

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: : Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Hikmet Al-Hiti

Léčba plicní hypertenze ovlivněna metabolismem cyklického guanosinmonofosfátu

Treatment of pulmonary hypertension affect the metabolism of cyclic guanosine monophosphate

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: MUDr. Jiří Kettner, CSc

Konzultant: MUDr. Vojtěch Melenovský, CSc

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 21.03.2011

Hikmet Al-Hiti

Podpis

Poděkování

Jsem velmi rád, že mohu při této příležitosti poděkovat všem svým spolupracovníkům z Kliniky kardiologie IKEM a Fyziologického ústavu při 2. lékařské fakultě Univerzity Karlovi v Praze.

Především bych chtěl vyjádřit upřímný dík svému školiteli MUDr. J. Kettnerovi, CSc, vedoucímu lékaři oddělení akutní kardiologie Kliniky kardiologie, za trpělivost a kritické vedení nejen při této práci, ale během celého mého dosavadního působení na Klinice kardiologie.

Děkuji Prof. MUDr. J. Hergetovi, DrSc a jeho kolektivu za obětavou pomoc, trpělivost, všechny rady i kritické připomínky.

Děkuji MUDr V. Melenovskému, CSc za konzultaci a kritické připomínky.

Děkuji své ženě Tereze a synovi Oliverovi za rozsáhlou podporu a trpělivost při realizaci a sepisování práce.

Identifikační záznam:

Pro tvorbu identifikačního záznamu se řiďte normami ČSN ISO 690 a ČSN ISO 690-2.

AL-HITI, Hikmet Léčba plicní hypertenze ovlivněna metabolismem cyklického guanosinmonofosfátu [*Treatment of pulmonary hypertension affect the metabolism of cyclic guanosine monophosphate*]. Praha,2011. Počet stran 57. Disertační. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Klinika / Ústav 1. LF UK 2008. Vedoucí závěrečné práce Kettner Jiří

Obsah

Abstrakt (český).....5

Abstract (anglický).....6

Kapitoly:

1. Úvod – plicní hypertenze7

2. Plicní hypertenze – patofyziologické poznámky.....12

3. Léčba plicní hypertenze.....15

4. Hypotéza a cíle práce.....24

5. Klinická část – plicní hypertenze u chronického srdečního selhání..... 25

5. Experimentální část..... 26

6. Klinická implikace..... 34

8. Závěr.....35

7. Použitá literatura.....36

12 Obrázková příloha.....43

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 nejspěšnější, 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 vasodilataci 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.

Klíčová slova: plicní hypertenze, sildenafil, L-arginin, cyklický guanosinmonofosfát

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. Na samostatné stránce vč. klíčových slov. Maximální délka 15-20 řádků.

Key words: pulmonary hypertension, sildenafil, L-arginine, cyclic guanosinmonophosphat

Úvod

Plicní krevní oběh je unikátní cévním řečištěm, protože má význam zcela odlišný od ostatních orgánových řečišť (1). Kyslík není odevzdáván z krve do tkání, naopak se v plicní cirkulaci dostává z alveolů do krve.

Plicní hypertenze je syndrom zvýšeného krevního tlaku v plícnici, zvýšeného plicního cévního odporu, anebo obou (2,3). 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.

Průtok krve plícemi je objem krve za jednotku času, který prochází z plicní tepny přes kapilární řečiště do plicních žil. Plicní cévní řečiště je obdobné jako systémové, s tím rozdílem, že tloušťka stěny plicnice a jejích větví dosahuje jen 30 % tloušťky stěny aorty. Plicní artérie i arterioly jsou za fyziologických okolností pokryté endotelem s relativně malým množstvím hladkého svalu ve stěně. Obdobně postkapilární plicní cévy. Plicní kapiláry jsou široké s četnými anastomózami, které velmi efektivně obklopují alveoly. Plíce mají dvojitou cirkulaci a přijímají jak systémovou žilní krev (tj. výše zmíněný průtok plícemi) z plicní tepny, tak i tepennou krev z bronchiální cirkulace. Bronchiální tepny se normálně větví do kapilární sítě a odtud jde krev do bronchiálních žil a poté do systémové cirkulace. Některé z bronchiálních žil ústí i do plicních žil a vytváří tak fyziologický pravolevý zkrat. Úkolem bronchiální cirkulace je zajistit výživu strukturám dýchacích cest. Za normální situace je průtok tímto systémem nízký a tvoří přibližně 1 procento srdečního výdeje (4). Vzniklá desaturace krve v levé síni je obvykle zanedbatelná.

Krevní tlak je výsledkem fyzikálních vlastností cévního systému (poddajnosti a elasticity) a stupně jeho roztažení krví, kterou obsahuje. Na rozdíl od neinvazivního měření systémového krevního tlaku sfygmomanometrem vyžaduje měření tlaků v plicním cévním

řečišti pravostrannou srdeční katetrizaci.

Katetrizaci pravého srdce provedl jako první sám na sobě Werner Forssmann v roce 1929, kdy pomocí rentgenového přístroje a zrcadla zavedl uretrální katetr z kubitální žíly do pravé síně (samotný výkon měl zakázaný). Forssmann se domníval, že by se dalo tohoto přístupu využít pro nitrosrdeční aplikaci léků. Pro diagnostické účely užil Forssmannova objevu jako první dr Otto Klein, německý internista, který pracoval na interní klinice UK na Karlově náměstí v Praze, pod vedením prof. Nonnenbrucha. V letech 1929- 1930 katetrizoval pravé srdce a změřil minutový srdeční výdej podle Fickova principu u 11 nemocných (5). Normální systolický tlak v plicnici u ležících osob je v rozmezí 18 až 15 mmHg, diastolický tlak v rozmezí 6 až 10 mmHg střední hodnota je mezi 12 až 16 mmHg (při nulovém referenčním bodu 5 cm pod druhým kostochondrálním spojením (6,7)). Plicní hypertenze je definována středním tlakem v plicnici ≥ 25 mmHg. Normální střední tlak v plicních žilách je 6-10 mmHg a tudíž normální arteriovenózní tlakový rozdíl, umožňuje průtok srdečního výdeje skrz plicní cévní řečiště. Normální odpor v plicním cévním řečišti je asi 10 -20 krát nižší než odpor ve velkém oběhu (8). Cévní odpor je obecně kvantifikován, analogicky jako Ohmův zákon, jako poměr tlakového rozdílu (v mmHg) ke střednímu průtoku (v litrech/min). Tento poměr je obecně násoben hodnotou 79.9 (nebo 80 pro zjednodušení) k vyjádření výsledku dyn \cdot s \cdot cm $^{-5}$. Přepočet na metrické jednotky někdy není nutný a odpor může být vyjádřen v jednotkách mmHg/l/min, které jsou nazývány hybridními jednotkami nebo v literatuře častěji jako Woodovy jednotky, pojmenované podle anglického kardiologa Paula Wooda, který je jako první použil. Výpočet plicní cévní rezistence je u normálních dospělých jedinců 67 ± 23 (SD) dyn \cdot s \cdot cm $^{-5}$, tj. 0.84 ± 0.3 W.j. (7). Na plicní cévní rezistenci se podílejí zejména malé muskulární artérie a arterioly, dále viskozita krve, proximální cévní obstrukce (např. koarktace plicnice, embolie do plicnice) a extramurální kompresí cév (perivaskulární edém, tumor) a mechanickými vlastnostmi plicní tkáně. V roce 1842 francouzský lékař Jean

Léonard Poiseuille empiricky odvodil rovnici popisující průtok krve skrz rigidní skleněnou trubici a tyto vztahy jsou známy jako Poiseuilleův zákon: $R = \frac{P_i - P_o}{Q} = \frac{8nl}{\pi r^4}$, kde R =rezistence, $P_i - P_o$ =tlakový pokles, Q =průtok, n =viskozita tekutiny a r =délka a průměr trubice. Z tohoto vztahu je patrné, že rezistence může být účinně ovlivněna i malými změnami v průřezu cév. Poněvadž plicní cévní řečiště obsahuje elastickou tkáň, průřez tohoto řečiště se mění přímo v závislosti na změnách transmurálního tlaku průtoku. Při hodnocení vztahů tlak-průtok v normální plicní cirkulaci u lidí dostáváme hyperbolický tvar křivky, kdy ve fyziologické oblasti jsou velké změny plicního krevního průtoku spojeny jen s malým zvýšením tlaku v plicnici. To je výsledkem snížení plicní cévní rezistence při zvýšení průtoku (9). Pokles rezistence je odrazem zvětšení průřezu roztažitelných cév v důsledku zvýšeného průtoku, zčásti se na něm podílí i otevření dalších cévních kanálů, do té doby částečně kolabovaných (7).

V roce 1891 Ernst von Romberg použil termín „Über Sklerose der Lungen Artérie“ (sklerosa plicních arterií), k popisu abnormality plicního řečiště, pro které neměl vysvětlení (10). V roce 1901 Abel Ayerza z Argentiny použil termín „cardiacos negros“ u pacientů s plicní hypertenzí a pravostranným srdečním selháním. Kolegové nazvaly tento stav jako: „Ayerzeovo onemocnění“, věřili, že se jedná o syphilitické postižení plicního řečiště. Tato hypotéza přetrvávala až do čtyřicátých let 20 století, kdy Oscar Brener zhodnotil sto případů plicní hypertenze z Massachusettské nemocnice. Zkoumal histopatologické postižení

a vyloučil syphilitickou etiologii (10). V roce 1951 David Dresdale s kolegy popsal hypertenzní vaskulopatii plicní cirkulace. V případě nejasné příčiny plicní hypertenze použil termín primární plicní hypertenze. Tam, kde bylo možné zjistit etiologii vysokých tlaků v plicnici, byla plicní hypertenze nazvána jako sekundární (11). V roce 1970 Wagenvoort a Wagenvoort popsali vaskulární postižení - plexogéní pulmonální arteriopatii (12). Koncem šedesátých a začátkem sedmdesátých let minulého století byla epidemie plicní arteriální

hypertenze v Rakousku, Švýcarsku a bývalém západním Německu v souvislosti s užíváním anorektik.. Na základě této skutečnosti a nových poznatků Světová zdravotnická organizace (World Health Organization -WHO) vytvořila pracovní skupinu, která vznikla v roce 1973, byla popsána první klasifikace plicní hypertenze (13). V roce 1981 Národní institut zdraví (NIH) zorganizoval multicentrický prospektivní registr primární plicní hypertenze. Do tohoto registru bylo zařazeno celkem 187 pacientů z 32 center v období 1981 až 1985. Tato studie prokázala, že průměrný věk nemocných byl 36.4 let v době stanovení diagnózy, více byly postiženy ženy než muži v poměru 1.7:1 s mediánem přežívání 2.8 roků od stanovení diagnózy (14).

V roce 1998 ve francouzském městě Evian proběhlo 2. Světové symposium týkající se problematiky plicní hypertenze, které klasifikovalo plicní hypertenzi na primární nebo sekundární (15).

Sympóziu WHO v Dana Point v roce 2008, které prozatím bylo poslední rozdělilo 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 (Tabulka 1) (16,17).

Plicní hypertenzi lze klasifikovat dle výsledků hemodynamického vyšetření. Při pravostranné katetrizaci lze změřit současně tlak v plicnici a v zaklíněné plicnici a stanovit minutový objem srdeční. Důležitým parametrem pro posouzení typu PH je tzv. transpulmonální gradient (TPG) – tj. rozdíl středního tlaku v plicnici a středního tlaku v zaklínění. Jeho normální hodnota je do 10 mmHg. Plicní vaskulární rezistence (PVR) je podílem TPG a minutového objemu srdečního.

Podle výsledků hemodynamického vyšetření lze PH dělit podrobněji na: a) prekapilární, způsobenou zvýšením plicní cévní rezistence (tj. je zvýšen TPG a tlak v zaklínění je normální), b) postkapilární (pasivní), vyvolanou přenesením zvýšených tlaků z

levé síně nebo z levé komory zpět do plic (tj. TPG je normální a tlak v zaklínění je zvýšený),
c) smíšenou, která je charakterizována jak zvýšením tlaku v zaklínění, tak i zvýšením plicní cévní rezistence (tj. TPG i tlak v zaklínění jsou zvýšené). Existuje také hyperkinetická PH při vysokém průtoku krve plicemi u vrozených vad srdečních s levo-pravým zkratem, která nebývá velká. Výjimkou jsou stavy, kde již dojde k ireverzibilnímu poškození cévního řečiště s vysokou plicní vaskulární rezistencí (Eisenmengerův syndrom).

Plicní hypertenze patofyziologické poznámky

Pokud se týká mechanismu vzniku plicní hypertenze, je v současné době nejvíce poznatků o vzniku plicní vazokonstrikce u hypoxie, která se považuje za nejdůležitější funkční změnu při vzniku plicní hypertenze (18). 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. Zároveň dochází ke ztluštění svaloviny medie. V adventicii proliferují fibroblasty, jež migrují do vnitřních vrstev tepenné stěny, vzniká subintimální proliferace vaziva. Plicní tepny jsou v důsledku toho tuhé, málo elastické, se ztluštělou stěnou a zúženým lumen. Hypertenzní plicní cévní změny vedou k dalšímu zvýšení plicního cévního odporu, plicní hypertenze se dále zvyšuje (19). Ta vede již uvedeným bludným kruhem k další remodelaci plicních tepen. Vznikají nekrotizující arteritidy. V plicní periférii dochází také k novotvorbě cévních útvarů, tzv. plexiformních lézí, které jsou charakteristické pro těžkou plicní hypertenzi (11,19,20).

Prvotní podněty remodelace mohou být mechanické (stres cévní stěny), nebo humorální (mediátory zánětu). Na tyto podněty reaguje endotel plicních cév a produkuje nadměrně látky s vazokonstrikčním účinkem a růstové faktory - např. endotelin-1, tromboxan a destičkový růstový faktor (PDGF). Tyto působky vedou nejen k vazokonstrikci, ale stimulují pravděpodobně i remodelaci cév (19).

Opačným způsobem účinkují vazodilatační působky jako oxid dusnatý (NO) a prostacyklin. U plicní hypertenze vzniká porucha rovnováhy mezi prostacyklinem a tromboxanem ve prospěch tromboxanu (19). Koncentrace metabolitů prostacyklinu (6-

ketoprostacyklin $F_{2\alpha}$) jsou v moči sníženy a koncentrace metabolitu tromboxanu v moči (tromboxan B_2) zvýšeny (19). Snížena je také tvorba prostacyklin syntázy v malých a středních plicních tepnách (21). Dochází k převaze vazokonstrikčních látek a proliferaci (19).

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 NO. NO 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. NO tvořený v ednotelu, 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 (22).

V pokročilých fázích plicní arteriální hypertenze lze nalézt snížení exprese endoteliální isoformy NO syntázy ve tkáni plicních cév (23), zvýšené koncentrace plasmatického serotoninu a snížený obsah serotoninu v krevních destičkách. Nedávno byly zjištěny mutace 2B receptorů serotoninového transportéru 5-hydroxytryptaminu (5-HT_{2B})(24).

Další vazodilatátor vazoaktivní intestinální peptid, který je současně inhibitorem destiček a inhibitorem proliferace buněk je snížen v séru a plicích pacientů s plicní arteriální hypertenzí (25).

Poškození cévní stěny dysfunkce vede také ke zvýšení adhezivity trombocytů. Hladina von Willebrandova faktoru, PAI-1 a tPA jsou u nemocných s plicní arteriální hypertenzí zvýšeny. Kromě aktivace destiček se tromboxan, serotonin a PDGF β uvolňují ve zvýšené

míře. Sérum nemocných s plicní arteriální hypertenzí vykazuje zvýšené hodnoty některých cytokinů, např. IL-1 a IL-6 a zvýšenou hladinu trombomodulinu. Dochází ke snížení trombolytické aktivity a převaze prokoagulační aktivity (26).

Trombotické změny jsou důsledkem remodelace a samy ji podporují. Aktivita trombinu stimuluje růst fibroblastů i buněk hladkého svalstva. Současně stimuluje tvorbu vazokonstrikčních působků, např. tromboxanu. Také z destiček se uvolňují vazokonstrikční působky a současně růstové faktory působící na endoteliální buňky, buňky hladké svaloviny i fibroblasty. Tak se remodelace a trombóza bludným kruhem navzájem ovlivňují a společně zhoršují plicní hypertenzi (19).

Z vazokonstrikčních působků stojí zvláště za zmínku endotelin-1 (27). Ten je mocným vazokonstriktorem a stimuluje také proliferaci hladkého svalstva plicních tepen. Plazmatická koncentrace endotelinu-1 je u PAH zvýšena a nepřímě koreluje s velikostí plicního krevního průtoku a minutovým srdečním výdejem. Koncentrace endotelinu korelují se závažností plicní hypertenze (28) a dokonce i s prognózou (27,28).

Endotelin stimuluje neutrofilů a žírné buňky. Stimuluje také tvorbu cytokinů. Je zajímavé, že v plexiformních lezích lze zjistit zvýšenou expresi ET receptorů. Endotelin je jedním z hlavních mediátorů plicní hypertenze. Působí vazokonstrikci, hypertrofii a proliferaci buněk hladkého svalstva (27). Vede k dysfunkci a proliferaci endoteliálních buněk. Endotelin podporuje růst fibroblastů a tím i vznik fibrózy a vykazuje prozánětlivé působení, projevující se uvolněním cytokinů a zvýšením permeability cévní stěny. V experimentu vede chronické zvýšení exprese ET k plicnímu zánětu a vede také k plicní fibróze (29).

Chronické poškození plicních cév vede k plicní hypertenzi (30). 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. Účinného snížení plicní cévní rezistence může být dosaženo pouze tehdy je-li identifikováno místo zvýšeného odporu. Tedy, jestli je příčinou levostranné srdeční selhání se sekundárním zvýšením tlaků v levé síni, léčba tohoto selhání bude snižovat tlak v plicnici. Jestliže je příčinou plicní hypertenze snížení celkového průřezu plicního cévního řečiště podávají se léky s vasodilatačním účinkem.

Plicní arteriální hypertenze je charakterizována progresivním vzestupem PVR vedoucí k dysfunkci a selhání pravé komory srdeční a nakonec k úmrtí. V terapii plicní arteriální hypertenzi došlo v posledním desetiletí k výraznému pokroku. Tento pokrok byl umožněn díky novým možnostem léčby, které byly ověřeny řadou randomizovaných kontrolovaných studií (RKS). V 80. letech minulého bylo ve snaze o ovlivnění PAH testováno mnoho vazodilatátorů. Ukázalo se, že účinku dosahují pouze vysoké dávky blokátorů kalciových kanálů (CCB), a že z léčby profitoval pouze malý počet pacientů. Byli to nemocní – respondeři, u kterých byla prokázána plicní vazoreaktivita při akutním testování. Antikoagulační léčba byla doporučována na základě retrospektivního sledování. Hlavním pilířem léčby se v 90. letech stala terapie epoprostenolem, která byla potvrzena ve 3 nezaslepených RKS. Ve stejném období byly prezentovány nekontrolované studie s atriální septostomií a transplantací plic. Díky RKS z posledního období máme nová farmaka, kterými můžeme ovlivnit nejen symptomy plicní arteriální hypertenze, ale také prognózu těchto závažně nemocných pacientů.

Akutní test plicní vazoreaktivity

Nemocní s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí (dříve používán termín primární plicní hypertenze), kteří mají pozitivní akutní plicní vazodilatační test, profitují z léčby CCB. V minulosti byla ke zjištění plicní vazoreaktivity podávána různá vazodilatancia a k určení pozitivita testu byly používány různé definice. Pacient býval označován jako respondér. V současnosti je definována pozitivita testu poklesem středního tlaku v plicnici (mPAP) o 10 mmHg či pokles mPAP \geq 40 mmHg se vzestupem či nezměněnou hodnotou minutového srdečního výdeje. Stěžejní práci s akutním testováním plicní vazoreaktivity publikoval roce 1992 Rich (31) u 64 pacientů s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí, kterým byly podávány CCB. Pozitivní test byl hodnocen při poklesu mPAP a PVR o 20 %. Respondéři byli následně léčeni vysokými dávkami CCB a tato skupina dosáhla 94% přežívání po 5 letech. Je nutné zdůraznit, že akutní testování s CCB může vést ke zhoršení klinického a hemodynamického stavu u pacienta, který na terapii neodpovídá a kdy se prodlužuje biologický poločas CCB. Po několika závažných nežádoucích příhodách při testování PAH pomocí CCB byl další vývoj zaměřen na podávání krátkodobě působících vazodilatátorů. Plicní vazoreaktivita u nemocných s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí byla již v roce 1993 testována i.v. epoprostenolem (32). Zahajovací dávka byla 1 ng/kg/min, další zvyšování dávky bylo o 1–2 ng/kg/min každých 5–15 min do maximální dávky 12 ng/kg/min. Pokles PVR o 30 % a pokles mPAP o 10 % byl hodnocen jako pozitivní. Teprve tito nemocní byli dále dlouhodobě léčeni CCB. Dalším lékem užívaným pro akutní testování je adenosin. Lék způsobuje koronární vazodilataci, pokles systémové vaskulární rezistence (SVR) a relaxaci hladkých svalových buněk, včetně plicních arterií. Adenosin i.v. byl podáván při akutním testování v dávce 50 μ g/kg/min, po 2 minutách zvyšovali dávku o 50 μ g/kg/min až do maximální dávky 500 μ g/kg/min. Následně byla plicní reaktivita testována nifedipinem. Tam kde nebyla zjištěna reaktivita po intravenózním podání adenosinu, nebyla přítomna ani po

podání nifedipinu (33). Vzhledem k tomu, že podávání epoprostenolu i adenzinu vede k poklesu SVR a systémové hypotenzi, hledají se selektivnější vazodilatancia pro plicní řečiště. Reverzibilita plicní hypertenze byla testována oxidem dusnatým v souboru u 33 pacientů s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí (dávka 10 ppm; ppm = parts per milion). Pozitivní test byl hodnocen poklesem mPAP a PVR o 20 %. 10 nemocných mělo pozitivní test a 9 z nich byl podán akutně CCB bez komplikací. V případech, kde nebyla prokázána plicní reaktivita po podání kysličníku dusnatého, nebyl pozitivní test ani po podání CCB (34). Byli porovnávány hemodynamické parametry při akutním testování inhalačním iloprostem, kyslík, i.v. epoprostenol a i.v. iloprost. Podávání epoprostenolu a i.v. iloprostu přineslo podobné hemodynamické výsledky. Inhalačním iloprostem byla potvrzena selektivita pro plicní řečiště a došlo k poklesu PVR i PAP, aniž byla ovlivněna SVR. Tato studie prokázala, že jak inhalační iloprost, tak i.v. podávání epoprostenolu nebo inhalace kysličníku dusnatého predikují pozitivní odpověď na podávání CCB (35).

Blokátory kalciových kanálů

Výsledky prospektivní nerandomizované studie s použitím vysokých dávek CCB u pacientů s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí prokázala, že přežívání responderů po 3 a 5 letech dosahovalo 94 % a u nonresponderů činilo přežívání 47 % a 38 % (31). RKS s použitím CCB k léčbě idiopatické plicní arteriální hypertenze nebyly provedeny. Z CCB je nejčastěji užíván nifedipin (retardovaný) nebo diltiazem (retardovaný). Podávají se vysoké denní dávky, nifedipin 120–240 mg/den a diltiazem 240–720 mg/den. Hlavní limitací léčby je systémová hypotenze a perimaleolární otoky dolních končetin. Méně než 10% nemocných s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí jsou respondéři, kteří mohou být léčeni CCB (36).

Antikoagulační terapie

U nemocných s plicní arteriální hypertenzí bylo prokázáno zvýšené riziko tromboembolizmu nebo trombóz in situ (37). Ke snížení tohoto rizika se doporučuje

antikoagulační léčba perorálními antikoagulancií s cílovými hodnotami INR 1,5–2,5. Kontroverzní je antikoagulační terapie u nemocných se systémovým onemocněním a vrozenými srdečními vadami. U sklerodermie je zvýšené riziko krvácení do gastrointestinálního traktu, u vrozených srdečních vad riziko hemoptýzy. V recentních RKS byla antikoagulační léčba podávána u 51–86 % pacientů, kteří byli zařazeni do studie – nejčastěji u nemocných s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí ve stadiu NYHA III–IV, nejméně často u pacientů se sklerodermií.

Diuretika

Diuretika jsou indikována především u manifestního pravostranného srdečního selhání. Podle registrů RKS jsou podávána u 49–70 % nemocných. Není přitom specifikována dávka ani skupina diuretik; jedná se o symptomatickou léčbu.

Balonková atriální septostomie

Princip této metody spočívá v tom, že je v oblasti mezisíňového septa provedena dilatace speciálním balonkem tak, aby byla vytvořena komunikace mezi oběma síněmi. To vede k okamžitému poklesu tlaku v pravé síni, zvýšení minutového výdeje a krátkodobému zlepšení tolerance zátěže. V pozdější době dochází k progresi srdečního selhání díky enormní zátěži levé srdeční komory. Balonková septostomie se proto v současné době používá jen jako metoda k překonání časového intervalu do transplantace plíce/plic. Vzhledem k tomu, že je výkon provázen mortalitou okolo 16 % a 1roční přežívání je menší než 40 % (38), nebývá ve vyspělých zemích často indikována.

Transplantace plic

První kombinovaná transplantace srdce a plic byla provedena u pacienta s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí. Výsledky tohoto náročného postupu však nejsou povzbuzující. Proto bývají v současnosti indikováni pouze pacienti s dysfunkcí pravé komory srdeční. Hlavní terapeutickou metodou se proto stala transplantace jedné plíce, popřípadě obou plic. I

tato metoda má své limitace, a to nejen v mediánu čekací doby na listině kandidátů transplantace (průměrně 256 dnů), ale především díky omezenému přežívání po transplantaci. Dlouhodobé přežívání je horší než po transplantaci srdce, jater nebo ledviny, a dosahuje 70 %, 62 % a 55 % po 1, 2 resp. 3 letech (39).

Syntetický prostacyklin a jeho analoga

Prostacyklin je endogenní prostaglandin, který má kromě vazodilatačního účinku také cytoprotektivní vliv, snižuje adhezi leukocytů k cévní stěně, inhibuje agregaci destiček, snižuje tvorbu a sekreci endotelinu a vede k inhibici migrace a proliferace buněk. Kontinuální intravenózní aplikace syntetického epoprostenolu vede ke zlepšení hemodynamiky, tolerance zátěže a zlepšení přežívání u nemocných s velmi závažnou plicní hypertenzí ve stadiu NYHA III–IV, kteří neodpovídali na konzervativní terapii (40). Dlouhodobé sledování nemocných ukázalo 5leté přežívání v 65 %. Tento výsledek je lepší než u transplantace plíce, kde se 5leté přežívání se pohybuje kolem 50 % (41). Účinek i.v. epoprostenolu byl potvrzen 3 nezaslepenými kontrolovanými studiemi u nemocných s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí (40,42) a plicní hypertenzí sdruženou s sklerodermií (43). Vzhledem ke krátkému biologickému poločasu (3–5 min) je nutná trvalá kontinuální infuze, která je provázena řadou nežádoucích účinků. Patří mezi ně lokální celulitida, vznik septikemie, artralgie, pokles systémového tlaku a v neposlední řadě i tachyfylaxe. Proto byli vyvinuty alternativní formy aplikace, které využívají stabilních analogů prostacyklinu. Treprostinil je jeden z nich, s biologickým poločasem okolo 3 hod. Hypotéza, že účinek treprostinilu je podobný jako i.v. podávání epoprostenolu byla potvrzena při akutním hemodynamické testování (44). Největší RKS kontrolovaná placebem u nemocných s plicní arteriální hypertenzí byla provedena koncem 90. let v Severní Americe a 16 centech v Evropě, Austrálii a Izraeli (45). Do této studie bylo zařazeno 469 pacientů s vysokou hodnotou plicní rezistence na podkladě idiopatické plicní arteriální hypertenze a plicní hypertenze se systémovým onemocněním

pojiva a vrozených srdečních vad. Výsledky prokázaly zvýšení tolerance zátěže, zlepšení symptomů a příznivé ovlivnění hemodynamiky. Nebyly prokázány žádné významné rozdíly v nežádoucích účincích mezi treprostinilem a placebem. Beraprost sodný je první chemicky stabilní analog prostacyklinu k perorální aplikaci (46). Vstřebává se velmi rychle, za 30 min se objevuje vrcholná koncentrace a jeho biologický poločas je 35–40 min (47). V Japonsku byl beraprost podáván nemocným s plicní arteriální hypertenzí již od roku 1995. První nekontrolované studie (46,48) byly velmi nadějně, došlo ke zlepšení hemodynamických parametrů. Výsledky retrospektivní studie nemocných s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí, kteří byli sledováni po dobu 3 le prokázaly, že přežívání nemocných po 3 letech dosahovalo 76 % ve skupině léčené beraprostem versus 44 % pacientů léčených konvenční léčbou (49). Následně byly provedeny 2 RKS v Evropě (50) a v USA (51). V první studii došlo po 3 měsících ke zlepšení tolerance zátěže. Druhá studie potvrdila tyto výsledky i po 6 měsících, nedošlo však ke zlepšení hemodynamických parametrů v malém oběhu. Iloprost je chemicky stabilní analog prostacyklinu, aplikovatelný 3 možnými cestami: intravenózně, perorálně i inhalačně (ve formě aerosolu). Biologický poločas je 20–25 min (52). Zejména inhalační forma je atraktivní pro dlouhodobou léčbu. Akutní inhalace iloprostu u nemocných s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí má větší vazodilatační efekt na plicní řečiště než inhalační podávání kysličníku dusnatého (53). Podává se obvykle 6–9krát denně. V mezinárodní multicentrické RKS, do které bylo zařazeno 203 pacientů s plicní arteriální hypertenzí, bylo prokázáno zlepšení tolerance zátěže, zmírnění symptomů a u nemocných s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí pokles PVR (54).

Léčba inhibitory endotelinových receptorů je zdůvodněna nálezy, které zjistily, že

- a) plasmatické koncentrace endotelinu jsou zvýšeny u plicní arteriální hypertenze, plicní fibrózy a chorob pojiva (např. systémové sklerózy),
- b) koncentrace endotelinu korelují se závažností plicní hypertenze a dokonce i s

prognózou plicní hypertenze,

c) endotelinové receptory jsou přítomny ve zvýšené míře v plicích pacientů s plicní hypertenzí

Terapie neselektivním antagonistou receptorů pro endotelin-1 bosentanem je proto vítaným způsobem léčby plicní arteriální hypertenze. Je antagonistou endotelinových receptorů ET_A i ET_B .

Efekt bosentanu byl studován v řadě RKS, z nichž největší byla studie BREATHE-1(55). Bylo do ní zařazeno 213 pacientů s idiopatickou PAH a PAH při systémovém onemocnění. Podávání bosentanu vedlo ke zvýšení tolerance zátěže, zmírnění dušnosti a zlepšení celkové kvality života. Lék byl dobře tolerován

Oxid dusnatý

Oxid dusnatý je nestabilní radikál, který existuje přednostně v plynné formě. Je endogenně produkován v téměř všech savčích tkáních a hraje celou řadu důležitých biologických úloh, zejména v regulaci hemodynamiky, v zánětu a v neurotransmisí (56,57,58). NO je syntetizován z L-argininu a molekulárního kyslíku za vzniku L-citrulinu (59). Reakce je katalyzována komplexním enzymem, zvaným NO syntáza (60). Intracelulárním druhým poslem, zprostředkujícím vazodilatační účinek oxidu dusnatého, je guanosin 3',5' cyklický monofosfát.

Arginin je esenciální aminokyselina v době vývoje v dětském věku, v dospělosti je postradatelná. Podle chemického charakteru jejího postranního řetězce je řadíme mezi bazické aminokyseliny s elektrickým nábojem na postranním řetězci, který se podílí na elektrostatických interakcích. Arginin má silně bazickou guanidilovou skupinu, je to nejsilnější organická báze, srovnatelná s bazickou skupinou NaOH. Nese kladný náboj v celé oblasti stability většiny bílkovin. Arginin obsahuje asymetrický atom uhlíku, existuje proto ve dvou enantiomerních konfiguracích-D a L, v bílkovinách se vyskytuje pouze L-forma.

Biosyntéza argininu je součástí močovinového cyklu, arginin se hydrolyticky štěpí na ornitin a ureu. Arginin tvoří protipol kyselých funkčních skupin pro tvorbu solných můstků a pro vazbu anionů. Váže také kovalentně karbonylové skupiny formou Schiffových bazí. Arginin je intermediárním metabolitem ureosyntetického cyklu, nepřímo souvisí s citrátovým cyklem a oxidačními ději při získávání energie. Arginin je esenciální pro optimální buněčný růst in vitro, je prekurzorem biosyntézy polyamidů, které jsou nezbytné pro proliferaci lymfocytů. Fyziologicky v plazmě jen ve stopách. Zvýšený je při poruše metabolismu z deficitu arginázy, dále u lysinové intolerance a diabazické acidurii. Spolu s cysteinem a ornitinem typická triáda pro klasickou cystinurii.

Biosyntéza argininu je součástí močovinového cyklu, prekurzorem je ornitin. Karbamoylfosfát spolu s ornitinem tvoří citrulin, citrulin reaguje s aspartátem (katalýza argininosukcinátsyntetázy) za vzniku argininosukcinátu. Argininosukcinát se štěpí na arginin a fumarát. Fumarát vstupuje do citrátového cyklu, umožňuje spojení močovinového a citrátového cyklu (obr 2).

Arginin patří do skupiny glutamátové nebo α -ketoglutarátové skupiny. Arginázou je štěpen na ornitin a izoureu, izourea se spontánně přesmykne na ureu a ornitin je přes glutamát-5-semialdehyd odbourán na glutamát. Glutamát je oxidační deaminací přeměněn na 2-oxoglutarát. 2-oxoglutarát vstupuje do citrátového cyklu jako konečný produkt odbourávání argininu (61,62).

V experimentu, L-arginin jako prekurzor NO, snižuje hypoxickou plicní hypertenzi a hypertrofii pravé komory (63).

Jak již bylo uvedeno druhým poslem v regulaci vazodilatace je cyklický GMP, který navodí relaxaci hladké svaloviny. Zvýšit nabídku cyklického GMP lze stimulací (např. nitráty, event. blokátory kalciového kanálu) či nyní nověji blokadou degradace pomocí inhibitorů fosfodiesterázy. Sildenafil je silný selektivní inhibitor fosfodiesterázy 5, tedy

enzymu, který je zodpovědný za degradaci cyklický guanosin monofosfát. Enzym fosfodiesteráza 5 je kromě kavernózního tělíska v penisu přítomen i ve svalovině plicních cév. Inhibice fosfodiesterázy -5 vede k redukci hydrolytické degradace cyklického GMP a ke zvýšení jeho koncentrace v buňkách hladkého svalstva ve stěně plicních cév. Důsledkem je aktivace cyklické GMP-kinázy, aktivace draslíkových kanálů a inhibice vápníkových kanálů s výsledným poklesem koncentrace nitrobuněčného kalcia, vedoucím k vazodilataci. Vedle vazodilatačního působení má sildenafil pravděpodobně rovněž účinky antiproliferační. Sildenafil u pacientů s plicní arteriální hypertenzí snižuje tlak v plicnici a toleranci zátěže (64).

V současné době můžeme ovlivňovat plicní hypertenzi třemi patofyziologickými cestami (obr1).

Hypotéza a cíle práce

Cílem práce bylo zhodnotit možnosti farmakologické reverzibility plicní hypertenze. Vycházeli jsme z hypotézy, že podání prekursoru NO (L- argininu) zvýrazní terapeutické účinky inhibitoru fosfodiesterazy 5 (sildenafilu).

Proto jsme v prvním projektu ověřili, zda sildenafil sníží vaskulární rezistenci u plicní hypertenze při onemocnění levého srdce (tedy s výraznou prekapilární složkou) a zda budou účinky sildenafilu omezeny na plicní řečiště.

V druhém projektu jsme pak testovali, zda kombinace L-arginin – sildenafil sníží tlak v plicnici a stupeň remodelace plicních cév u experimentálního modelu plicní hypertenze (hypoxická plicní hypertenze) více než jednotlivé složky této kombinace.

Klinická část

Jako přílohu uvádíme plnou verzi práce, která bude publikována v časopise
Physiological Research 2011, Volume 60, Issue 2.

Physiological Research Pre-Press Article

Section

Clinical investigations

Title

Sildenafil is more selective pulmonary vasodilator than prostaglandin E₁ in patients with pulmonary hypertension due to heart failure

Abbreviated title

Al-Hiti et al.: Sildenafil and PGE₁ in CHF

Authors

Hikmet Al-Hiti, MD, Vojtech Melenovsky, MD, PhD, Petr Syrovatka, MD, Jiri Kettner, MD, PhD, Ivan Malek, MD, PhD and Josef Kautzner, MD, PhD

Affiliation

Department of Cardiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine – IKEM, Prague, Czech Republic

Corresponding author

Hikmet Al-Hiti, MD
Department of Cardiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine - IKEM
Videnska 1958/9, Prague 4, 140 21, Czech Republic
hial@ikem.cz, phone: 420-261-365-100

Disclosures and relationship to industry: None.

Word count (total): 3239

Summary

In some patients, heart failure (HF) is associated with increased pulmonary vascular resistance (PVR). The magnitude and the reversibility of PVR elevation affect the HF management. Sildenafil has been recently recognized as potent PVR-lowering drug in HF. The aim of the study was to compare hemodynamic effects and pulmonary selectivity of sildenafil to prostaglandin E₁ (PGE₁). Right-heart catheterization was performed in 13 euvoletic advanced HF patients with elevated PVR (6.3 ± 2 Wood's units). Hemodynamic parameters were measured at the baseline, during i.v. infusion of PGE₁ (alprostadil $200 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) and after 40 mg oral dose of sildenafil. Both drugs similarly reduced systemic vascular resistance (SVR), but sildenafil had higher effect on PVR (-28% vs. -49%, $p=0.05$) and transpulmonary pressure gradient than PGE₁. The PVR/SVR ratio – an index of pulmonary selectivity, did not change after PGE₁ ($p=0.7$) but it decreased by -32% ($p=0.004$) after sildenafil. Both drugs similarly reduced pulmonary artery mean and wedge pressures and increased cardiac index (+27% and +28%). Sildenafil led more often to transplant-acceptable PVR while causing smaller drop of mean systemic pressure than PGE₁. In conclusion, vasodilatory effects of sildenafil in patients with heart failure are more pronounced in pulmonary than in systemic circulation.

Key words:

heart failure; pulmonary vascular resistance; hemodynamics; sildenafil; prostaglandin E₁;

Introduction

Some patients with advanced heart failure (HF) develop pre-capillary pulmonary hypertension (PH) that adversely affects right ventricular function (Ghio et al. 2001), exercise capacity (Lewis et al. 2007) and prognosis (Di Salvo et al. 1995). The increase of PVR may occur due to structural remodeling of pulmonary vasculature, leading to “fixed”, irreversible component of PVR. More frequently, elevated PVR results from vasomotor imbalance in pulmonary vascular territory that is partly reversible by hemodynamic unloading or by administration of vasodilators, such as nitrates or prostacyclin analogues. The magnitude of PVR increase and its reversibility with a vasodilator provide crucial information for management of patients with advanced HF (Costard-Jackle et al. 1992; Murali et al. 1992). Increased PVR, particularly if not reversible with vasodilator challenge, predicts poor heart transplant outcome, mainly due to high risk of postoperative failure of the graft right ventricle that is suddenly exposed to vascular bed with elevated resistance (Murali et al. 1993).

Attenuated sensitivity to endogenous cGMP-dependent vasodilators is increasingly recognized as one of the key mechanisms of PVR elevation (Melenovsky et al. 2009). Intracellular cGMP is catabolized by cGMP-selective phosphodiesterase 5A (PDE5A), an enzyme that is highly abundant in the lung tissue (Kass et al. 2007). Inhibitors of PDE5A, like sildenafil, induce marked pulmonary vasodilatory response in pulmonary arterial hypertension. In patients and experimental animals with HF, pulmonary tissue-PDE5A activity is further upregulated (Forfia et al. 2007) and therefore pulmonary circulation may be even more susceptible to PDE5 inhibition than systemic circulation. The goal of the study was to compare the effects of sildenafil to a standard vasodilator, routinely used in patients with HF and increased PVR for hemodynamic testing. We hypothesized that acute inhibition of PDE5A with sildenafil is expected to provide more selective pulmonary vasodilatation, than administration of high-dose of prostaglandin E₁ (PGE₁).

Methods

The study group consisted of HF patients considered for heart transplantation, but with severe pre-capillary pulmonary hypertension indicated to testing of PVR reversibility (transpulmonary pressure gradient >15 mmHg or PVR>3 w.u. in euvoletic state). Written informed consent was obtained from all subjects and the protocol was approved by the ethics committee of IKEM. Catheterization was performed via right internal jugular vein with 7F balloon-tipped pulmonary artery (PA) catheter (Corodyn, Braun AG, Germany) and bedside hemodynamic monitor (Solar 8000, GE, USA). All patients were in fasted state (>6 hours); breathed room air during the procedure and none was hypoxemic (O₂ saturation <90% by pulse oxymetry). Catheter position was optimized under fluoroscopic guidance. Cardiac output was measured by thermodilution and at least three measurements were averaged. Systemic blood pressure was measured with oscillometric cuff on the left arm. Hemodynamic parameters were measured after 20 minutes of rest (baseline) and after 5 minutes of continuous infusion of PGE₁ (alprostadil-Alprostan, Leciva, Czech Republic, infusion rate 200 ng·kg⁻¹·min⁻¹) into the central vein. After a 30minute washout period, an oral dose of sildenafil (Revatio, Pfizer, USA, dose 40 mg) was administered and measurements were repeated 1 hour later. Pulmonary vascular resistance (PVR) was calculated as transpulmonary pressure gradient (mean PA pressure – mean PA wedge pressure) divided by cardiac output and expressed as Wood's units (w.u.). Pulmonary selectivity was quantified as the ratio of pulmonary to systemic vascular resistance (PVR/SVR). Transplantation-acceptable values were defined as transpulmonary pressure gradient ≤ 15 mmHg and PVR ≤ 3 w.u. All values are expressed as mean±SD. Drug-induced changes from baseline were compared with paired t-tests. A p-value of < 0.05 was considered as significant.

Results

The protocol included 13 subjects with symptomatic advanced HF, predominantly due to coronary artery disease. Clinical characteristics are summarized in the table 1. In medical history, 46% of subjects had diabetes, 23% had previous cardiac surgery and 54% received implantable defibrillator device. One subject had permanent atrial fibrillation. Diuretics and beta-blocking agents were administered in 100% of patients, angiotensin-converting enzyme or angiotensin-receptor inhibitors in 84%, aldosterone receptor antagonists in 77%, statins in 46%, digoxin in 23% and low-dose dobutamine in 31%. Hemodynamic parameters at baseline and after administration of both drugs are summarized in the table 2. All subjects had significant pre-capillary hypertension and were euvolemic. Baseline PVR positively correlated with systemic vascular resistance ($r=0.86$) and negatively with cardiac output ($r=-0.67$).

Administration of prostaglandin E₁ led to a significant reduction of PVR (-28%) and systemic vascular resistance (-30%), mean PA pressure, PA wedged pressure, with a simultaneous increase in cardiac index and stroke volume. There was only a trend in the reduction of transpulmonary gradient (-10%, $p=0.08$). The ratio of pulmonary to systemic vascular resistance (PVR/SVR ratio) did not change with PGE₁ infusion (from 0.27 ± 0.06 to 0.28 ± 0.08 , $p=0.6$), indicating that PVR decreased proportionally to SVR reduction. After infusion of PGE₁, 31% of patients had transplantation-acceptable values of transpulmonary gradient and PVR. All subjects tolerated full PGE₁ dose.

Administration of 40 mg of sildenafil reduced PVR (-49%), transpulmonary pressure gradient (-36%), mean PA pressure, PA wedged pressure, systemic vascular resistance (-26%), increased cardiac index and stroke volume. PVR/SVR ratio decreased by 32% (from 0.27 ± 0.06 to 0.19 ± 0.08 $p=0.0008$, figure 2), indicating that sildenafil-induced PVR reduction was disproportionately larger than the reduction of SVR. Transplantation-acceptable values of transpulmonary gradient and PVR were attained in 69 % of patients.

Individual responses of PVR and transpulmonary pressure gradient after both interventions are summarized in figure 1 (left). The response to sildenafil was more homogenous than to PGE₁. The only person with no reduction of PVR after sildenafil had also minimal response to PGE₁. The person was treated with biventricular mechanical support to lower PVR, but unfortunately died from bleeding and postoperative right heart failure soon after heart transplantation. The reduction of PVR or transpulmonary pressure gradient after sildenafil reasonably correlated with PGE₁-induced changes, i.e. poor responders to PGE₁ also poorly responded to sildenafil (figure 1 — right panels). Sildenafil-induced change of PVR, transpulmonary pressure gradient and mean systemic blood pressure were on average significantly larger than PGE₁-induced effects. Both drugs also significantly differed in change of the PVR/SVR ratio ($p=0.001$), demonstrating a higher vasodilatory selectivity of sildenafil in pulmonary circulation (figure 2).

Discussion

The principal finding of the study is that sildenafil produces larger dilatation in pulmonary than in systemic vascular territory, while the effects of PGE₁ are proportional in both vascular beds. Although the mechanisms underlying enhanced responsiveness of pulmonary vessels to sildenafil are not yet precisely delineated in patients with HF, they might be linked to higher PDE5A expression in the pulmonary than in systemic resistance arterioles. High PDE5A activity leads to desensitization of vascular wall to endogenous cGMP-dependent vasodilators, namely nitric oxide and natriuretic peptides (Forfia P et al. 2007). It has been recently shown that HF patients with high PVR have attenuated transpulmonary cGMP release that can be restored by sildenafil administration (Melenovsky et al. 2009). By acting more downstream, PDE5A inhibition induces larger pulmonary vasodilatation than provision of nitric oxide itself. Therefore, nitroglycerine or nitroprusside that have only minimal effect (< 10%) on PVR/SVR ratio (Murali et al. 1991). Higher reduction of PVR than of SVR with sildenafil in HF patients has been noticed before (Allaeddini et al. 2004, Al-Hesayen et al. 2006), but our study is the first to compare sildenafil with other vasodilator.

Conversely, PGE₁ leads to less selective vasodilatation with only minimal change of PVR/SVR ratio and is associated with larger tendency to induce systemic hypotension. Alprostadil (PGE₁) and other prostacyclin analogues are largely degraded during first passage through pulmonary circulation, but some degradation products (PGE₀) also have vasodilatory properties. If administered in high dose, prostacyclin analogues and active metabolites spill over into systemic circulation and often produce systemic hypotension (Radovancevic et al. 2005, von Scheidt et al. 2006) with unwanted sympathetic activation (Montalescot et al. 1998).

The study has several relevant clinical implications for pathophysiology and therapy of HF. If PVR elevation in chronic HF patients is not reversible by a vasodilator, the risk of acute right heart failure of transplanted graft is very high (Costard-Jackle et al. 1992). On the other hand,

patients with reversible PVR elevation have similar post-transplant outcomes as low PVR patients (Klotz et al. 2003). In our study, sildenafil showed superior ability than PGE₁ to unmask the reversible component of PH. Almost $\frac{3}{4}$ (73%) of patients reached a satisfactory reduction of the transpulmonary gradient, in contrast to only 31% after PGE₁. Therefore, hemodynamic testing of heart transplantation candidates using sildenafil seems to be a promising alternative to testing with PGE₁, particularly with an intravenous formulation (Al Hasayen et al. 2006). The responders could be then treated orally for the long-term, as the benefits of sildenafil on pulmonary hemodynamics seem to persist, without drug tolerance development (Lewis et al. 2007, Guazzi et al. 2007).

In chronic HF, an increased PVR due to precapillary pulmonary vasoconstriction is partly an adaptive mechanism preventing pulmonary congestion. In volume-overloaded HF patients, extensive and selective pulmonary vasodilatation (for example with inhaled nitric oxide) can increase pulmonary capillary pressure and trigger pulmonary edema (Loh E et al. 1994). Interestingly, this was not observed in our study – the average PA wedge pressure dropped after sildenafil, despite substantial pulmonary vasodilatation. This may be explained by simultaneous increase of diastolic left ventricular compliance, by an increase of stroke volume from LV afterload reduction or by attenuated interventricular diastolic interaction from unloading of the right ventricle (Morris-Thurgood et al. 2000). Increased cardiac contractility could also theoretically contribute to stroke volume augmentation, but only neutral (Lepore et al. 2005) or negative (Borlaug et al. 2005) effects on left ventricular inotropy are previously reported for sildenafil. In several short-term studies, sildenafil improved hemodynamics, quality of life and exercise tolerance (Guazzi et al. 2007) in HF patients, but the long-term safety of PDE5A inhibition in general HF population still needs to be carefully tested.

The study has several limitations. The number of studied subjects is relatively small. Due to long plasma half-life of sildenafil (3-5 hours) compared to alprostadil (5-10 minutes), the administration of drugs was not in a random order. However, both administrations were separated

by 90 minutes, which provided enough time for washout. Third, the infusion of PGE₁ was not titrated to maximally-tolerated dose and this may affect the rate of PVR reversibility compared to other reports (von Scheidt et al. 2006).

In conclusion, the study demonstrated that the vasodilatory effects of sildenafil are more pronounced in pulmonary than in systemic circulation and that sildenafil had a superior ability than PGE₁ to unmask reversible pre-capillary component of pulmonary hypertension due to advanced heart failure.

Acknowledgements:

This work was supported by grants from Ministry of Health [MZO-00023001 and NS10497-3/2009]; Ministry of Education [MSMT-1MO510]; the Grant agency of the Czech Republic [305/09/1390].

Reference List

- ALAEDDINI J, UBER PA, PARK MH, VENTURAH O, MEHRA MR: Efficacy and safety of sildenafil in the evaluation of pulmonary hypertension in severe heart failure. *Am J Cardiol* **94**:1475-1477, 2004.
- AL HESAYEN A, FLORAS JS, PARKER JD. The effects of intravenous sildenafil on hemodynamics and cardiac sympathetic activity in chronic human heart failure. *Eur J Heart Fail* **8**:864-868, 2006
- BORLAUG BA, MELENOVSKY V, MARHIN T, FITZGERALD P, KASS DA: Sildenafil inhibits beta-adrenergic-stimulated cardiac contractility in humans. *Circulation* **112**:2642-2649, 2005
- 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* **19**:48-54, 1992
- DI SALVO TG, MATHIER M, SEMIGRAN MJ, DEC GW: Preserved right ventricular ejection fraction predicts exercise capacity and survival in advanced heart failure. *J Am Coll Cardiol* **25**:1143-1153, 1995.
- FORFIA PR, LEE M, TUNIN RS, MAHMUD M, CHAMPION HC, KASS DA: 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* **49**:1079-1088, 2007
- GHIO S, GAVAZZI A, CAMPANA C, INSERRA C, KLERSY C, SEBASTIANI R, ARBUSTINI E, RECUSANI F, TAVAZZI L: Independent and additive prognostic value of right ventricular systolic function and pulmonary artery pressure in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* **37**:183-188, 2001
- GOLDSMITH SR. Type 5 phosphodiesterase inhibition in heart failure: the next step. *J Am Coll Cardiol* **50**:2145-2147, 2007
- GUAZZI M, SAMAJA M, ARENA R, VICENZI M, GUAZZI MD: Long-term use of sildenafil in the therapeutic management of heart failure. *J Am Coll Cardiol* **50**:2136-2144, 2007
- KASS DA, CHAMPION HC, BEAVO JA. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation. *Circ Res* **101**:1084-1095, 2007
- KLOTZ S, DENG MC, HANAFY D, SCHMID C, STYPMANN J, SCHMIDT C, HAMMEL D, SCHELD HH: Reversible pulmonary hypertension in heart transplant candidates—pretransplant evaluation and outcome after orthotopic heart transplantation. *Eur J Heart Fail* **5**:645-653, 2003
- LEPORE JJ, MAROO A, BIGATELLO LM, DEC GW, ZAPOL WM, BLOCH KD, SEMIGRAN MJ: Hemodynamic effects of sildenafil in patients with congestive heart failure and pulmonary hypertension: combined administration with inhaled nitric oxide. *Chest* **127**:1647-1653, 2005

- LEWIS GD, SHAH R, SHAHZAD K, CAMUSO JM, PAPPAGIANOPOULOS PP, HUNG J, TAWAKOL A, GERSZTEN RE, SYSTROM DM, BLOCH KD, SEMIGRAN MJ: Sildenafil improves exercise capacity and quality of life in patients with systolic heart failure and secondary pulmonary hypertension. *Circulation* **116**:1555-1562, 2007
- LOH E, STAMLER JS, HARE JM, LOSCALZO J, COLUCCI WS. Cardiovascular effects of inhaled nitric oxide in patients with left ventricular dysfunction. *Circulation* **90**:2780-2785, 1994
- MELENOVSKY V, AL-HITI H, KAZDOVA L, JABOR A, SYROVATKA P, MALEK I, KETTNER J, KAUTZNER J. 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*. **54**: 595-600, 2009
- MONTALESCOT G, DROBINSKI G, MEURIN P, MACLOUF J, SOTIROV I, PHILIPPE F, CHOSSAT R, MORIN E, THOMAS D: 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* **82**:749-755, 1998
- MORRIS-THURGOOD JA, FRENNEAUX MP. Diastolic ventricular interaction and ventricular diastolic filling. *Heart Fail Rev* **5**:307-323, 2000
- MURALI S, KORMOS RL, URETSKY BF, SCHECHTER D, REDDY PS, DENYS BG, ARMITAGE JM, HARDESTY RL, GRIFFITH BP: Preoperative pulmonary hemodynamics and early mortality after orthotopic cardiac transplantation: the Pittsburgh experience. *Am Heart J* **126**:896-904, 1993
- MURALI S, URETSKY BF, ARMITAGE JM, TOKARCZYK TR, BETCHART AR, KORMOS RL, STEIN KL, REDDY PS, HARDESTY RL, GRIFFITH BP: Utility of prostaglandin E1 in the pretransplantation evaluation of heart failure patients with significant pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transplant* **11**:716-723, 1992
- MURALI S, URETSKY BF, REDDY PS, TOKARCZYK TR, BETSCHAT AR: Reversibility of pulmonary hypertension in congestive heart failure patients evaluated for cardiac transplantation: comparative effects of various pharmacologic agents. *Am Heart J* **122**:1375-1381, 1991
- RADOVANCEVIC B, VRTOVEC B, THOMAS CDCROITORU M, MYERS TJ, RADOVANCEVIC R, KHAN T, MASSIN EK, FRAZIER OH: Nitric oxide versus prostaglandin E1 for reduction of pulmonary hypertension in heart transplant candidates. *J Heart Lung Transplant* **24**:690-695, 2005
- VON SCHEIDT W, COSTARD-JAECKLE A, STEMPFLE HU, DENG MC, SCHWAAB B, HAAFF B, NAEGELE H, MOHACSI P, TRAUTNITZ M: Prostaglandin E1 testing in heart failure-associated pulmonary hypertension enables transplantation: the PROPHET study. *J Heart Lung Transplant* **25**:1070-1076, 2006

Figures

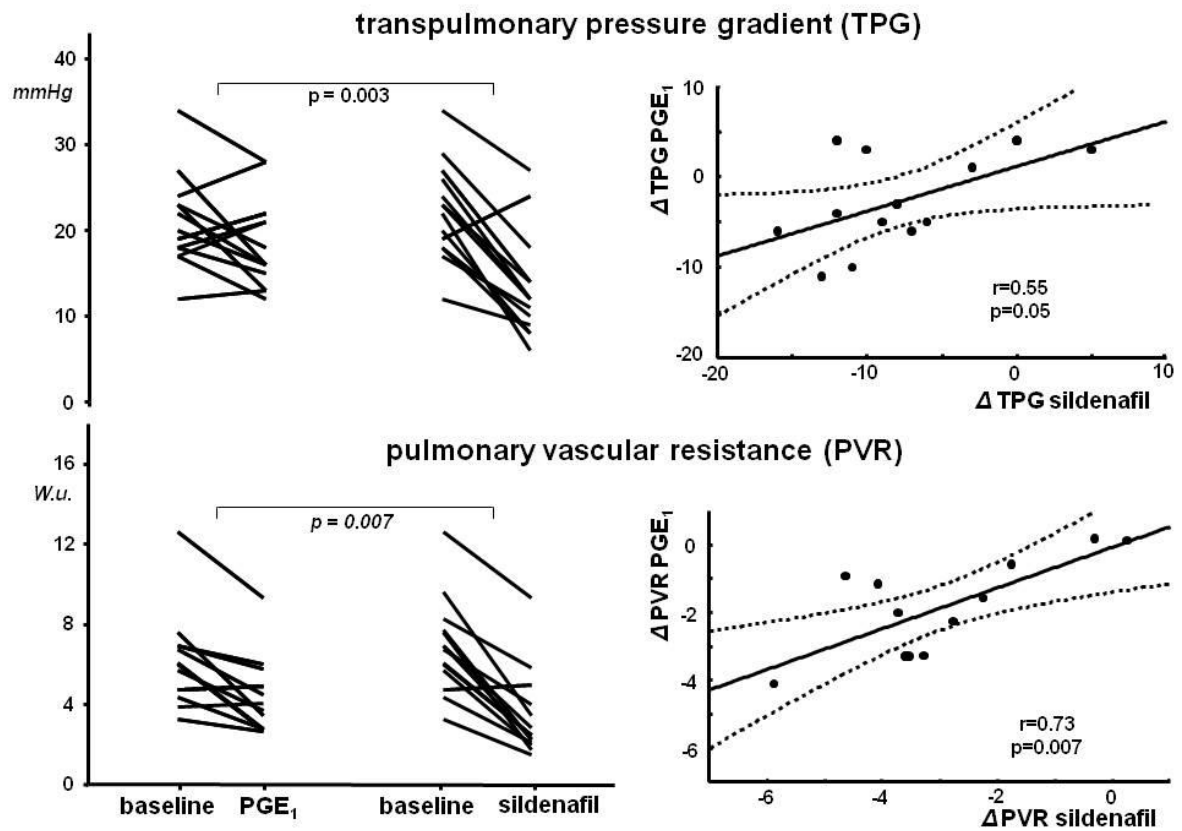


Figure 1. Left: Individual responses of transpulmonary pressure gradient and pulmonary vascular resistance (PVR) to administration of prostaglandin E₁ (at rate 200 ng·kg⁻¹·min⁻¹ i.v.) or sildenafil (40 mg orally) in patients with heart failure and pulmonary hypertension.

Right: correlation between change (Δ) of transpulmonary pressure gradient or PVR induced by sildenafil or PGE₁.

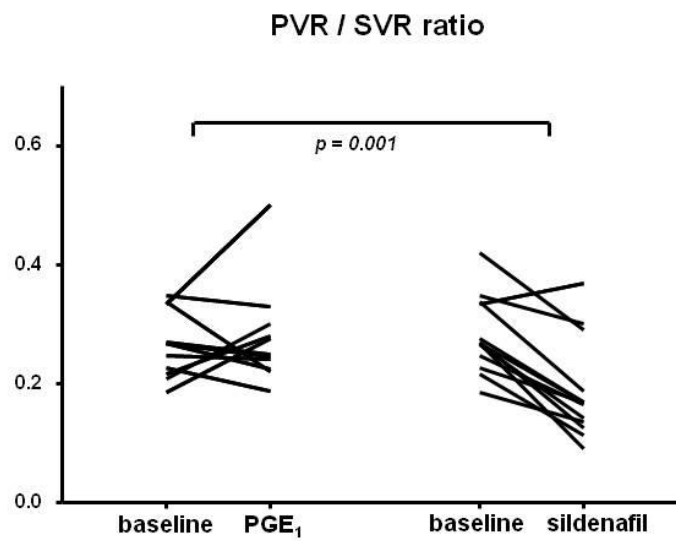


Figure 2. Ratio of pulmonary vascular resistance (PVR) to systemic vascular resistance (SVR) – an index of pulmonary selectivity of vasodilatation, before and after administration of sildenafil (40 mg orally, right panel) or prostaglandin E₁ (200 ng·kg⁻¹·min⁻¹ i.v., left panel) in patients with advanced heart failure and pre-capillary pulmonary hypertension.

Table 1. Baseline characteristics (n=13)

Age, years	51 ± 12
Gender, m/f,n	10 / 3
Body mass index, $kg \cdot m^{-2}$.	27 ± 3.5
Etiology: CAD / DCM, n	10 / 3
NYHA functional class	2.7 ± 0.6
MLHFQ score	43 ± 22
Furosemide daily dose, mg	101 ± 60
Hemoglobin, $g \cdot l^{-1}$	133 ± 17
Serum creatinine, $\mu mol \cdot l^{-1}$	104 ± 21
Plasma BNP, $ng \cdot l^{-1}$	887 ± 686
LV ejection fraction, %	24 ± 4
LV end-diastolic diameter, mm	69 ± 6.2
Right atrial pressure, mmHg	8.2 ± 2.7
Systemic blood pressure – systolic/diastolic, mmHg	120 ± 15 / 70 ± 9

BNP: B-type natriuretic peptide, CAD: coronary artery disease, DCM: dilated cardiomyopathy, LV: left ventricle, MLHFQ: Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire, NYHA: New York Heart Association.

Table 2. Hemodynamic parameters (n=13)

	rest	Δ PGE ₁	Δ sildenafil	P ‡
Heart rate, <i>min</i> ⁻¹	78 ± 13	1.8 ± 7	- 8.5 ± 9	<i>0.09</i>
PA mean pressure, <i>mmHg</i>	47 ± 6	- 8.5 ± 9 †	-11 ± 7 †	<i>0.4</i>
PA wedged pressure, <i>mmHg</i>	26 ± 4	- 5.8 ± 7 †	- 3.2 ± 5 *	<i>0.3</i>
Transpulmonary gradient, <i>mmHg</i>	21 ± 5	- 2.7 ± 5	- 8 ± 6 †	0.02
Cardiac index, <i>l·min</i> ⁻¹ · <i>m</i> ⁻²	1.7 ± 0.3	0.5 ± 0.3 †	0.5 ± 0.4 †	<i>0.9</i>
Stroke volume, <i>ml</i>	46 ± 12	8.1 ± 8 †	15 ± 9 †	<i>0.07</i>
Pulmonary vascular resistance, <i>w.u.</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
Systemic vascular resistance, <i>w.u.</i>	24 ± 7	- 6.7 ± 3 †	- 6.5 ± 4.5 †	<i>0.8</i>
Mean systemic arterial pressure, <i>mmHg</i>	80 ± 9	- 12 ± 3.5 †	- 6.6 ± 8 *	0.04

All comparisons by paired t-tests: * p<0.05, † p<0.01 vs baseline. ‡ comparisons of changes (Δ). PA: pulmonary artery, w.u.: Wood's units. PVR: pulmonary vascular resistance, SVR: systemic vascular resistance

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 NO solubilní guanylatcyklasou. Po podání L-argininu se zvyšuje koncentrace NO (65, 66), tento předpoklad nepřímo podporuje nález zvýšení hladiny citrulinu, vedlejšího produktu NO produkující reakce (67).

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 (obr 3) a tak zvyšuje intracelulární koncentraci cyklického guanosinfosfátu a tímto mechanismem působí vazodilataci.

Metody

Experimentální protokol

Plicní hypertenzi, která byla navozena u potkanů kmene Wistar chronickou hypoxií v normobarické hypoxické komoře ($FiO_2 = 0.1$). 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 neléčana. (n=10). L- arginin byl podáván jednou denně perorálně gavaží 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.

Za účelem měření systolického arteriálního tlaku a získání vzorku krve na stanovení hematokritu byla do karotidy zavedena kanyla. U potkanů, kteří spontánně dýchali atmosférický vzduch, byla preparován pravá krční žíla, a následně provedena pravostranná katetrizace bez otevření hrudníku a zaznamenán tlak v plicnici (68). 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 (69). Po dokončení měření byly z hrudního koše vyjmuty srdce a plíce. Pravá a levá komora a septum byly odděleny a zváženy (70). 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 (71,72). 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 plicí. 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) (73).

Analýza produkce NO byla provedena u dalších 4 experimentálních skupin potkanů, kteří byli vystaveni identickému experimentálnímu protokolu jak 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 stanoven sérová koncentrace nitritů a nitrátů chemiluminiscencí (74) a nitrotyrosinu metodou ELISA (75).

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 mikrolitrů 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 ± 6.11 vs 34.1 ± 4.6 , $p = 0,007$) nebo pouze L-arginin (33.6 ± 3.6 vs 28.7 ± 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 ± 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 (68) 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 (71). Adaptace organismu je charakterizována zvýšením krevního tlaku v plicnici, zvětšením váhy pravé komory srdeční a hypoxickou remodelací prealveolárních plicních cév. Ovlivnění tlaku v plicnici, zabránění hypertrofie pravé komory srdeční a remodelace plicních cév jsou důležitými terapeutickými cíli. 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 vazodilataci. 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. Zpočátku po zahájení expozice hypoxémií dochází k hypertrofii a následně hyperplázii hladkého svalu v cévní stěně, dochází k zesílení média, která roste „dovnitř“ a zmenšuje se lumen cévy. Muskularizace cévní média se posouvá do více periferních částí plicního arteriálního stromu. Fibroblasty se transformují na hladký sval, dochází k zesílení adventicie, kde přibývá kolagenu a elastinu. Nejvíce zvýšená je syntéza kolagenu typ IV. Pericyty a intermediální buňky při plicní hypertenzi rychle proleťují a diferencují se na hladký sval. Pericyty se nacházejí ve všech cévách, jde o málo diferencované buňky s kontaktními elementy, která snadno mohou regulovat cévní tonus. Proliferativní a degenerativní změny postihují i endotel plicních cév, tedy místa hlavní produkce oxidu dusnatého. Endotel plicních cév je jistě ovlivněn transmuralním napětím (napříč cévní stěnou) a shear stressesem (působícím logitudinálně ve směru toku krve). Při transmuralní tenzi indukuje endotel tvorbu elastinu a kolagenu ve stěně plicních cév, dochází k zvýšené produkci růstových faktorů.

Plicní hypertenze neovlivňuje pouze plicní cévy, ale dochází též hypertrofii 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

cyklického GMP 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 (76). Dlouhodobé podávání L-argininu může působit antiagregačně na krevní destičky (77). Zvýšená produkce oxidu dusnatého může také snížit cytosiny indukovanou endoteliální aktivaci expresi adhezních molekul a proinflammatorních cytokinů (78)

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 (79,80).

Nejvýznamnějším lokálním mechanismem regulace plicního cévního tonu je hypoxická plicní vazokonstrikce. Hypoxická plicní vazokonstrikce snižuje perfuzi nedostatečně ventilovaných oblastí plic, přizpůsobuje průtok krve jednotlivými částmi plic k optimalizaci ventilačně perfuzního poměru. Na rozdíl od systémových cév je ve zdravé plicní cirkulaci bazální produkce oxidu dusnatého jen minimální. V minulosti se předpokládalo, že důvodem plicní hypertenze, která byla navozena hypoxií je nedostatek NO. Naopak syntéza NO je při ní zvýšena, což potvrdily studie s exprese NO syntézy v plicích (81).

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. Optimální dávka L-argininu tak a samotného sildenafilu není v literatuře jednoznačně stanovena. Mnoho autorů experimentálních či z klinických studií týkajících se problematiky plicní hypertenze volilo menší či větší dávky jednotlivých substancí. Dávku L-

argininu použitou v našem pokusu (250 mg/kg/den) jsme zvolili na základě předchozích experimentálních prací (82). Stejně tak jsme zvolili i dávku sildenafilu (25 mg/kg/den) na základě experimentální práce Sebhkiho a spol. (83), 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 (84) a i u pacientů s PAH (857), což naznačuje, že substrátová limitace syntézy NO může být součástí etiopatogeneze plicní arteriální hypertenze (86). Podávání L-argininu pacientům s plicní arteriální hypertenzí vedlo k mírné redukcii 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 (87,88). 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 hypertenzí a L-argininu (67.), 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 plicní hypertenze studoval Sekbi (82). Oproti naší práci zjistili výraznější pokles tlaků v plicnici, což však může být vysvětleno odlišnou metodikou měření tlaků v plicnici. Sebke použili ambulantním telemetrické měření tlaků v plicnici, zatímco v naší práci byl tlak v plicnici měřen u sedovaných zvířat, tudíž tlak i efekt intervence byl nižší. Dosáhli jsme však výraznějších změn plicní hemodynamiky než práce Laursena (85), ve které byl hypoxickým

potkanům podáván dlouhodobě L-arginin. Důvodem menšího efektu v této práci byl pravděpodobně jednak odlišný způsob podávání L-argininu – autoři použili přidání farmaka do pitné vody což však může vést k pod dávkování při nedostatečném p.o. příjmu hypoxických zvířat. Rozdíl proti naší studii byl i v době trvání hypoxie, která byla kratší (14 dnů) a tak se nemuselo dojít k vyvinutí remodelace plicních cév.

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 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 plicích cév a myokardu (89,90).

Za posledních patnáct let došlo v terapii plicní arteriální hypertenze k významnému pokroku. Nová farmaka příznivě ovlivňují kvalitu života, prodlužují dobu do klinického zhoršení či nutnosti hospitalizace. Nejpodstatnější je však i to, že snižují mortalitu. I když je výskyt plicní hypertenze nejčastěji u nemocných s chronickým srdečním selháním, neexistuje v současné době schválená specifická farmakoterapie terapie k ovlivnění plicní hypertenze. Řada drobných studií prokázala příznivý efekt sildenafilu u této skupiny nemocných což dokládají i naše zkušenosti.

Závěr

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. Herget J, Hampl V: Pulmonary circulation. In: Šrámek BB, Valenta J, Klimeš F, EDS. Biomechanics of the Cardiovascular System. Prague, Czech Technical University Press, 1955,327-336
2. 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
3. Weir EK, Archem SL, Rubin LJ: Pulmonary hypertension. I: Willerson JT, John JN, EDS. Cardiovascular Medicine. New York, Churchill Livingstone, 1995,1495-1523
4. Wagenvoort CA, Wagenvoort N.: Pathology of Pulmonary Hypertension. 2nd ed. New York, John Wiley and Sons, 1977
5. Widimský J,Widimský P.:Základy invazivní hemodynamiky.Triton, 1999
6. Epton Y.: The normal pulmonary circulation. In Baum G.L.,Dolinsky E., editors: Textbook of pulmonary diseases, Boston/Toronto, Little,Brown and Copany, 1989
7. Grossmann W., Braunwald E.: Pulmonary Hyperetension. In Braunwald E.,editor: Heart Disease- A Textbook of Cardiovascular Medicine, 4th ed Philadelphia, W.B.Saunders Comp, 1992
8. Widimský J.: Patofyziologie krevního oběhu: In Fejfar Z., Přerovský I. A spol.: Patofyziologie krevního oběhu. Praha, Avicenum, 1980
9. McFadden E.R., Braunwald E.: Cor pulmonale. In Braunwald E., editor: Heart Disease- A Textbook of Cardiovascular Medicine, 4th ed. Philadephia, W.B. Saunders Comp., 1992
10. Mandel J., Taichman D.: Pulmonary Vascular Disease. Saunders Comp. 2006
11. Dresdale DT, Schultz M, Nichrom RJ: Primary pulmonary hypertension. I Clinical and hemodynamic study. Am J Med 1951;11:686-705
12. Wagenvoort CA, Wagenvoort N: Primary pulmonary hypertension: a pathologic study of the lung vessels in 156 classically diagnose CASE. Circulation 1970;42:1163-1184
13. Moride Y, Abenheim L, Xu J: Epidemiology of pulmonary hypertension in primary pulmonary hypertension. In Rubin LJ, Rich S, editors: Primary Pulmonary Hypertension, 1997
14. Rich S, Dantzker DR, Ayres SM, et al: Primary pulmonary hypertension. A national prospective study. Ann Intern Med 1987;107:216-223
15. Rich S: Primary pulmonary hypertension: Executive Summary from the World Symposium, 1988

16. 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*. 2009; 30: 2493-2537
17. Barst RJ, Gibbs JS, Ghofrani HA, et al. Update evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009, 30; 54(1Suppl): S78-S84
18. Mandel J., Taichman D.: *Pulmonary Vascular Disease*. Saunders Comp. 2006
19. Farber HW, Lescalzo J.: Pulmonary arterial hypertension. Review article. *N Engl J Med* 2004; 351: 1655-65
20. Björnsson J, Edwards WD. Primary pulmonary hypertension: a histopathologic study of 80 cases. *Mayo Clin Proc* 1985; 60: 16-25.
21. Tuder RM, Cool CD, Geraci MW, et al. Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1925-32
22. Ganog WF: *Přehled Lékařské Fyziologie*, editor Herget J., Rakušan K. 20 vydání Galen,2005
23. Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995; 333: 214-21
24. Eddahibi S, Humbert M, Fadel E, et al. Serotonin transporter overexpression is responsible for pulmonary artery smooth muscle hyperplasia in primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 2001; 108: 1141-50
25. Petrov V, Mosgoeller W, Ziesche R, et al. Vasoactive intestinal peptide as a new drug for treatment of primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 2003; 111: 1339-46
26. Chaouat A, Weitzenblum E, Higgenbottam T. The role of thrombosis in severe pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1996; 9: 356-63.
27. Rubens C, Eser R, Halank M, et al. Big endothelin-1 and endothelin-1 plasma levels are correlated with the prognosis of primary pulmonary hypertension. *Chest* 2001; 120: 1562-9
28. Galie N, Grigioni F, Bacchi-Reggiani L, et al. Relation of endothelin-1 to survival in patients with primary pulmonary hypertension. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 273,A48
29. Hochem G, Schwarz A, Fagan KA, et al. Pulmonary fibrosis and chronic lung inflammation in ET-1 transgenic mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23: 19-26
30. Hamp V: Hypoxická plicní hypertenze. *Čs fyziologie* 1991,40:255-271
31. Rich S, Kaufmann E, Levy PS. The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992; 327(2): 76–81.

32. Groves BM, Badesch DM, Turkevich D et al. Correlation of acute prostacyclin response in primary (unexplained) pulmonary hypertension with efficacy of treatment with calcium channel blockers and survival. In: Weir K (ed). *Ion flux in pulmonary vascular control*. New York: Plenum Press 1993: 317–330.
33. Schrader BJ, Invar S, Kaufmann L et al. Comparison of the effect of adenosine and nifedipine in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1992; 29: 1060–1064.
34. Sitbon O, Hubert M, Jagot JL et al. Inhaled nitric oxide as a screening agent for safety identifying responders to oral calcium-channel blockers in primary pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1998; 12: 265–270.
35. Opitz CF, Wensel R, Bettmann M et al. Assessment of the vasodilator response in primary pulmonary hypertension: comparing prostacyclin and iloprost administered by either infusion or inhalation. *Eur Heart J* 2003; 24: 356–365.
36. Sitbon O, Hubert M, Ioos V et al. Who benefits from long-term calcium-channel blockers therapy in primary pulmonary hypertension? *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: A440.
37. Frank H, Mlczoch, Huber K et al. The effect of antikoagulant therapy in primary and anorectic drug-included pulmonary hypertension. *Chest* 1997; 112(3): 714–421.
38. Sandoval J, Gaspar J, Pulido T et al. Graded balloon dilation atrial septostomy in severe primary pulmonary hypertension. A therapeutic alternative for patients nonresponsive to vasodilator treatment. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 297–304.
39. Hosenpud JD, Bennett L E et al. The registry of the International society for Heart and Lung Transplantation: Seventeenth official report 2000. *J Heart Lung Transplant* 2000; 19(10): 909–931.
40. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA et al. A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. The Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *N Engl J Med* 1996; 334(5): 296–302.
41. Higenbottam T. *Treatment of pulmonary hypertension by inhaled delivery*. New York: The Parthenon Publishing Group 1999: 9–17.
42. Rubin LJ, Mendoza J, Hood M et al. Treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous prostacyclin (epoprostenol). Results of randomized trial. *Ann Intern Med* 1990; 112(7): 485–491.
43. Badesch DB, Tapson VF, McGoon MD et al. Continuous intravenous epoprostenol for pulmonary hypertension due to the scleroderma spectrum disease. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 2000; 132(6): 425–434.

44. McLaughlin VV, Gaine SP, Barts RJ et al. Efficacy and safety of treprostinil: an epoprostenol analog for primary pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41(2): 293–299.
45. Simonneau G, Barts RJ, Galie N et al. Continuous subcutaneous infusion of treprostinil, a prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165(6): 800–804.
46. Okano Y, Yoshioka T, Schimouchi A et al. Orally active prostacyclin analogue in primary pulmonary hypertension. *Lancet* 1997; 349(9062): 1365.
47. Galie N, Manes A, Branzi A. The new clinical trials on pharmacological treatment in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2002; 20(4): 1037–1049.
48. Saji T, Ozawa Y, Ishikita T et al. Short-term hemodynamic effects of new oral PGI 2 analogue, beraprost, in primary and secondary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 1996; 78(2): 244–247.
49. Nagaya N, Uematsu M, Okano Y et al. Effects of beraprost podium, an oral prostacyclin analogue on survival of outpatients with primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34(4):1188–1192.
50. Galie N, Hubert M, Vachiery JL et al. Effect of beraprost sodium, an oral prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1496–1502.
51. Barts RJ, McGoon M, McLaughlin VV et al. Beraprost therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 2119–2125.
52. Krause W, Kraus T. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the prostacyclin analogue iloprost in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1986; 30(1): 61–68.
53. Hoeper MM, Olschewski H, Ghofrani HA et al. A comparison of the acute hemodynamic effects of inhaled nitric oxide and aerosolized iloprost in primary pulmonary hypertension. German PPH Study Group. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35(1): 176–182.
54. Olschewski H, Simonneau G, Galie N et al. Inhaled iloprost in severe pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2002; 347(5): 322–329.
55. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ et al. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2002; 346(16): 869–903.
56. Furchgott R, Zawadzki J The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.

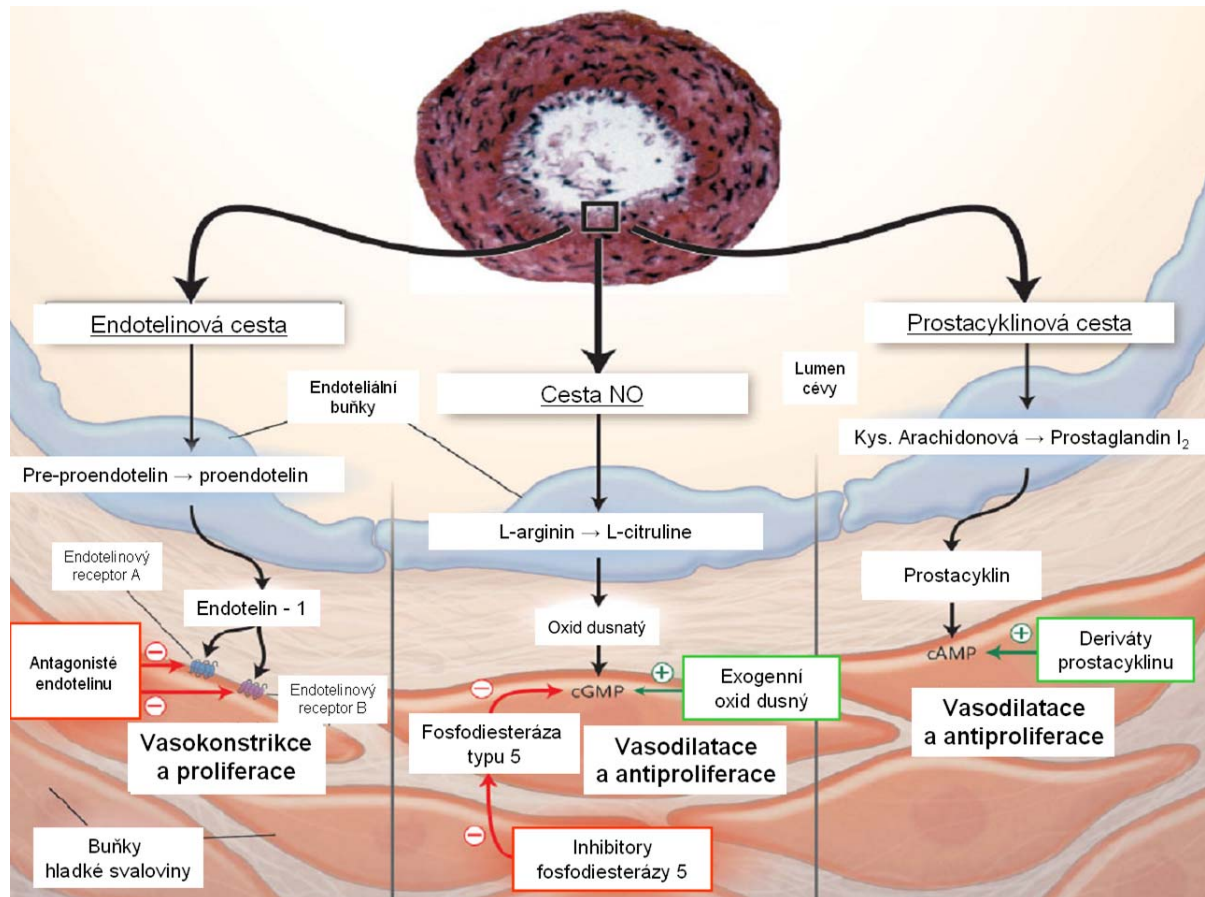
57. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142
58. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-2012.
59. Palmer RMJ, Rees DD, Ashton DS, Moncada S L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 153: 1251-1256
60. Knowles RG, Moncada S Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-258
61. Vodrážka Z *Biochemie*. Academia, Praha 1992
62. Karlson P, Gerok W, Gross W *Pathobiochemie*. Academia, Praha 1987
63. Mitani Y, Maruyama K, Sakurai M Prolonged Administration of L-Arginine Ameliorates Chronic Pulmonary Hypertension and Pulmonary Vascular Remodeling in Rats. *Circulation*. 1997;96:689-697.
64. Galie N, Ghofrani HA, Torbicki A, et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2005;353:2148–57.
65. 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
66. 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
67. 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
68. 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
69. 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
70. Fulton RM, Hutchinson EC, Jones AM. Ventricular weight in cardiac hypertrophy. *Br Heart J*. 1952;14(3):413-20
71. 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

72. 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
73. 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
74. 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
75. 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
76. 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
77. Adams MR, Forsyth CJ, Jessup W, et al. Oral L-arginin inhibits platelet aggregation but does not enhance endothelium-dependent dilation in healthy young men. *J Am Coll Cardiol.* 1995;26(4):1054-61
78. Caterina RD, Libby P, Peng H et al. Nitric oxide decreases cytosine-induced endothelial activation: nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest.* 1995;96:60-68
79. 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
80. 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
81. Hampl V, Herget J. Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension. *Physiol Rev.* 2000;(4):1337-72
82. 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
83. Sebkhi A, Strange JW, Phillips SC, et al. Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxic-induced pulmonary hypertension. *Circulation.* 2003;107(25): 3230-5

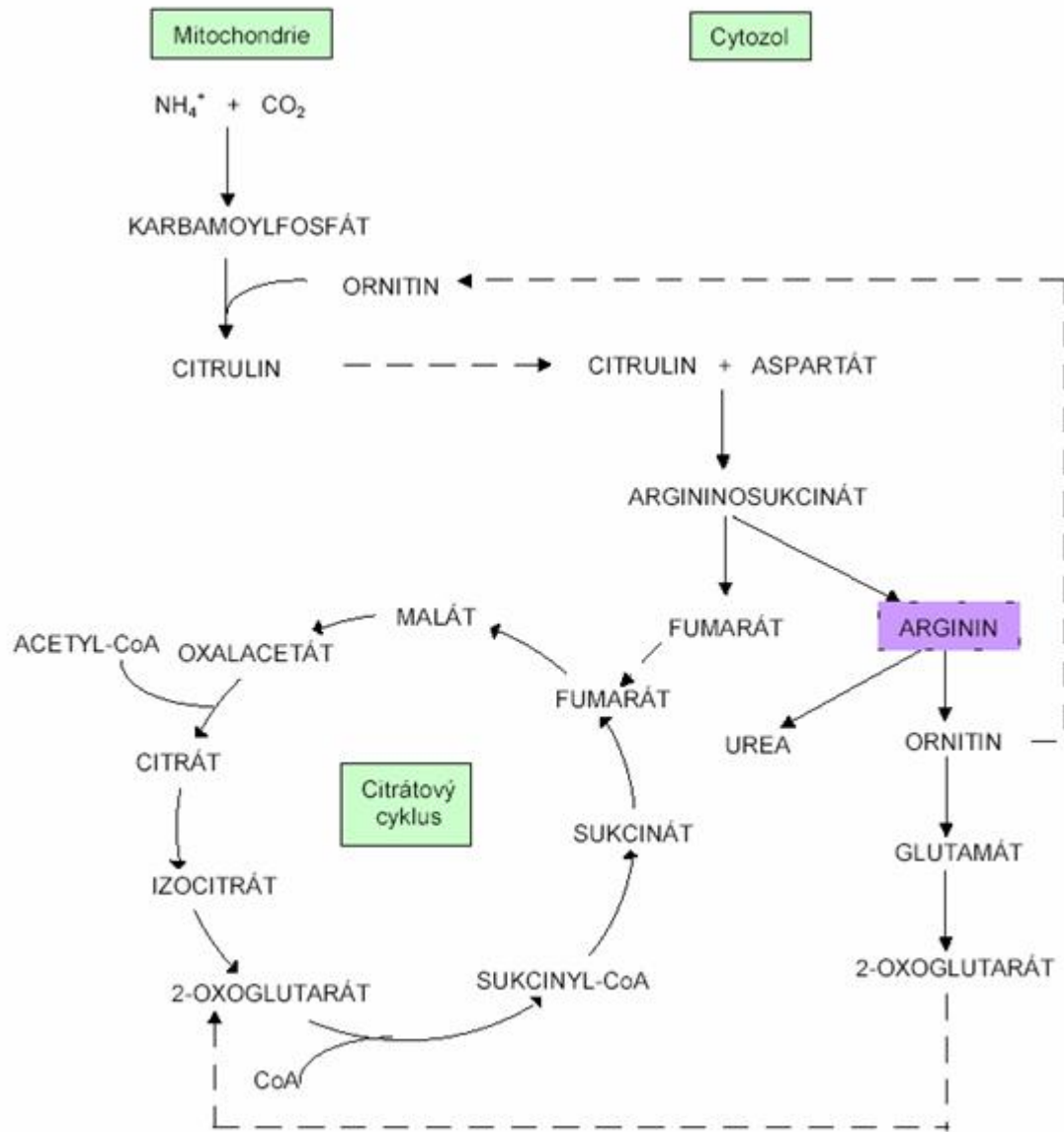
84. Carville C, Adnot S. Los sof endothelium- dependent relaxation in proximal pulmonary arteries from rats exposé to chronic hypoxia: effects of in vivo and vitro supplementation with L-arginine. *J Cardiovasc. Pharmacol*, 1993;22,889-896
85. Mehta S, Stewart DJ, Langleben D, et al. Short-term pulmonary vasodilatation with L-arginine in pulmonary hypertension. *Circulation* 1995;15,92(6):1539-45
86. Laursen BE, Dam MY, Mulvany MJ, et al.: Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling ang right ventricular hypertrophy is unaltered by long-term oral L-arginine administration *Vascular pharmacology* 2008;49:71-76
87. 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
88. 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
89. D Alonzo GE, Barst RJ, Ayers SM, et al. Survival in patiens with primary pulmonary hypertension. Results from national prospective registry. *Ann Intern Med.* 1991;115(5):343-9
90. Ghio S, Gavazzi A, Capana C, et al. Indipendent and additive prognostic value of right ventricular fiction and pulmonary artery pressure in patiens with chronic heart silure *J Am Coll Cardiol.* 2005; 37:183-188

Obrazová příloha

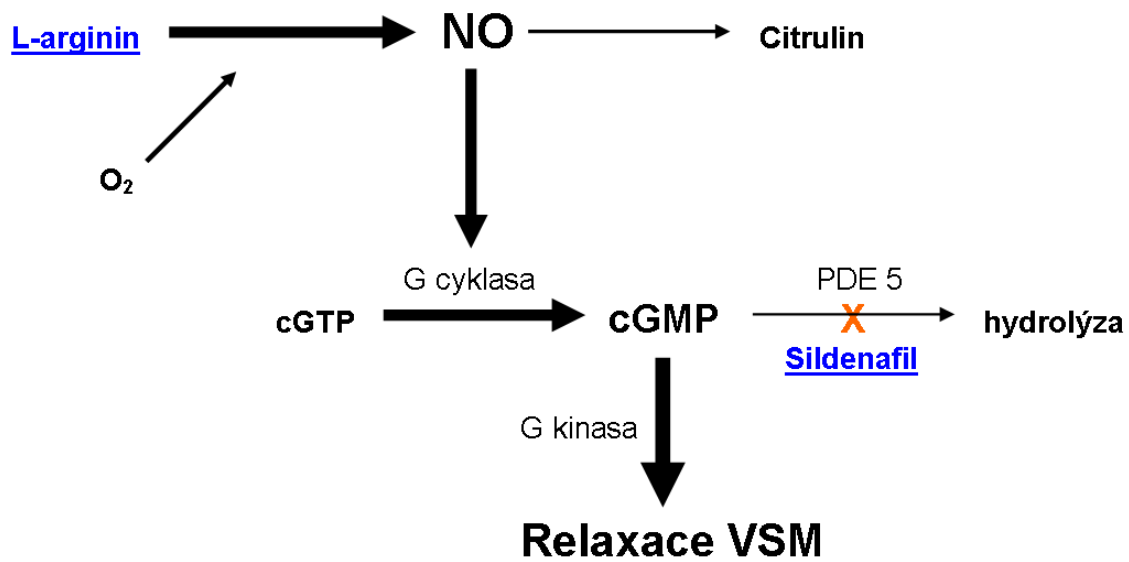
Obrázek 1. Patofyziologické cesty terapie plicní hypertenze. (Zdroj: Humbert M. N Engl J Med 2004)



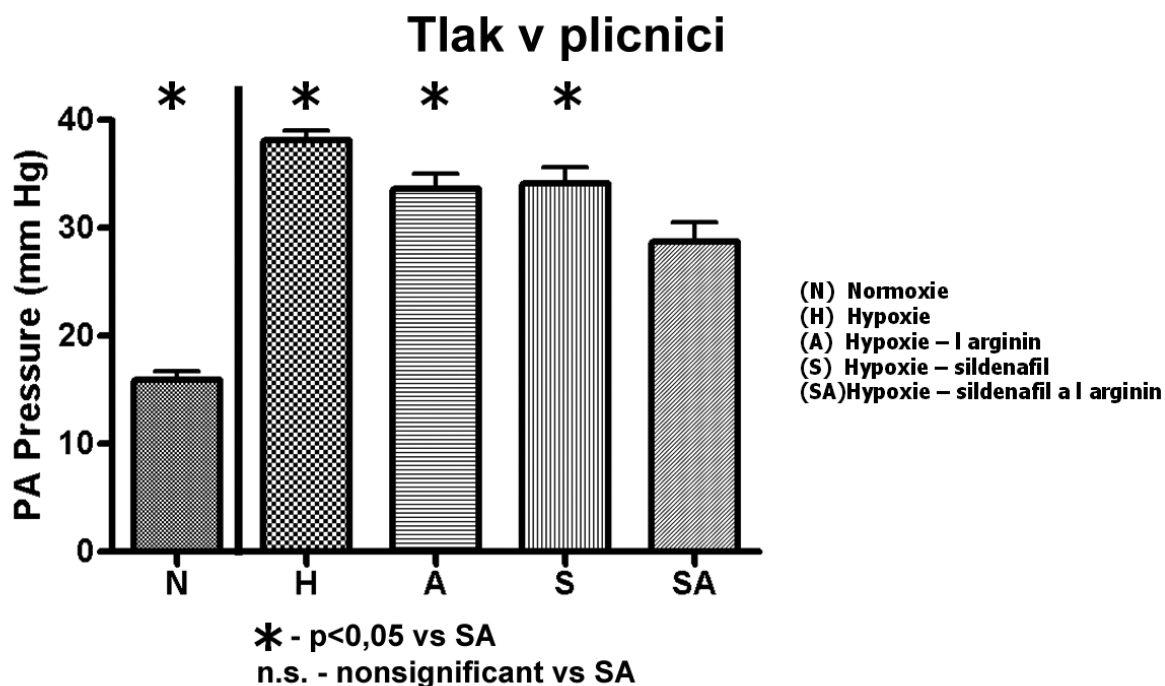
Obrázek 2. Metabolický cyklus argininu (Zdroj: P.Karlson, W.Gerok, W.Gross: Pathobiochemie. Academia, Praha 1987)



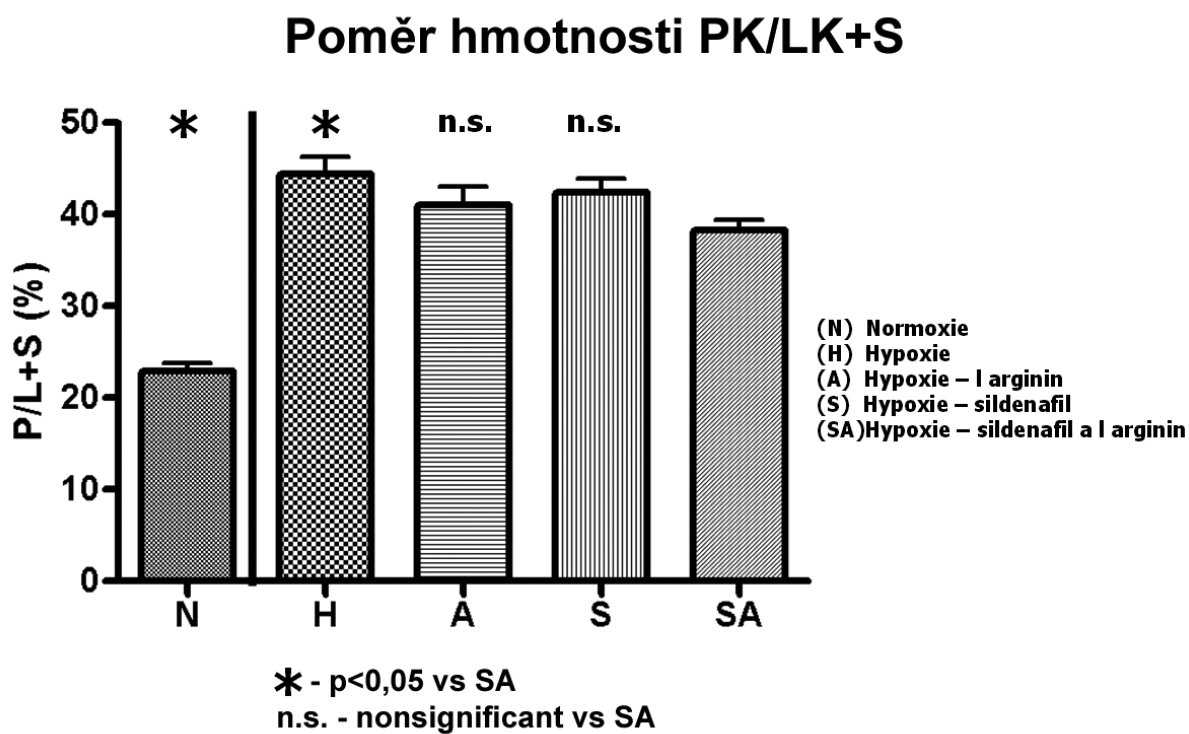
Obrázek 3. Účinek L- argininu a sildenafilu na relaxaci svalových buněk.



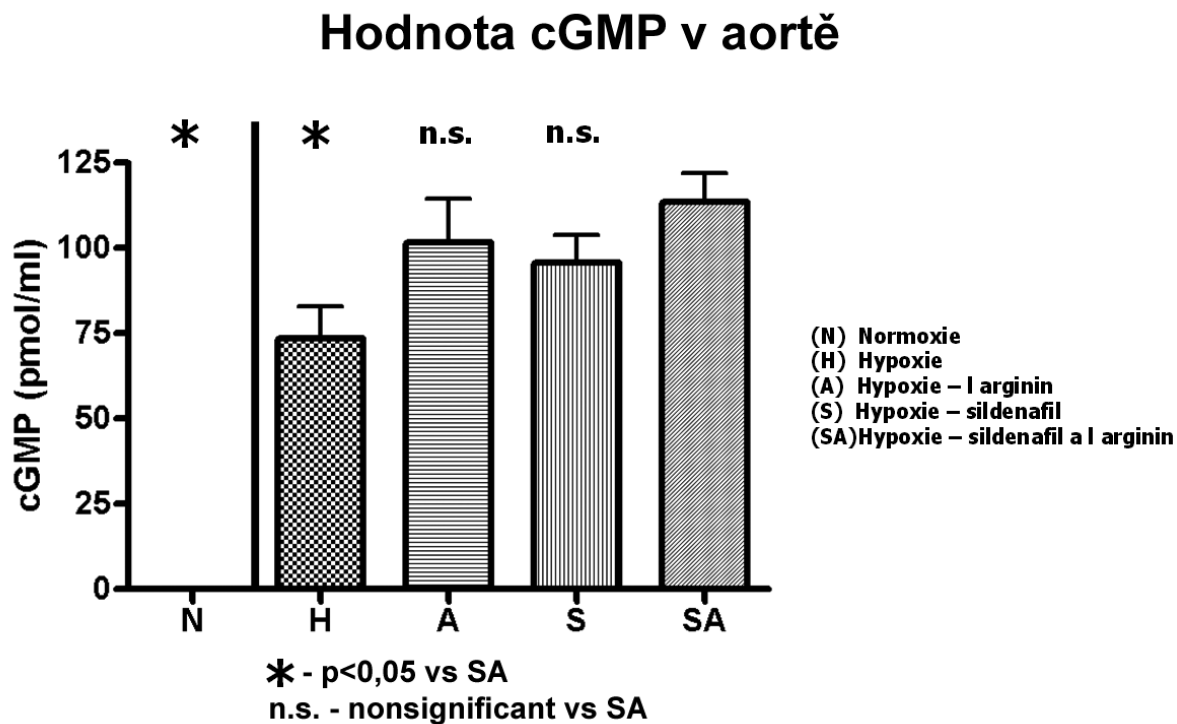
Graf 1. Tlak v plicní arterii v jednotlivých skupinách po 3 týdnech pokusu



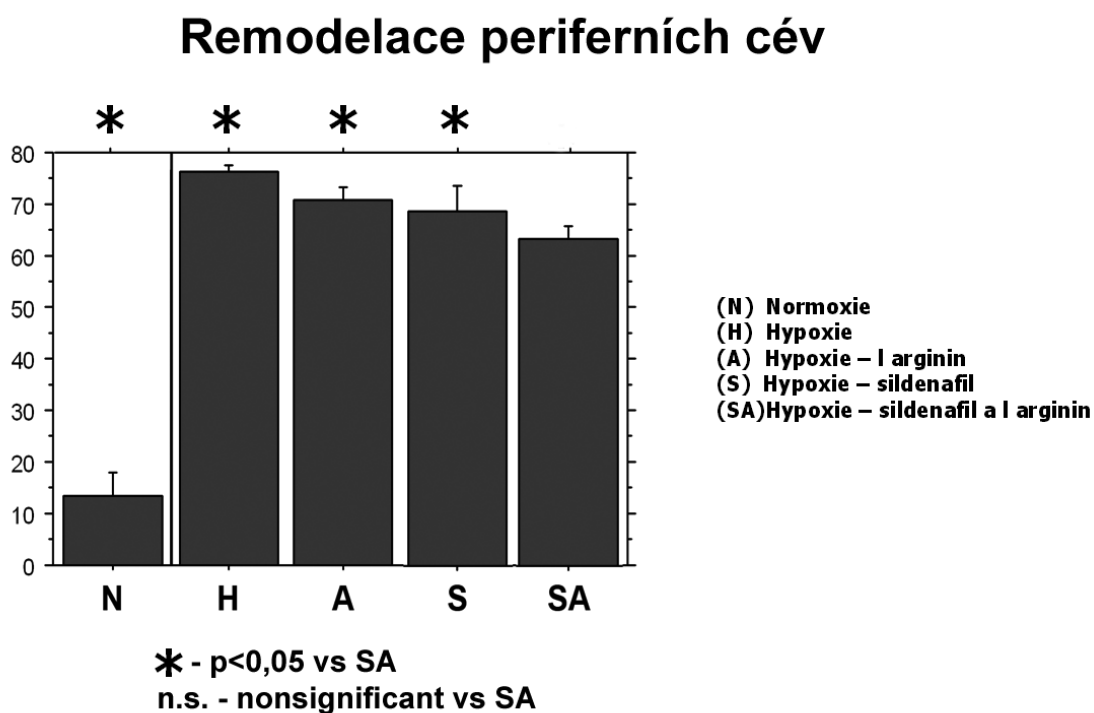
Graf 2. Poměr hmotnosti pravé komory srdeční k levé komoře srdeční a septu



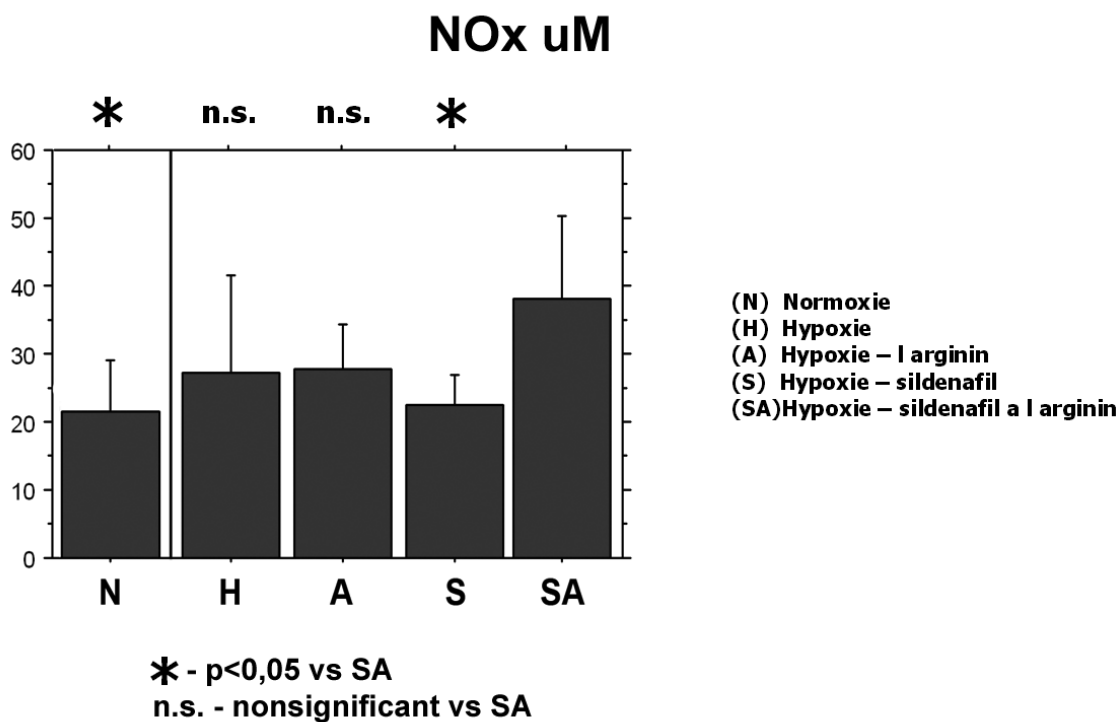
Graf 3. Koncentrace cyklického guanosinmonofosfátu v plazmě



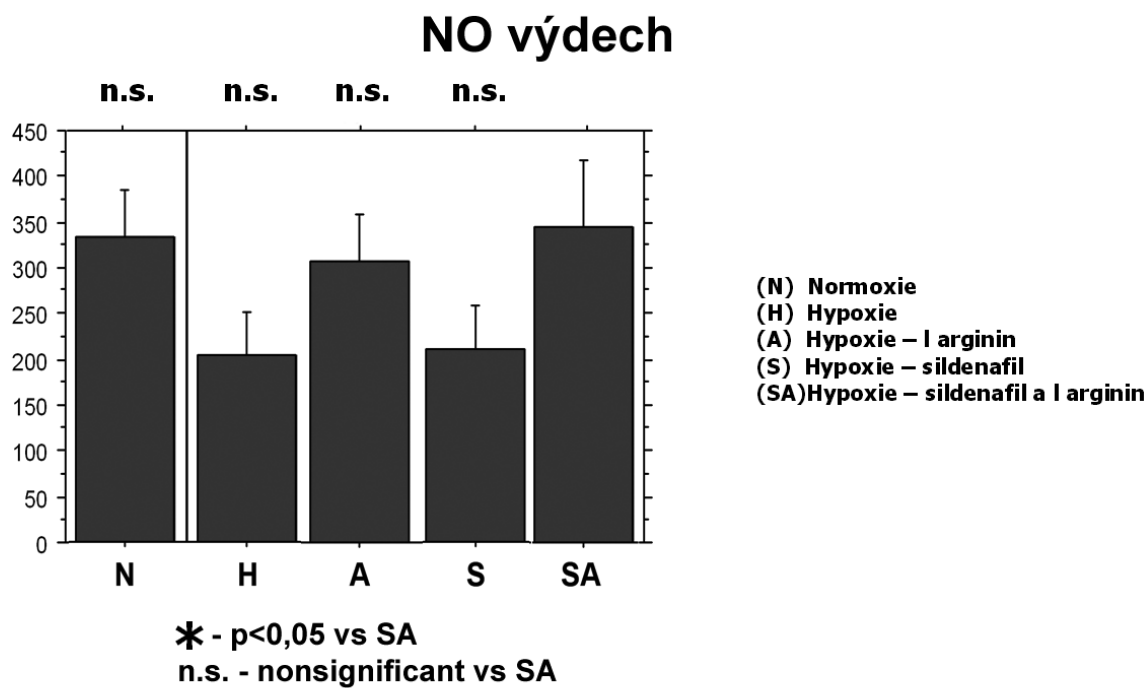
Graf 4. Remodelace plicních periferních plicních cév po 3 týdnech pokusu



Graf 5. Koncentrace metabolitu oxidu dusnatého



Graf 6. Hodnota vydechovaného oxidu dusnatého



Tabulka 1. Klasifikace plicní hypertenze. Zkratky: PAH.- plicní arteriální hypertenze, PVH- plicní žilní hypertenze, PH –plicní hypertenze

„Dana Point“ plicní hypertenze

- **PAH**
 - **idiopatická**
 - **familiární**
 - **vaskulitidy**
 - **portopulmonální hypertenze**
 - **Eisenmengerův syndrom**
 - **HIV**
 - **perzistující PH novorozenců**
 - **indukovaná léky**
 - **plicní venookluzivní nemoc**
 - **plicní kapilární hemangiomatóza**
- PH u onemocnění levého srdce
- PH onemocněním plicního parenchymu nebo hypoxická
- PH tromboembolická
- PH multifaktoriální

Tabulka 2. Přehled mediátorů plicních cévních reakcí u PAH podle Farbera a Lescalza 2004

(19)

Vazokonstrikce	Buněčná proliferace	Trombóza
Zvýšení tromboxanu	Zvýšení VEGF	Zvýšení tromboxanu
Snížení prostacyklinu	Snížení prostacyklinu	Snížení prostacyklinu
Snížení NO	Snížení NO	Snížení NO
Zvýšení ET-1	Zvýšení ET-1	
Zvýšení 5-HT	Zvýšení 5-HT	Zvýšení 5-HT
Snížení VIP	Snížení VIP	Snížení VIP

