NO v exspirovaném vzduchu. V thionentalové anestezii byl následně punkcí aorty odebrán vzorek krve a stanoveny sérová koncentrace nitritů a nitrátů chemiluminiscencí (78) a nitrotyrosinu metodou ELISA (79).

Koncentrace cyklického GMP byla stanovena po krevním odběru, který byl centrifugován v chlazené centrifuze při 2-8 stupních Celsia. Do kepu bylo následně odebráno 100 µl a do doby hodnocení zamraženo a uschováno při teplotě -80 stupňů Celsia. Koncentrace cyklického GMP (nmol/l) byla hodnocena radioimunoanalýzou pomocí kitu firmy Immunotech.

Výsledky

Po třech týdnech hypoxie měly skupiny potkanů vystavené hypoxii statisticky signifikantně vyšší střední krevní tlak v plicní arterii než kontrolní normoxická skupina ($z\ 15,8 \pm 2,4$ na $38,1 \pm 2,7$ mmHg, $p < 0,0001$). Hypoxii vystavená zvířata, kterým byl současně podávána kombinace L-argininu a sildenafilu, měla signifikantně nižší střední tlak v plicní arterii oproti skupinám, kterým byl podáván pouze sildenafil ($27,7 \pm 6,11$ vs $34,1 \pm 4,6$, $p = 0,007$) nebo pouze L-arginin ($33,6 \pm 3,6$ vs $28,7 \pm 6,1$, $p = 0,03$) (podrobně viz graf č. 1). Ve všech skupinách vystavených hypoxii byl zjištěn zvýšený poměr váhy pravé komory k součtu vah levé komory srdeční a srdečního septa proti kontrolní normoxemické skupině (podrobně graf 2). Koncentrace cyklického GMP v krevní plazmě byla u všech hypoxických zvířat významně zvýšena proti normoxické skupině. Hladina cyklického GMP ve skupině léčené kombinací sildenafilu s L-argininem byla významně vyšší, než od hladina cyklického GMP u hypoxické skupiny bez medikace ($SA\ 113 \pm 28$ vs 74 ± 26 , $p = 0,01$) (graf č.3). Kombinované podávání L-argininu a sildenafilu vedlo k signifikantnímu snížení zastoupení muskularizovaných plicních cév oproti všem hypoxickým skupinám (graf č. 4). Metabolity NO (nitráty a nitrity) byly významně zvýšeny oproti ostatním skupinám pouze v hypoxické skupině léčené kombinací L-argininu a sildenafilu (graf č 5). Hodnota vydechovaného NO byla ve všech skupinách prakticky totožná (graf č.6).

Diskuse

Z řady existujících experimentálních modelů plicní hypertenze (32) jsme se rozhodli pro chronickou hypoxickou plicní hypertenzi a to z toho důvodu, že se nejvíce blíží klinickému obrazu cor pulmonale.

Z předchozích studií Hergeta a spol. víme, že vystavení samců laboratorního potkana kmene Wistar normobarické hypoxii ($FiO_2 = 0,1$) po dobu 3 týdnů působí konzistentně hypoxickou plicní hypertenzi, která se již dále nerozvíjí (35). Ovlivnění tlaku v plicnici, hypertrofie pravé komory srdeční a remodelace plicních cév jsou důležitými terapeutickými cíli pro intervence, které se snaží ovlivnit závažnou prognózu plicní hypertenze. Tato práce je první, která kombinuje podávání L-argininu a sildenafilu u hypoxického modelu plicní hypertenze. K testování této kombinace jsme se rozhodli z důvodu předpokládané augmentace tvorby cyklického GMP, který je intracelulárním poslem vyvolávající vasodilataci. Hlavním zjištěním naší práce je, že jak sildenafil, tak L-arginin příznivě ovlivňují hemodynamiku a vedou k podobnému snížení středního tlaku v plicnici. Dalším zjištěním je to, že kombinace L-argininu se sildenafilem má aditivní efekt na hemodynamické parametry, hmotnost pravé komory i stupeň remodelace plicních cév u zvířecího modelu hypoxické plicní hypertenze.

Efekt na plicní řečiště byl závislý od redukce krevního tlaku, protože nejvýraznější pokles tlaku v plicnici byl pozorován ve skupině kombinovaného podávání L-argininu a sildenafilu a s tím korespondovalo

snížení počtu remodelovaných (muskularizovaných) periferních plicních cév. Jedním z hlavních cílů léčby plicní hypertenze je zabránění remodelace plicních cév, především periferních arteriol.

Plicní hypertenze neovlivňuje pouze plicní cévy, ale dochází též hypertofii a změně biochemického složení pravé komory srdeční. V pravé komoře přibývá myosinu typu V a kolagenu. K zabránění remodelace může dojít vazodilatačním účinkem v důsledku produkce oxidu dusnatého po podání L-argininu, která odezní hypoxickou plicní vazokonstrikci předcházející remodelaci. Druhým mechanismem může být přímý účinek oxidu dusnatého a cAMP na proliferaci hladkých svalových buněk a hypertrofii kardiomyocytů. Bylo prokázáno, že NO může zabránit proliferaci hladkých svalových buněk tím, že interferuje s endoteliální produkcí endotelinu I a PDGF (40). Dlouhodobé podávání L-argininu může působit antiagregačně na krevní destičky (41).

Koncentrace cyklického GMP v plasmě byla vysoká ve všech hypoxických skupinách oproti kontrolní normoxické skupině a zřejmě odráží zvýšenou tvorbu NO při hypoxémii. Zvýšení tvorby NO spolu s inhibicí katabolismu cyklického GMP však vede k dalšímu zvýšení plasmatických hladin cyklického GMP. Toto zjištění koreluje s předchozími literárními údaji (42,43).

Důležitým metodickým aspektem naší práce je to, že obě farmaka byla podávána jícnovou gaváží a tak podaná perorální dávka nezávisela na příjmu vody nebo potravy, který u hypoxických zvířat bývá proměnlivý a snížený a může tak ovlivnit terapeutický efekt intervence. Dávku L-argininu použitou v našem pokusu (250 mg/kg/den) jsme zvolili na základě předchozích experimentálních prací (44). Stejně tak jsme zvolili i dávku sildenafilu (25 mg/kg/den) na základě experimentální práce Sebhkiho a spol. (45), která prokázala snížení remodelace sildenafilem u hypoxického modelu plicní hypertenze.

Jedním z pozoruhodných nálezů této studie je zjištění že samotný L-arginin vede k téměř stejně výraznému poklesu tlaku v plicnici jako sildenafil a také snižuje remodelaci periferních plicních cév a myokardu. Snížení hladiny L-argininu bylo pozorováno u několika modelů plicní arteriální hypertenze (46) a i u pacientů s PAH (47), což naznačuje, že substrátová limitace syntézy NO může být součástí etiopatogeneze PAH (48). Podávání argininu pacientům s PAH vedlo k mírné redukci tlaku v plicnici spojené s zvýšením plasmatické hladiny citrulinu, což nepřímo indikuje zvýšenou NO syntézu. Naproti tomu podávání D-argininu nemělo v experimentu žádný efekt na plicní hemodynamiku, což podporuje to, že efekt argininu je selektivní a zprostředkovaný enzymem.

Nález příznivého hemodynamického efektu L-argininu na plicní cirkulaci byl popsán i jinými autory (49,50). L-arginin není v současné době registrován pro jakýkoliv onemocnění vyvolávající plicní hypertenzi. V současné době je publikována pouze jediná klinická práce týkající se nemocných s prekapilární plicní

hypertenzi a L-argininu (32), kde autor zvolil dávku 0.5 g/10 kg, a kde použitá terapie vedla k zlepšení tolerance zátěže.

Efekt sildenafilu podávaný ve stejné dávce jako v naší studii u identického modelu PH studoval Sekbi (44). Oproti naší práci zjistili výraznější pokles tlaků v plicnici, což však může být vysvětleno odlišnou metodikou měření tlaků plicnici. Sebke a spol. použili ambulantním telemetrické měření tlaků v plicnici, zatímco v naší práci byl tlak v plicnici měřen u sedovaných zvířat, tudíž tlak i efekt intervence byly nižší. Dosáhli jsme však výraznějších změn plicní hemodynamiky než práce Laursena (47), ve které byl hypoxickým potkanům podáván dlouhodobě L-arginin. Důvodem menšího efektu v této práci byl pravděpodobně jednak odlišný způsob podávání L-argininu a době trvání.

Klinické implikace

Plicní hypertenze je závažný medicínský problém, ovlivňující kvalitu života, toleranci zátěže, a hlavně prognózu nemocných. S plicní hypertenzí se budeme setkávat stále častěji. Důvodem je snížení mortality akutních onemocnění ať již z důvodu kardiovaskulárních či plicních onemocnění, které častěji budou přecházet do chronického stádia a budou spojeny s rozvojem sekundární plicní hypertenze. Plicní hypertenze vede k dilataci a dysfunkci pravé komory srdeční, pravostrannému srdečnímu selhání a následnému úmrtí. Cílem léčby je snížení tlaků v plicní cirkulaci, zabránění remodelace plicních cév a myokardu. Mortalita idiopatické plicní arteriální hypertenze ve funkční klasifikaci IV. stupně je srovnatelná jako kolorektální karcinom či karcinom plic. V případě chronického levostranného srdečního selhání s plicní hypertenzí je prognóza nejzávažnější při dysfunkci pravé komory srdeční a současné plicní hypertenzi. I když existující různé rizikové faktory a prognostické parametry plicní hypertenze, hlavním cílem léčby je ovlivnění hemodynamických parametru – tedy poklesu tlaku v plicnici a zabránění remodelace plicních cév a myokardu (51,52).

I když je výskyt plicní hypertenze nejčastěji u nemocných s chronickým srdečním selháním, neexistuje v současné době schválená specifická farmakoterapie k ovlivnění plicní hypertenze. Řada drobných studií hodnotí příznivý efekt sildenafilu u této skupiny nemocných což dokládají i naše zkušenosti.

Závěrem lze konstatovat, že naše práce prokázala příznivý efekt kombinovaného podávání L-argininu a sildenafilu, kdy došlo k poklesu tlaků v arteria pulmonalis za současného ovlivnění remodelace periferních plicních cév. Kombinované podávání L-argininu a sildenafilu bylo výhodnější než samotné podávání pouze sildenafilu či L-argininu, protože došlo k potenciaci intracelulárního efektu cyklického GMP díky zvýšené tvorbě a inhibici jeho odbourávání.

Literatura

1. Reeves JT, Groves BM: Approach to the patient with pulmonary hypertension. In: Weir EK, Reeves JT, EDS. Pulmonary Hypertension. Mount Kisco, Futura 1984,1-44
2. Weir EK, Archem SL, Rubin LJ: Pulmonary hypertension. I: Willerson JT, John JN, Eds. Cardiovascular Medicine. New York, Churchill Livingstone, 1995,1495-1523
3. The Task Force on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension of the European Society of Cardiology. Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. Eur Heart J. 2004; 25: 2243-78
4. Simonneau G, Galie N, Rubin L, et al. Clinical classification of pulmonary arterial hypertension. J Am Coll Cardiol 2004; 43: 5S-12S
5. Mandel J., Taichman D.: Pulmonary Vascular Disease. Saunders Comp. 2006
6. Ganog WF: Přehled Lékařské Fyziologie, editor Herget J., Rakušan K. 20 vydání Galen,2005
7. Hamp V: Hypoxická plicní hypertenze. Čs fyziologie 1991,40:255-271
8. Ghio S, Gavazzu A, Campana C, et al. Independent and additive prognostic value of right ventricular systolic function and pulmonary artery pressure in patients with chronic heart failure. J Am Coll Cardiol, 2001 37:183-188
9. Lewis GD, Shah R, Shahzad K, et al. Sildenafil improves exercise capacity and quality of life in patients with systolic heart failure and secondary pulmonary hypertension. *Circulation* 2007; 116:1555-1562
10. Di Salvo TG, Mathier M, Semigran MJ, et al. Preserved right ventricular ejection fraction predicts exercise capacity and survival in advanced heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:1143-1153
11. Costard-Jackle A, Fowler MB. Influence of preoperative pulmonary artery pressure on mortality after heart transplantation: testing of potential reversibility of pulmonary hypertension with nitroprusside is useful in defining a high risk group. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:48-54
12. Murali S, Uretsky BF, Armitage JM, et al. Utility of prostaglandin E1 in the pretransplantation evaluation of heart failure patients with significant pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:716-723
13. Murali S, Kormos RL, Uretsky BF et al. Preoperative pulmonary hemodynamics and early mortality after orthotopic cardiac transplantation: the Pittsburgh experience. *Am Heart J* 1993;126:896-904

14. Melenovsky V, Al-Hiti H, Kazdova L, et al. Transpulmonary B-type natriuretic peptide uptake and cyclic guanosine monophosphate release in heart failure and pulmonary hypertension: the effects of sildenafil. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54: 595-600
15. Kass DA, Champion HC, Beavo JA. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation. *Circ Res* 2007;101:1084-1095
16. Forfia PR, Lee M, Tunin RS, et al. Acute phosphodiesterase 5 inhibition mimics hemodynamic effects of B-type natriuretic peptide and potentiates B-type natriuretic peptide effects in failing but not normal canine heart. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1079-1088
17. Murali S, Uretsky BF, Reddy PS, et al. Reversibility of pulmonary hypertension in congestive heart failure patients evaluated for cardiac transplantation: comparative effects of various pharmacologic agents. *Am Heart J* 1991;122:1375-1381
18. Alaeddini J, Uber PA, Park MH, et al. Efficacy and safety of sildenafil in the evaluation of pulmonary hypertension in severe heart failure. *Am J Cardiol* 2004;94:1475-1477
19. Al Hesayen A, Florsas JS, Parker JD. The effects of intravenous sildenafil on hemodynamics and cardiac sympathetic activity in chronic human heart failure. *Eur J Heart Fail* 2006;8:864-868
20. Radovancevic B, Vrtovec B, Thomas Cdcoitoru M, et al. Nitric oxide versus prostaglandin E1 for reduction of pulmonary hypertension in heart transplant candidates. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:690-695
21. Von Scheidt W, Costard-Jaeckle A, Stempfle HU, et al. Prostaglandin E1 testing in heart failure-associated pulmonary hypertension enables transplantation: the PROPHET study. *J Heart Lung Transplant* 2006;25:1070-1076
22. Montalescot G, Drobinski G, Meurin P, et al. Effects of prostacyclin on the pulmonary vascular tone and cardiac contractility of patients with pulmonary hypertension secondary to end-stage heart failure. *Am J Cardiol* 1992;82:749-755
23. Reversible Klotz S, Deng MC, Hanafy D, et al. Reversible pulmonary hypertension in heart transplant candidates—pretransplant evaluation and outcome after orthotopic heart transplantation. *Eur J Heart Fail* 2003;5:645-653
24. Guazzi M, Samaja M, Arena R, et al. Long-term use of sildenafil in the therapeutic management of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2136-2144
25. Loh E, Stamler JS, Hare JM, et al. Cardiovascular effects of inhaled nitric oxide in patients with left ventricular dysfunction. *Circulation* 1994;90:2780-2785

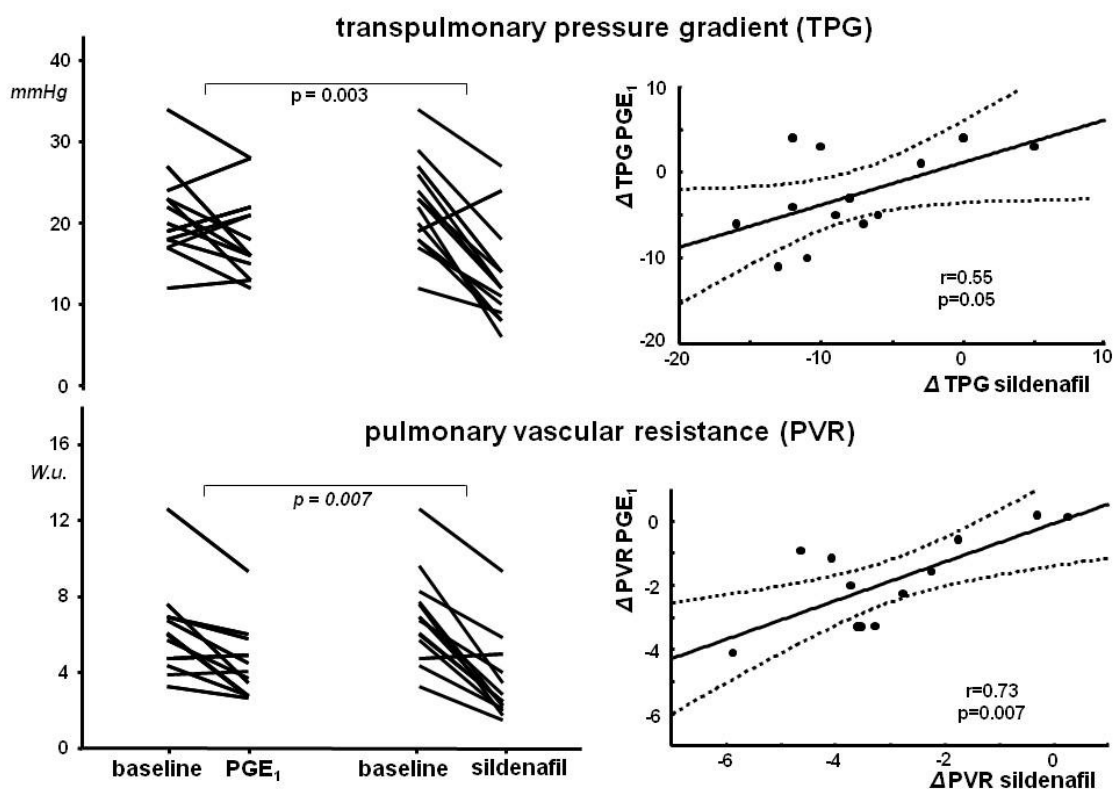
26. Morris- Thurgood JA, Frenneaux MP. Diastolic ventricular interaction and ventricular diastolic filling. *Heart Fail Rev* 2000;5:307-323
27. Lepore JJ, Maroo A, Bigatello LM, et al. Hemodynamic effects of sildenafil in patients with congestive heart failure and pulmonary hypertension: combined administration with inhaled nitric oxide. *Chest* 2005;127:1647-1653
28. Borlaug BA, Melenovsky V, Marhin T, et al. Sildenafil inhibits beta-adrenergic-stimulated cardiac contractility in humans. *Circulation* 2005;112:2642-2649
29. Fike CD, Kaplowitz MR, Rehorst-Paea LA, et al. L-Arginine increases nitric oxide production in isolated lungs of chronically hypoxic newborn pigs. *J Appl Physiol* 2000;88: 1797–1803
30. Goret L, Tanguy S, Guiraud I, et al. Acute administration of L-arginine restores nitric oxide-mediated relaxation in isolated pulmonary arteries from pulmonary hypertensive exercise trained rats. *Eur J Pharmacol* 2008;581: 148–156
31. Nagaya N, Uematsu M, Oya H, et al. Short-term oral administration of L-arginine improves hemodynamics and exercise capacity in patients with precapillary pulmonary hypertension *Am J Respir Crit Care Med* 2011;163: 887-891
32. Herget J, Palecek F. Pulmonary arterial blood pressure in closed chest rats, Changes after catecholamines, histamine and serotonin. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1972;198:107-117
33. Hampl V, Archer SL, Nelson DP, et al. Chronic EDRF inhibition and hypoxia: effects on pulmonary circulation and systemic blood pressure. *J Appl Physiol*. 1993;75(4):1748-57
34. Fulton RM, Hutchinson EC, Jones AM. Ventricular weight in cardiac hypertrophy. *Br Heart J*. 1952;14(3):413-20
35. Hunter C, Barer GR, Shaw JW, et al.: Growth of the heart and lungs in hypoxic rodents: a model of human hypoxic disease. *Clin Sci Mol Med*. 1974, 46(3):375-91
36. Herget J, Novotná J, Bibová J, et al. Metalloproteinase inhibition by Batimastat attenuates pulmonary hypertension in chronically hypoxic rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;285(1):199-208
37. Herget J, Suggett AJ, Leach E, et al. Resolution of pulmonary hypertension and other features induced by chronic hypoxia in rats during complete and intermittent normoxia. *Thorax* 1978;33(4):468-73
38. Hampl V, Bíbová J, Baňasová A, et al. Pulmonary vascular iNOS induction participates in the onset of chronic hypoxic pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 2006;29: 11-20

39. Herget J, Wilhelm J, Novotná J, et al. A possible role of the oxidant tissue injury in the development of hypoxic pulmonary hypertension. *Physiol Res*. 2000;49(5):493-501
40. Eddahibi S, Raffestin B, Clozel et al. Protection from pulmonary hypertension with an orally active endothelin receptor antagonist in hypoxic rats. *Am J Physiol*. 1995;268(2Pt2): H828-35
41. Adams MR, Forsyth CJ, Jessup W, et al. Oral L-arginine inhibits platelet aggregation but does not enhance endothelium-dependent dilation in healthy young men. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26(4):1054-61
42. Horstman DJ, McCall DA, Frank DU, et al. Inhaled nitric oxide and nifedipine have similar effects on lung cGMP levels in rats. *Anesth Analg* 1999;89(4):932-7
43. Hanasato N, Oka M, Muramatsu M, et al. E-4010, a selective phosphodiesterase 5 inhibitor, attenuates hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Am J Physiol* 1999;277 (2Pt1): L225-32
44. Mitani Y, Maruyama K, Sakurai M. Prolonged administration of L-arginine ameliorates chronic pulmonary hypertension and pulmonary vascular remodeling in rats. *Circulation*. 1997;15;96(2):689-97
45. Sebkhi A, Strange JW, Phillips SC, et al. Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxic-induced pulmonary hypertension. *Circulation*. 2003;1;107(25): 3230-5
46. Carville C, Adnot S. Loss of endothelium-dependent relaxation in proximal pulmonary arteries from rats exposed to chronic hypoxia: effects of in vivo and vitro supplementation with L-arginine. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1993;22,889-896
47. Mehta S, Stewart DJ, Langleben D, et al. Short-term pulmonary vasodilatation with L-arginine in pulmonary hypertension. *Circulation* 1995;15,92(6):1539-45
48. Laursen BE, Dam MY, Mulvany MJ, et al.: Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling and right ventricular hypertrophy is unaltered by long-term oral L-arginine administration *Vascular pharmacology* 2008;49:71-76
49. Fagan JM, Rex SE, Haves-Licitra SA, et al. L-Arginine reduces right heart hypertrophy in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999; 254(1):100-3
50. Eddahibi S, Adnot S, Carville C, et al. L-arginine restores endothelium-dependent relaxation in pulmonary circulation of chronically hypoxic rats. *Am J Physiol*. 1992;263(2Pt1):194-200
51. D'Alonzo GE, Barst RJ, Ayers SM, et al. Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from national prospective registry. *Ann Intern Med*. 1991;115(5):343-9
52. Ghio S, Gavazzi A, Capana C, et al. Independent and additive prognostic value of right ventricular function and pulmonary artery pressure in patients with chronic heart failure *J Am Coll Cardiol*. 2005; 37:183-188

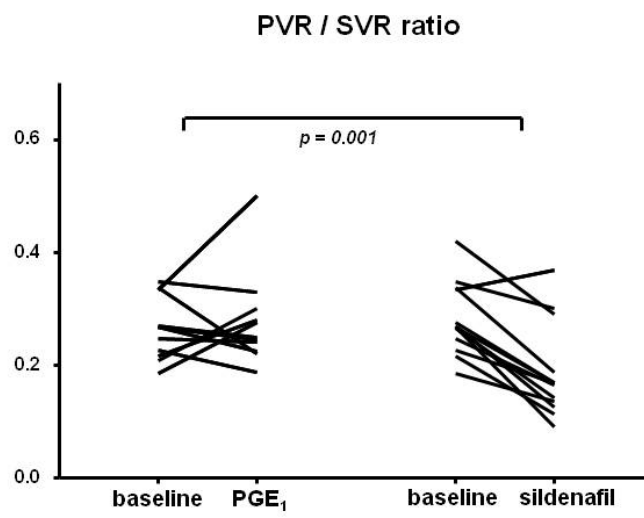
Obrazová příloha

Obrázek 1. Vlevo: Hodnoty transpulmonárního gradientu a plicní vaskulární rezistence (PVR) po podání prostaglandinu E₁ (rychlostí 200 ng·kg⁻¹·min⁻¹ i.v.) nebo sildenafilu (40 mg perorálně) u pacientů se srdečním selháním a plicní hypertenzí.

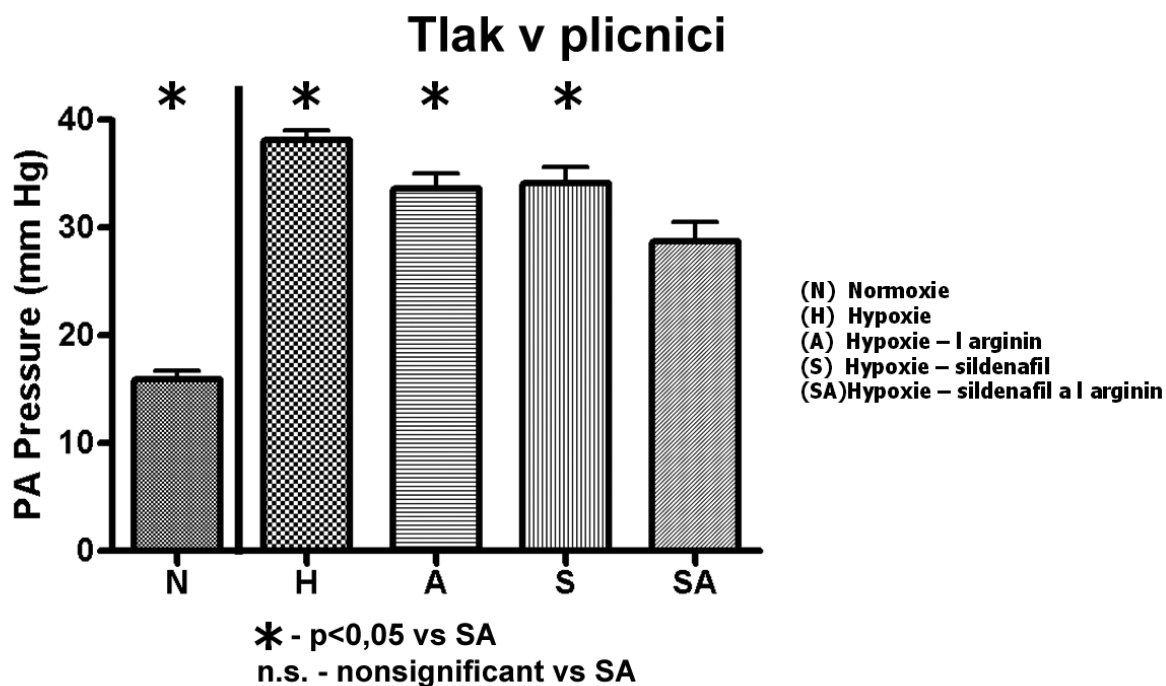
Vpravo: Korelace mezi změnami (Δ) transpulmonárního gradientu a PVR vyvolanými sildenafilem nebo PGE₁.



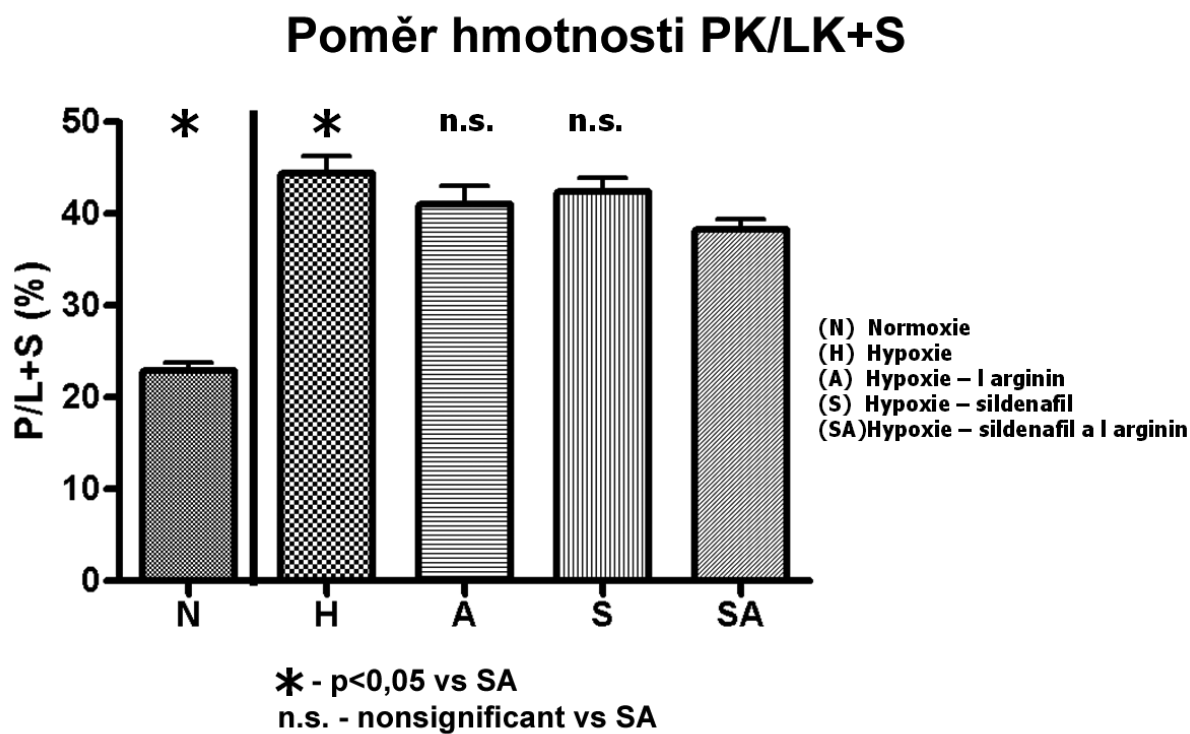
Obrázek 2. Poměr plicní vaskulární rezistence (PVR) k systémové vaskulární rezistenci (SVR) - index plicní selektivity vasodilatace před a po podání sildenafilu (40 mg perorálně, pravý panel) a prostaglandinu E₁ (200 ng·kg⁻¹·min⁻¹ i.v., levý panel) u pacientů s pokročilým srdečním selháním a prekapilární plicní hypertenzí.



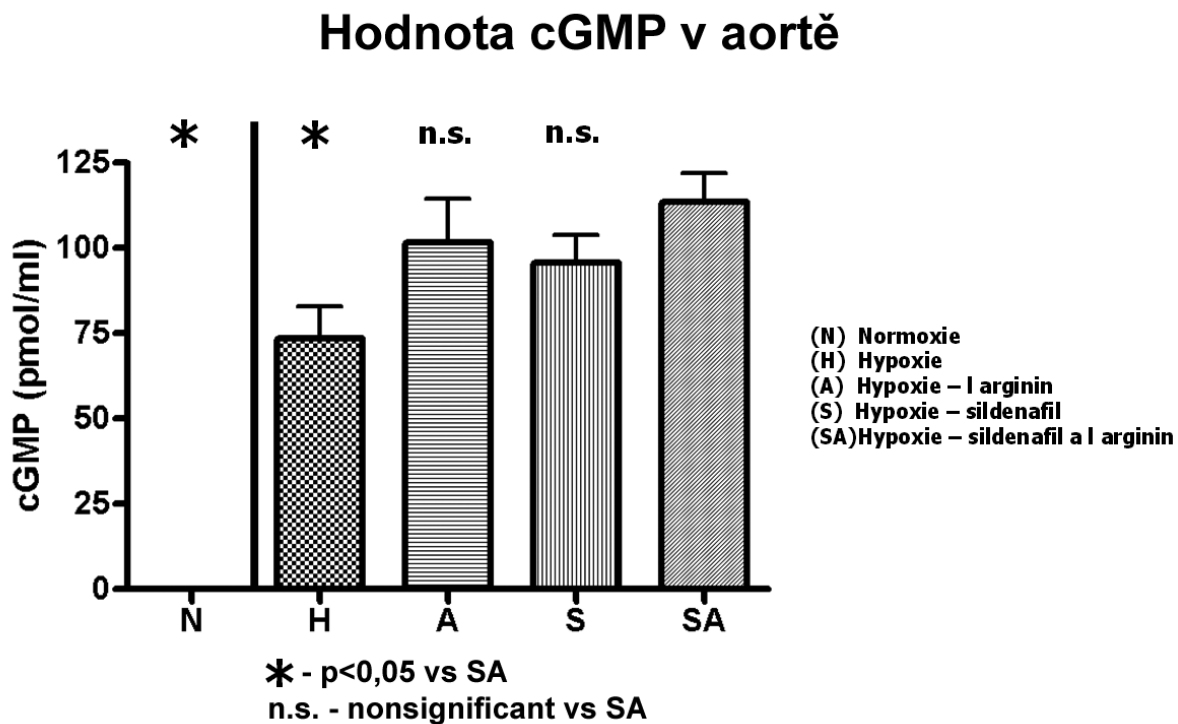
Graf 1. Tlak v plicní arterii v jednotlivých skupinách po 3 týdnech pokusu



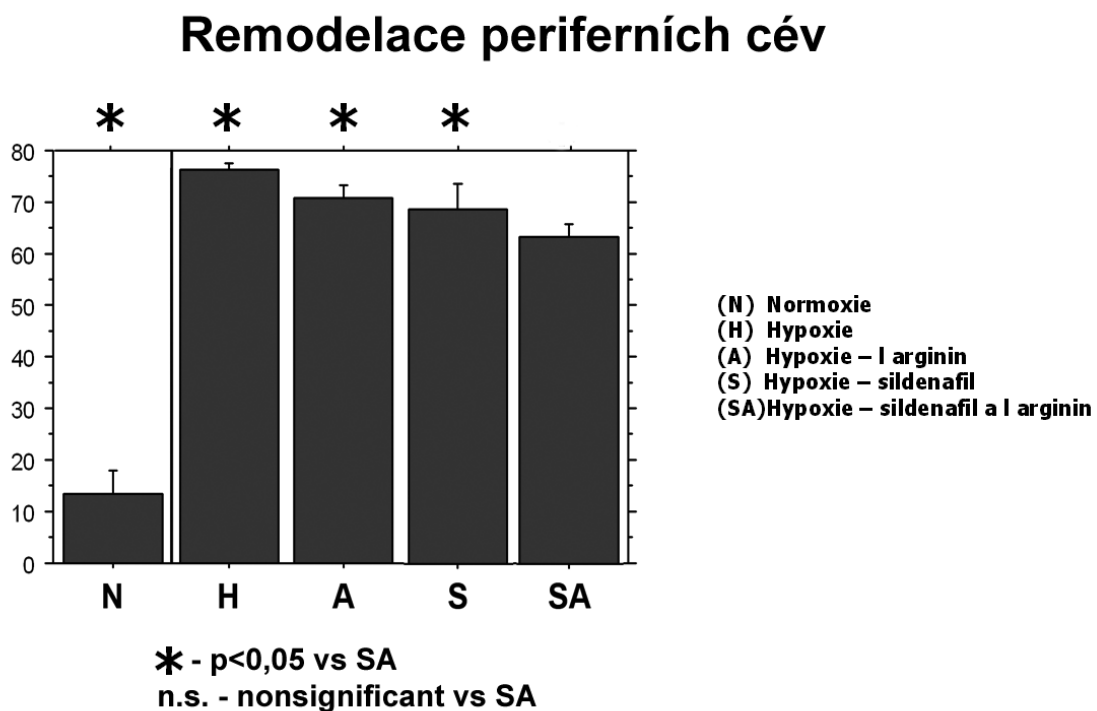
Graf 2. Poměr hmotnosti pravé komory srdeční k levé komoře srdeční a septu



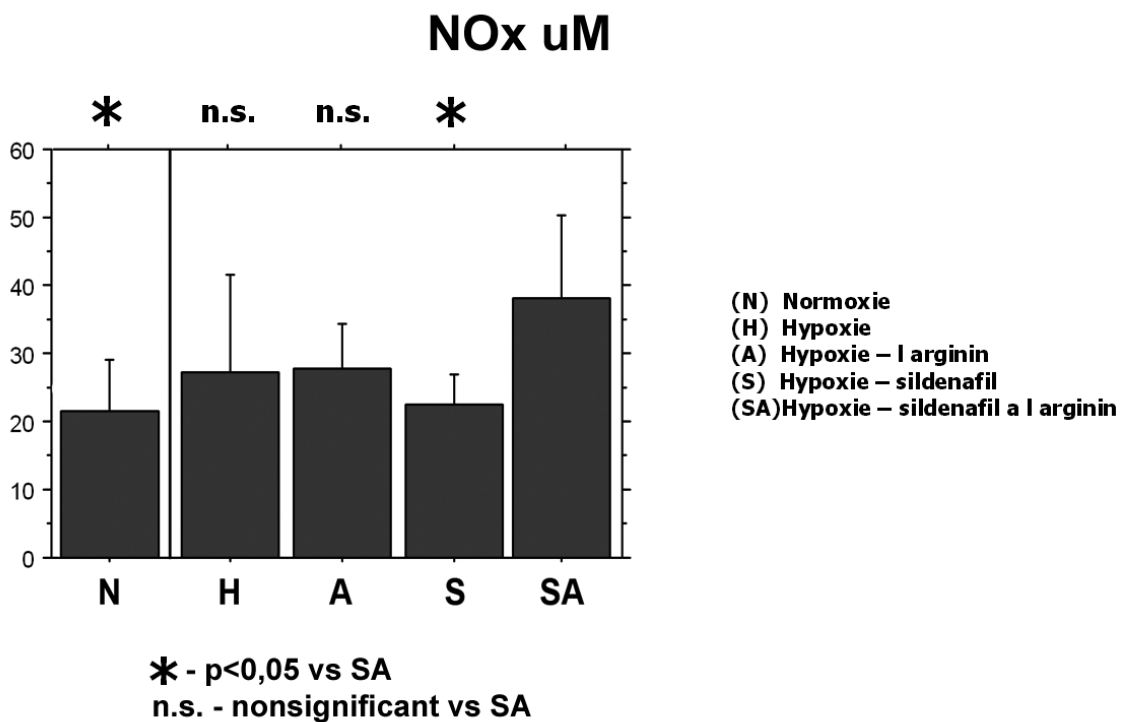
Graf 3. Koncentrace cyklického guanosinmonofosfátu v plazmě



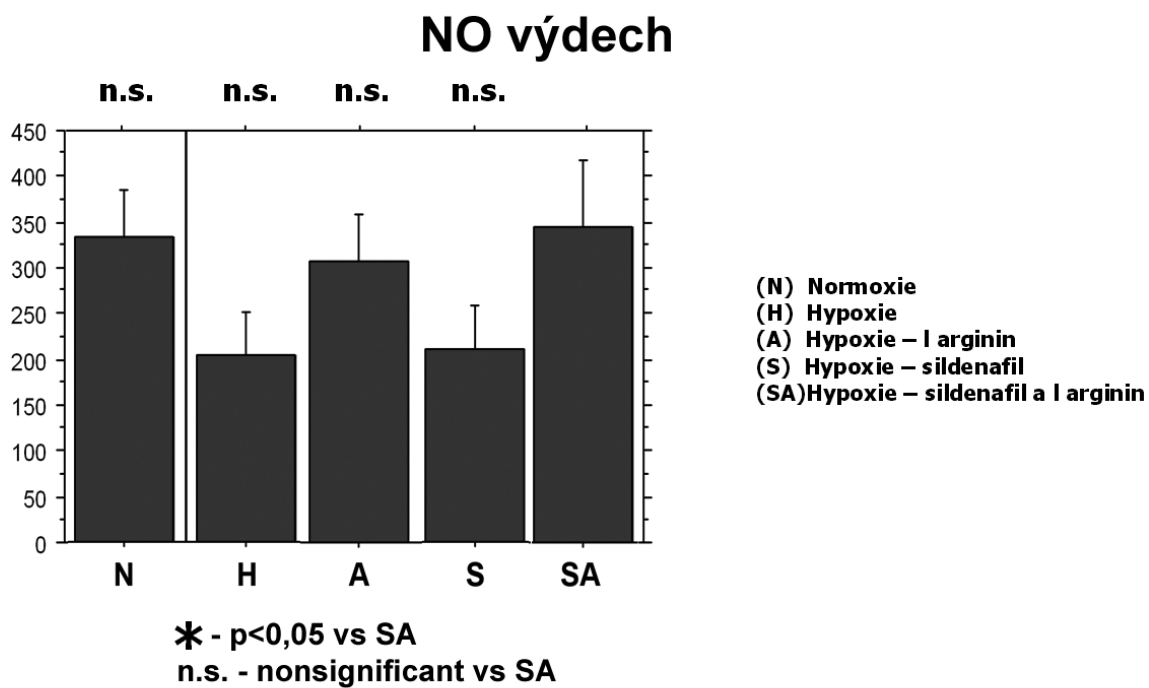
Graf 4. Remodelace plicních periferních plicních cév po 3 týdnech pokusu



Graf 5. Koncentrace metabolitu oxidu dusnatého



Graf 6. Hodnota vydechovaného oxidu dusnatého



Tabulka 1. Základní údaje o výběrovém souboru (n=13)

Věk, <i>roky</i>	51 ± 12
Pohlaví, m/ž, <i>n</i>	10 / 3
Body mass index, <i>kg·m⁻²</i>	27 ± 3,5
Etiologie: CAD / DCM, <i>n</i>	10 / 3
Funkční třída dle NYHA	2,7 ± 0,6
Skóre MLHFQ	43 ± 22
Denní dávka furosemidu, <i>mg</i>	101 ± 60
Hemoglobin, <i>g · l⁻¹</i>	133 ± 17
Sérový kreatinin, <i>μmol · l⁻¹</i>	104 ± 21
Plazmatická hladina BNP, <i>ng · l⁻¹</i>	887 ± 686
Ejekční frakce LK, %	24 ± 4
Velikost LK, <i>mm</i>	69 ± 6,2
Arteriální tlak, <i>mmHg</i>	8,2 ± 2,7
Systémový krevní tlak – systolický/diastolický, <i>mmHg</i>	120 ± 15 / 70 ± 9

BNP: natriuretický peptid typu B, CAD: onemocnění koronárních tepen (coronary artery disease), DCM: dilatační kardiomyopatie, LV: levá komora, MLHFQ: dotazník Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire, NYHA: Newyorská asociace pro choroby srdce (New York Heart Association).

Tabulka 2. Hemodynamické parametry (n=13)

	klid	Δ PGE₁	Δ sildenafil	P[‡]
Puls, min^{-1}	78 ± 13	1,8 ± 7	- 8,5 ± 9	0,09
Střední tlak v plicnici, <i>mmHg</i>	47 ± 6	- 8,5 ± 9 †	-11 ± 7 †	0,4
Tlak v zaklínění, <i>mmHg</i>	26 ± 4	- 5,8 ± 7 †	- 3,2 ± 5 *	0,3
Transpulmonární gradient, <i>mmHg</i>	21 ± 5	- 2,7 ± 5	- 8 ± 6 †	0,02
Srdeční index, $l \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$	1,7 ± 0,3	0,5 ± 0,3 †	0,5 ± 0,4 †	0,9
Tepový objem, <i>ml</i>	46 ± 12	8,1 ± 8 †	15 ± 9 †	0,07
Plicní vaskulární rezistence, <i>WU</i>	6,3 ± 2	- 1,8 ± 1 †	- 3,2 ± 2 †	0,05
PVR / SVR	0,27 ± 0,05	0,01 ± 0,08	- 0,08 ± 0,06 †	0,004
Systémová vaskulární rezistence, <i>WU</i>	24 ± 7	- 6,7 ± 3 †	- 6,5 ± 4,5 †	0,8
Střední systémový arteriální tlak, <i>mmHg</i>	80 ± 9	- 12 ± 3,5 †	- 6,6 ± 8 *	0,04

Všechna srovnání pomocí párového t-testu: * p<0,05, † p<0,01 oproti výchozímu stavu. ‡ porovnání změn (Δ).

PA: plicnice, WU: Woodovy jednotky, PVR: plicní vaskulární rezistence, SVR: systémová vaskulární rezistence

Seznam publikací

Týkající se dizertační práce:

Al-Hiti H., Melenovský V., Syrovátka P., Kettner J, Malek I., Kautzner J. Sildenafil is more selective pulmonary vasodilator than prostaglandin E1 in patients with pulmonary hypertension due to heart failure. *Physiol Res.* 2010 Nov 29. [Epub ahead of print], **IF 1.43**

Melenovský, V., Al-Hiti, H., Kazdová, L., Jabor, A., Syrovátka, P., Málek, I., Kettner, J., Kautzner, J. Transpulmonary B-Type natriuretic peptide uptake and cyclic guanosine monophosphate release in heart failure and pulmonary hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, 2009, vol. 54, no. 7, p. 595-600. ISSN 0735-1097. **IF 12,535.**

Galie, N., Rubin, R., Hoeper, M., Jansa, P., Al-Hiti, H., Meyer, G., Chiossi, E., Kusic-Pajic, A., Simonneau, G., Treatment of patients with mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension with bosentan (Early study): a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 2008, vol. 371, no. 9630, p. 2093-2100. ISSN 0140-6736. **IF 28,409**

Vojáček, J., Kettner, J., Bytešník, J., Dominik, J., Dušek, J., Kautzner, J., Marek, T., Málek, I., Popelová, J., Pudil, R., Souček, M., Šimon, J., Špinar, J., Šteiner, I., Vítovec, J., Widimský, J., Al-Hiti, H., Brtko, M., Bultas, J., Čáp, J., Češka, R., Čihák, R., Dusilová-Sulková, S., Eliáš, P., Fischerová, B., Franc, P., Groch, L., Grochová, I., Haman, L., Harrer, J., Hegarová, M., Hradec, J., Hrnčář, Z., Kolář, J., Lang, O., Lupínek, P., Málek, F., Malý, J., Mates, M., Neužil, P., Pařízek, P., Pelouch, R., Riedlbauchová, L., Rozsíval, V., Roztočil, K., Rubáček, M., Salajka, F., Solař, M., Stříteský, M., Šimek, S., Šimková, R., Škoda, J., Šťásek, J., Táborský, M., Vančura, V., Vojáček, J. *Klinická kardiologie*. 1. vyd. Hradec Králové : Nucleus HK. 2009. 925 s. ISBN 978-80-87009-58-1.

Al-Hiti H., Melenovsky V., Malek I., Kettner J., Kautzner J. Relation between acute and long-term effect of sildenafil in patients with advanced heart failure and severe pulmonary hypertension. *Chest Meeting Abstracts 2009* 136: 103S

Al-Hiti H. Heart transplantation in patients with severe pulmonary hypertension. *Chest Meeting Abstracts 2007* 132: 582

Al-Hiti, H. Heart transplantation in patients with severe pulmonary hypertension. *Heart Failure Congress 2008*. Milan, IT, 14.06.2008 - 17.06.2008. In: *European journal of heart failure. Supplements*, 2008, vol. 7, suppl. 1, p.198, č. abstr. 763. ISSN 1567-4215.

Al-Hiti, H., Málek, I., Frídl, P., Dorazilová, Z., Hrnčárek, M., Kettner, J., Marek, T., Podzimková, M., Vítovec, M. Development of pulmonary hypertension in patients with advanced heart failure. *Pulmonary Circulation VII. International Symposium*. Prague. CZ. Konáno dne 27.06.1999 až 30.06.1999. In: *Physiol.Res.*, 48, 1999, č.5, s.58P. ISSN 0862-8408. In: *Pulmonary Circulation VII. Abstracts*. Praha : b.n. 1999, s.A76.

Al-Hiti, H., Herget, J. The effect of sildenafil and L-arginin combination on hypoxic pulmonary hypertension. *86. fyziologické dny*. Prague, CZ, 09.02.2010 - 11.02.2010. Zorg. Fyziologická společnost. In: *Physiological Research*, 2010, roč. 59, č. 2, s.13P. ISSN 0862-8408. - Proceedings of the Czech and Slovak Physiological Societies.

Melenovský, V., Al-Hiti, H., Kazdová, L., Jabor, A., Syrovátka, P., Málek, I., Kettner, J., Kautzner, J. Patients with heart failure and high pulmonary resistance show normal transpulmonary BNP uptake but attenuation of cGMP release, responsive to sildenafil. *Scientific Sessions 2008*. New Orleans, US, 08.11.2008 - 12.11.2008.

In: *Circulation*, 2008, vol. 118, no. 18, suppl. 2, p.S877, č. abstr. 4379. ISSN 0009-7322.

Melenovský, V., Al-Hiti, H., Kovář, J., Stávek, P., Málek, I., Piřha, J., Kautzner, J. Precapillary component of pulmonary hypertension in heart failure is linked to insulin resistance. *Scientific Sessions 2009*. Orlando, US, 14.11.2009 - 18.11.2009.

In: *Circulation*, 2009, vol. 120, no. 18, suppl. 2, p.S841, č. abstr. 3634. ISSN 0009-7322.

Al - Hiti, H., Málek, I., Kautzner, J. Plicní hypertenze. *Lékařské Listy*, 2002, roč. 51, č. 45, s. 26-29. ISSN 0044-1996. Příloha Zdrav.Nov. ze dne 8.11.2002.

Al - Hiti, H., Málek, I., Kettner, J., Kautzner, J. Nové poznatky o terapii primární plicní hypertenze. *Cor et Vasa*, 2002, roč. 44, č. 12, s. 519-523. ISSN 0010-8650.

Al - Hiti, H. Současné možnosti léčby plicní arteriální hypertenze. *Kardiologická revue*, 2005, roč. 7, č. 2, s. 90-94. ISSN 1212-4540.

Al-Hiti, H., Kettner, J., Widimský, J., Kautzner, J. Kombinovaná terapie inhalačním iloprostem a sildenafilem u pacienta s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí. *Cor et Vasa*, 2007, roč. 49, č. 6, s. 222-224. ISSN 0010-8650.

Al-Hiti, H., Melenovský, V., Kettner, J., Málek, I., Kautzner, J., Hrnčárek, M. Plicní hypertenze a chronické srdeční selhání. *Cor et Vasa*, 2009, roč. 51, č. 7-8, s. 478-480. ISSN 0010-8650.

Další publikace:

Těšínský L., Pirk, J., Al-Hiti, H., Málek, I. An isolated ventricular septal defect as a consequence of penetrating injury to the heart. *Eur.J.cardiothorac.Surg.*, 15, 1999, č.1, s.221-223. ISSN 1010-7940. **IF 1,134.**

Špinar, J., Aschermann, M., Al-Hiti, H., Bělohávek, J., Dušek, L., Hlinomaz, O., Kettner, J., Linhart, A., Málek, I., Miklík, R., Novák, M., Pařenica, J., Vítovec, J. Databáze akutního srdečního selhání na specializovaných kardiologických klinikách. *Cor et Vasa*, 2008, roč. 50, č. 1, s. 12-21. ISSN 0010-8650