

**II. interní klinika Fakultní nemocnice Plzeň**  
**přednosta: Doc. MUDr. Jan Filipovský, CSc.**

**Oddělení klinické farmakologie FN Plzeň, přednosta Doc. MUDr. Otto Mayer sen., CSc.**

**Rizikové faktory aterosklerózy**  
**a jejich možné farmakologické ovlivnění u pacientů**  
**s ischemickou chorobou tepen dolních končetin**

**MUDr. Milan Hromádka**

**Doktorandská práce**

**2007**

## Obsah

	<b>strana</b>
<b>Obsah</b>	2
<b>Zkratky</b>	5
<b>Předmluva</b>	6
<b>Úvod</b>	7
<b>Cíle práce</b>	18
<b>Metodika</b>	19
<b>1 Léčba statiny u pacientů s ICHDK</b>	<b>21</b>
1.1 Pacienti s poruchou spektra krevních lipidů	21
Metodika	21
Výsledky	22
Diskuze	24
1.2 Pacienti bez poruchy spektra krevních lipidů	26
Metodika	26
Výsledky	27
Diskuze	29
<b>2 Léčba pentoxifylinem u pacientů s ICHDK</b>	<b>31</b>
2.1 Intravenózní podání jednotlivé dávky	31
2.2 Orální podání jednotlivé dávky	32
2.3 Klauzikační interval před 8 denní infuzní léčbou a po ní	33
Diskuze	34

<b>3</b>	<b>Léčba foláty u pacientů s ICHDK</b>	<b>36</b>
3.1	Výskyt hyperhomocysteinemie u pacientů s ICHDK	36
	Metodika	36
	Výsledky	36
3.2	Methioninový zátěžový test	37
	Metodika	37
	Výsledky	37
3.3	Porovnání účinku léčby kyselinou listovou u pacientů s ICHDK a u zdravých seniorů. MTHFR	38
	Metodika	38
	Výsledky	39
	Diskuze	43
<b>4</b>	<b>Asymetrický dimethylarginin</b>	<b>45</b>
4.1	ADMA a konvenční rizikové faktory v populačním vzorku	45
	Metodika	45
	Výsledky	45
4.2	ADMA u nemocných s předčasnou ICHS a u kontrolní skupiny	47
	Metodika	47
	Výsledky	48
	Diskuze	49
<b>5</b>	<b>Závěry pro praxi</b>	<b>50</b>
	<b>Literatura</b>	<b>51</b>
	<b>Publikace</b>	<b>59</b>
	<b>Odborné akce</b>	<b>60</b>

## **Přílohy**

[1] Mayer O, Hromádka M. Statiny v léčbě nemocných s uzávěrovou chorobou tepen dolních končetin. *Vnitřní lékařství* 2001; 47:664-9

[2] Mayer O, Filipovsky J, Hromadka M, et al. Treatment of hyperhomocysteinemia with folic acid: Effects on homocysteine levels, coagulation status, and oxidative stress markers. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2002; 39:851-7

[3] Mayer O Jr, Simon J, Roslova H, Hromadka M, Subrt I, Votrubova I. The effects of folate supplementation on some coagulation parameters and oxidative status surrogates. *European Journal of Clinical Pharmacology* 2002; 58:1-5

[4] Hromádka M, Filipovský J. Asymetrický dimethylarginin-nový rizikový faktor endoteliální dysfunkce ? *Cor et Vasa* 2004; 46:556-7

[5] Hromádka M, Filipovský J. Pacient po infarktu myokardu. *Medicína po promoci* 2005; 6:67-9.

[6] Hromádka M, Filipovský J. Terapeutické přístupy k pacientovi se stabilní anginou pectoris. *Medicína po promoci* 2006; 7:46-9

[7] Citační ohlas dle databáze web of science

## Zkratky

AGE proteiny	advanced glycosylation end-products (konečné produkty pokročilé glykace)
ADMA	asymetrical dimethylarginine (asymetrický dimetylarginin)
BMI	body mass index
CAC	antioxidační kapacita
DDAH	dimethylarginindimethylaminohydroláza
DK	dolní končetiny
DTK	diastolický krevní tlak
GSH	glutathion
GSHPx	glutathionperoxidasa
ICHDK	ischemická choroba dolních končetin
ICHS	ischemická choroba srdeční
KI	kotníkový index
KV	kardiovaskulární
MDA	malondialdehyd
Mhy	mírná hyperhomocysteinemie
MTHFR	methylenetetrahydrofolátreduktáza
PTA	perkutánní angioplastika
RF	rizikový faktor aterosklerózy
SOD	superoxiddismutasa
STK	systolický krevní tlak
Tab.	tabulka
TG	triglyceridy
THcy	total (celkový) homocystein
TCHOL	total (celkový) cholesterol

## **Předmluva**

V roce 1995 jsem nastoupil jako sekundární lékař na Oddělení klinické farmakologie FN Plzeň, kde jsem se zapojil do sledování a komplexní léčby nemocných s ischemickou chorobou tepen dolních končetin. Pod vedením školitele Doc. MUDr. O. Mayera jsme se v rámci grantové úlohy zaměřili na vyhodnocování rizikového profilu a dlouhodobé terapie nemocných s ICHDK, větší pozornost jsme věnovali možnému novému rizikovému faktoru aterosklerózy – mírné hyperhomocystenemii.

Tato práce byla časově náročná, s ohledem na opakované podrobné klinické vyšetřování nemocných mi s touto prací pomáhala MUDr. Hana Polívková a MUDr. Zdeňka Poklopová. Stanovování hodnoty homocysteinu bylo umožněno díky vstřícnosti Prof. MUDr. Racka a Ing. Stehlíka. Tato práce byla úspěšně ukončena v roce 2001 a komisí IGA zařazena mezi nejlepších 10 prací v roce 2001.

Vzhledem k mému přestupu na II. interní kliniku v roce 2002 ukončil Doc. MUDr. Mayer práci mého školitele a na tuto práci navázal Doc. MUDr. Filipovský, kterému také patří velké díky pro možnost doplňkového sledování dalšího možného rizikového faktoru aterosklerózy asymetrického dimethylargininu, a za vytvoření ideové koncepce této práce.

Tato práce byla podkladem řady přednášek na domácích odborných akcích a formou posteru byla opakovaně prezentována i v zahraničí. Posloužila i k několika odborným publikacím.

Vzhledem k pracovním povinnostem na II.interní klinice a přípravě na kardiologickou atestaci jsem tuto práci dopsal s časovým posunem od obdržení a vyhodnocení výsledků, tento časový odstup mi umožnil všechna pozorování zhodnotit se současným pohledem na tuto problematiku.

# Úvod

## Ischemická choroba tepen dolních končetin

Kardiovaskulární onemocnění je v naší zemi hlavní příčinou úmrtí, podílí se na invaliditě a nemocnosti populace a na nárůstu nákladů za zdravotní péči. Nejčastější příčinou K-V příhod je aterosklerotický proces, který postihuje různá tepenná řečiště, kromě periferních tepen také řečiště koronární, mozkové a tepny břišní. V této práci jsem se zaměřil především na nemocné s ischemickou chorobou tepen dolních končetin (ICHDK). ICHDK je nejčastější a nejvýznamnější onemocnění periferních tepen. Tito pacienti s intermitentními klaudikacemi vykazují až v 50-70% také symptomy anginy pectoris (Aronow et al. 2002).

Ve zdravé tepně je proudění krve laminární. Při stenotickém postižení dochází ke zrychlení krevního proudu, který nabývá vířivého charakteru. To vede k přetížení cévní stěny za stenózou a jejím následkem může být postenotická dilatace. Vířivé proudy můžeme zjistit auskultačně, v pokročilejších případech i palpačně. Šelesty na postižené tepně jsou slyšitelné nejprve v systole, později i v diastole. Klinicky významné jsou zúžení tepny o více než 50%. Ischemický syndrom je navozen jednak nedostatečným zásobením okysličenou krví a jednak zhoršeným odplavováním zplodin metabolismu. Jako kompenzační mechanismus se uplatňuje zvýšená extrakce kyslíku z krve, určitá anatomická přestavba svalových vláken a výstavba kolaterálního oběhu. Tvorba kolaterál je aktivním dějem, při kterém dochází k hypertrofii stěny se zmnožením buněk. Při fyzické zátěži dochází k výraznému snížení periferního cévního odporu ve svalech, které jsou přednostně zásobeny na úkor prokrvení kůže. Nejdůležitějším parametrem určujícím cévní vlastnosti je stav endotelu. Endotel je největším orgánem v těle, vytváří cévní výstelku. V zdravé tepně je uspořádán podélně, při turbulentním proudění dochází

k narušení jeho organizace s následkem dysfunkce. Za normálních okolností uvolňuje endotel oxid dusnatý, který je nejdůležitějším vazodilatátorem. Při endoteliální dysfunkci dochází k poruše krevní srážlivosti, zvýšení adheze a agregace krevních destiček, k poruše cévní permeability a k tendenci k vasokonstrikci. Čím výraznější je endoteliální dysfunkce, tím je vyšší riziko trombotických komplikací.

Diagnóza ICHDK je založena na pozitivní anamnéze typických klaudikací nebo již klidových bolestí. Při klinickém vyšetření nalzáme šelest na postižených tepnách či až chybění pulzu, pozitivní polohový test a pokles dopplerovského systolického kotníkového tlaku, který dnes považujeme za významný predikátor K-V rizika (Leng et al. 1996). Důležitá je objektivizace klaudikační vzdálenosti na pohyblivém chodníku (McGee et al. 1998). Pacienti s výraznými klaudikacemi podstupují vyšetření zobrazovacími metodami, tj. duplexní sonografií či angiografií. Počítačová tomografie se používá u nemocných s aortálním či ilickými aneurysmaty.

Stadia ischemické choroby DK vychází z Fontainova rozdělení z r.1954. Pacienti v I. stadiu onemocnění jsou asymptomatictí, nalzáme u nich pouze při auskultaci šelest na postižených tepnách. II. stadium je již s typickými klaudikacemi, ve stadiu IIa je dosažená klaudikační vzdálenost delší než 200 m, ve stadiu IIb je kratší než 200 m, z důvodu stratifikace nemocných rozlišujeme ještě velmi krátké klaudikace do 50 m. Nemocní ve III. stadiu mají již klidové bolesti, zejména v noci. Dopplerovský kotníkový tlak vyšší než 50 mm Hg charakterizuje nemocné ve stadiu IIIa, u stadia IIIb je tato hodnota nižší než 50 mm Hg. IV. stadium je charakterizováno ohraničenou nekrózou na dolních končetinách (Hirsch et al. 2001).

Samostatnou skupinu představují nemocní s chronickou kritickou končetinovou ischémií. Klinickým kritériem je přítomnost klidové bolesti DK trvající déle než 2 týdny vyžadující analgetickou léčbu a vznik ulcerace či gangrény na DK. Dalším parametrem je kotníkový systolický tlak nižší než 50



mm Hg, systolický tlak na palci nižší než 30 mm Hg, snížený transkutánní tlak kyslíku pod 10 mm Hg, který se nezvyšuje ani po inhalaci kyslíku. Při fotopletysmografii se nám nedaří nalézt arteriální pulzace na palci. Roční incidence kritické ischemie se odhaduje na 500-1000 / 1 milion obyvatel (Hirsch et al. 2001).

ICHDK má typickou, nikoliv však specifickou symptomatologii. Bolesti při chůzi či v klidu se vyskytují také při různých neurologických či ortopedických postiženích. Nejčastěji se jedná o gonatrozu či koxartrozu, až 60% nemocných s ICHDK může však trpět i tímto postižením. Neurologické a ortopedické vyšetření by mělo vždy následovat po pečlivém klinickém a přístrojovém vyloučení ICHDK.

## **Léčba ICHDK**

Cílem léčby ICHDK je odstranění či zmírnění ischemických příznaků a zabránění progresu aterosklerotických změn. K nemocným s ICHDK musíme vždy přistupovat komplexně, tito pacienti mají většinou aterosklerózu generalizovanou, a proto nejčastěji umírají na infarkt myokardu či na cévní mozkovou příčinu. Rozhodující je eliminace ovlivnitelných rizikových faktorů u všech stádií ICHDK. Z nefarmakologické léčby je zcela rozhodující odstranění kuřáckých návyků a intenzivní rehabilitace. Nejčastěji používanou rehabilitační metodou je intenzivní intervalový trénink, který se řídí lokalizací postižení. Při aortoilickém postižení nemocný cvičí podřepy, při femoropopliteálním a horní 1/3 bérce tepen vystupuje nemocný na špičky. Při lokalizaci v dolních 2/3 bérce je doporučeno provádět dorzální a plantární flexe nohou v horizontální poloze se zdviženými dolními končetinami (Gardner et al. 2005).

Snahou farmakoterapie je od stadia II ovlivnění mikrocirkulace a reologických vlastností krve. Mezi nejdůležitější léky patří vazodilatancia, reologika, prostaglandiny, antiagregancia a antikoagulancia (Coffman et al. 1979). Vazodilatancia jsou indikována ve III. a IV. stadiu onemocnění

(Dormandy et al. 2000), v počátku onemocnění je důležitější intenzivní intervalový trénink (Girolami et al. 1999). Mezi vasodilatační preparáty patří kyselina nikotinová, xantinolnikotinát, teofylin a naftidrofuryl. Novinkou v této oblasti je cilostazol, který selektivně inhibuje fosfodiesterázu III.

Nejčastěji používaným reologikem je pentoxifyllin. Jedná se o xantinový derivát, který má řadu účinků. Kromě blokády cytokinů zlepšuje reologické vlastnosti tím, že snižuje hladinu fibrinogenu, krevní viskozitu, agregaci erytrocytů a jejich deformabilitu, zabraňuje agregaci trombocytů (Hirsch et al. 2006). Dalším preparátem této skupiny je sulodexid, který patří mezi glykosaminoglykany. Je silným antitrombotikem, snižuje hladinu fibrinogenu a viskozitu plasmy (Hiatt et al. 2001).

Prostaglandiny jsou lékem volby u nemocných s kritickou končetinovou ischemií. Kromě významného vasodilatačního efektu zmírňují bolest, inhibují funkci trombocytů a aktivovaných leukocytů, zabraňují proliferaci hladké svaloviny. Jejich nevýhodou je vysoká cena a nutnost intravenózní aplikace (Hiatt et al. 2001).

Antiagregancia zabraňují agregaci trombocytů a tím zamezují tvorbě destičkových trombů. Základním preparátem je kyselina acetylosalicylová, která inhibuje cyklooxygenázu v trombocytech, čímž dochází k potlačení vzniku tromboxanu A<sub>2</sub>. Ticlopidin inhibuje fosfolipázu C a blokuje membránové receptory pro ADP s následnou inhibicí adheze a degranulace destiček. Podobný efekt má clopidogrel, má však méně nežádoucích účinků, zejména vznik neutropenie (Hiatt et al. 2006).

Antikoagulancia se používají zejména u hospitalizovaných nemocných v návaznosti na angioplastiku, po lokální trombolýze či po cévní rekonstrukci. Warfarinizace je indikována zejména u nemocných s přidruženými chorobami, zejména s fibrilací síní či tromboembolickým onemocněním.

Nejčastějšími intervenčními léčebnými technikami je perkutánní angioplastika většinou s aplikací stentů. K výkonu jsou indikováni nemocní

s těsnými stenozami nebo krátkými uzávěry velkých tepen. Při nevhodnosti PTA je zvažována chirurgická léčba, která provedením bypassu vede k vytvoření kolaterálního oběhu se zajištěním distálního prokrvení. Při kritické končetinové ischemii je třeba se vždy pokusit o katetrizační či chirurgickou revaskularizaci. Její výsledek závisí na stavu periferního řečiště. Selže-li u nemocného s kritickou končetinovou ischemií tato léčba, může včasné provedení amputace zmírnit utrpení pacienta a značně zmenšit rozsah neodvratné amputace.

### **Rizikové faktory ICHDK**

Zcela zásadní se jeví ovlivnění všech rizikových faktorů aterosklerózy, pochopení jejich vzájemného vztahu a nalezení účinných populačních preventivních a léčebných opatření (Rosolová a kolektiv 1994). Řada rizikových faktorů působí ovlivněním funkce cévního endotelu. Endoteliální dysfunkce předchází manifestní ateroskleróze. Proto poznání jejího vzniku a následně její ovlivnění je zásadní v prevenci aterosklerózy a jejím závažným komplikacím. Ovlivnění endoteliální dysfunkce i u nemocných s manifestní aterosklerózou může zabránit trombotickým a vasokonstričním komplikacím. Ateroskleróza postihuje různá tepenná řečiště, kromě periferních tepen také řečiště koronární, mozkové a tepny břišní. Nejznámějšími rizikovými faktory pro vznik aterosklerózy jsou kromě pozitivní rodinné anamnézy kuřácké návyky, hyperlipidémie, diabetes mellitus, arteriální hypertenze a obezita. Dalšími rizikovými faktory mohou být hyperhomocysteinémie, hyperfibrinogémie, zvýšení PAI-1, hyperurikémie, stres a nedostatek fyzické aktivity. Úloha některých infekcí (Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, ...) je zatím sporná.

Hyperlipoproteinemii bych rád věnoval více pozornosti i vzhledem k zaměření této práce. Skutečnost, že výskyt aterosklerózy souvisí s koncentrací

cholesterolu, je znám již delší dobu (Adams et al. 2000). Teprve průlomová multicentrická studie 4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study Group 1994) se simvastatinem přinesla jasné důkazy, že snížení hladiny krevních lipidů vede ke snížení výskytu kardiovaskulárních příhod. Tato studie prokázala výrazné snížení srdeční (42%) i celkové mortality (30%) a rovněž snížení nutnosti operačních výkonů na věnčitých tepnách (37%). Výsledky studie 4S byly následně ověřeny řadou jak sekundárních, tak i primárně preventivních studií s pravastatinem a lovastatinem. Podařilo se prokázat pozitivní efekt statinů nejen u ICHS, ale i u cerebrovaskulárních a dalších aterosklerotických vaskulárních onemocnění. Statiny vedou především ke korekci porušené skladby krevních lipidů, vedle toho se připouští možnost i dalších účinků. Léčba statiny má vliv na skladbu a funkci buněčných membrán, ovlivňuje hemokoagulaci a vnitřní trombogenní aktivitu, zlepšuje funkci entoteliálních buněk, omezuje proliferaci a aktivaci buněk hladkého svalstva. Hypolipidemická léčba pravděpodobně vede ke stabilizaci sklerotických plátů, snižuje obsah lipidů v těchto plátech a vede k jejich přeměně na pláty stabilní, které jsou méně náchylné k prasknutí a následnému vzniku akutní trombózy. Z observačních studií je známo, že existuje lineární vztah mezi hodnotou cholesterolu a kardiovaskulární úmrtností a tento vztah funguje minimálně k hodnotám celkového cholesterolu 3,5 mmol/l. Dlouhodobé podávání statinů je bezpečné, což nám ukázala 5-ti letá studie se simvastatinem 40mg Heart Protection Study (Heart Protection Study Collaborative Group 2002). Zejména u diabetiků bez ICHS či ICHDK HPS prokázala vysoce významné 33% poměrné snížení výskytu prvních velkých cévních příhod, stejně u mužů i žen. Velmi důležité bylo zjištění, že efekt léčby ve skupině nad 65 let, ale i nad 75 let byl stejný jako u mladších věkových skupin. Byl prokázán prospěch z léčby i u nemocných s výchozími hodnotami LDL pod 2,6 mmol/l.

## **Mírná hyperhomocysteinemie**

Novějším možným rizikovým faktorem aterosklerózy je mírná hyperhomocysteinemie, kterou jsem v práci podrobně sledoval a zabýval se možnostmi její léčby. Homocystein je aminokyselina poprvé popsána v roce 1952 de Vigneaudem (De Vigneaud 1952). V plasmě se Hcy vyskytuje jako volný pouze asi v 10%, zbytek je vázán ve směsi bisulfidů, homocystinu a homocystein-cysteinu. Pro praktické potřeby se udává hodnota celkového homocysteinu (tHcy), tedy hladina po redukci a uvolnění z výše uvedených sloučenin. Homocystein je v těle syntetizován tzv. methioninovým cyklem, který je součástí degradačního systému aminokyselin s obsahem síry. Homocystein je v methioninovém cyklu buď spolupřítomností vitamínu B12 zpětně remetylován enzymem methionin-syntázou, kde jako donátor metylové skupiny působí folát (kyselina listová), či degradován transsulfurační dráhou na cystathion a cystein, a to enzymem cystathion- $\beta$  syntázou za přítomnosti vitamínu B6 (Robinson et al. 1994). Defekt tohoto enzymu vede k extrémní hyperhomocysteinemii (Hcy > 500  $\mu\text{mol/l}$ ) provázené mentální retardací a těžkými aterosklerotickými změnami tepen a rizikem tromboembolie již v raném věku (Carson et al. 1962). Poměrně dobře je objasněna remetylační dráha homocysteinu. Dárcem metylové skupiny pro vitamin B12 dependentní konverzi Hcy na methionin je 5-methyltetrahydrofolát, který je syntetizován z 5,10 methylenetetrahydrofolátu. Klíčovým enzymem je metylenetetrahydrofolát-reduktasa (Kang et al. 1991). Gen pro MTHFR je lokalizován na krátkém chromozómu 1. V případě mutace dochází k záměně cytosinu za thymin v pozici 677. Důsledkem této záměny je změna struktury proteinu MTHFR a ta způsobuje redukovanou aktivitu a vyšší termolabilitu tohoto enzymu. Genotyp C/C tvoří normální a funkční protein MTHFR, v genu je u obou alel v pozici 677 cytosin. Genotyp C/T produkuje jednak normální protein MTHFR a jednak

protein s redukovanou aktivitou. V pozici 677 v genu pro MTHFR je cytosin, druhá alela je mutovaná záměnou cytosinu za thymin. Genotyp T/T produkuje pouze protein MTHFR s redukovanou aktivitou, u obou alel je cytosin vyměněn za thymin. Autosomálně recesivní mutace byla nalezena asi u 17% pacientů s ICHS a v populaci u cca 5% (Kang et al. 1991).

Homocystein působí na K-V systém již při výrazně nižších koncentracích. Rozmezí mírné hyperhomocysteinemie se pohybuje obvykle mezi 15-30  $\mu\text{mol/l}$ . Vyšší hladiny homocysteinu působí řadou patologických mechanismů, přičemž není dosud přesně známo, který je z nich klinicky nejvýznamnější. Ovlivňuje několika mechanismy koagulaci a je již delší dobu známo, že jeho vysoká hladina vyvolává endoteliální dysfunkci (Kanani et al. 1999). Jedním z předpokládaných mechanismů je tvorba peroxidových a superoxidových aniontů a tím zrychlení oxidativní degradace oxidu dusnatého (Stamler et al. 1993). Oxid dusnatý kromě vasodilatačního působení ovlivňuje i agregaci destiček, adhezi monocytů, vznik superoxidových radikálů, proliferaci hladké svaloviny cév (Tsai et al. 1994) a oxidaci LDL částic (Loscalzo 1996).

Kauzalitu tHCy v etiologii vaskulárních onemocnění prokázala řada retrospektivních, ale i prospektivních sledování. Hordalandská studie zjistila, že zvýšení tHCy o 5  $\mu\text{mol/l}$  je spojeno s nárůstem rizika celkové mortality o 49% a kardiovaskulární mortality o 50% (Vollset et al. 2001). Homocystein je prokázán jako rizikový faktor aterosklerózy i jiného řečiště než koronárního. Studie ECAP (Graham et al. 1997) zařadila i 156 nemocných s ICHDK. Relativní riziko ICHDK bylo v této studii 1.7x vyšší pro nemocné v nejvyšším kvintilu tHCy při srovnání s nižším. Obdobně metaanalýza Boushey (Boushey et al. 1995) našla relativní riziko přítomnosti hyperhomocysteinemie u pacientů s ICHDK (6.8), což bylo překvapivě vyšší než pro ICHS (1.8) či cerebrovaskulární choroby (2.5). Několik významných prací o homocysteinu pochází i z našeho pracoviště. Byla prokázána asociace mezi

hyperhomocysteinemií a zvýšenou tuhostí aortální stěny (Filipovský a kolektiv 2004) a inzulinovou rezistencí (Rosolová a kolektiv 2002).

Základem léčby MHcy je suplementace kyselinou listovou. Podávání vitamínu B12 má pouze přídatný charakter, neboť jeho účinek je poměrně malý. Pyridoxin dokáže snižovat hladinu Hcy pouze po perorální zátěži L-methioninem. Metaanalýza studií s léčbou foláty v dávce 0,2 – 10 mg denně prokázala 25% snížení hladin Hcy u takto léčených osob, spolupodávání vitamínu B12 vedle k dalšímu 7% snížení (HLTG 1998).

### **Oxidační stres**

Volné radikály jsou příčinou řady onemocnění včetně aterosklerózy. Z markerů oxidačního stresu jsou nejčastěji sledovány hodnoty MDA, SOD a GSHPx. Malondialdehyd (MDA) je produktem lipoperoxidace, váže se na lysinové zbytky apo B100. Takto pozměněnou bílkovinu receptory nerozpoznají a po fagocytoze dochází až k tvorbě pěnových buněk. MDA bývá stanovován nejčastěji, jeho hladina je do jisté míry úměrná lipoperoxidaci, i když vyjadřuje jen asi 1/10 hodnoty skutečné lipoperoxidace. Hladina MDA se v krvi rychle mění vylučováním do moče, vazbou na bílkoviny a metabolizací na malonyl-Koa (Ruef et al. 2001). Na druhé straně působí látky antioxidační, superoxiddismutasa a glutathionperoxidasa. SOD stoupá rychle v krvi při zvýšené tvorbě superoxidu. GSHPx štěpí peroxid vodíku a lipidické hydroperoxydy. Při poklesu GSHPx se hromadí peroxid vodíku, který proniká membránami a poškozuje buňky. U diabetiků poškozuje beta buňky pankreatu a tím přispívá ke vzniku a zhoršení diabetes mellitus. Glutathion má také detoxikační účinky, sníženou hladinu nalézáme u kardiovaskulárních onemocnění, diabetu a artritidy. Z cévního hlediska GSH snižuje reakci cukrů s proteiny, tím vzniká méně AGE-proteinů, které způsobují zesílení cévní stěny a inaktivaci oxidu dusnatého.

## **Asymetrický dimetylarginin**

Poslední částí mé disertační práce je sledování hladiny asymetrického dimetylargininu (ADMA) a posouzení vztahu mezi ADMA a konvenčními rizikovými faktory u zdravých osob a nemocných s manifestní aterosklerózou.

Stále nevíme, zda máme ADMA považovat za rizikový faktor aterosklerózy, či za následek endoteliální dysfunkce, proto si zde dovoluji krátce shrnout zatím dostupné informace. Homocystein a jeho prekursor L-methionin zvyšují hladiny asymetrického dimetylargininu (ADMA), a to v závislosti na koncentraci látek. Tento účinek je zprostředkován snížením aktivity enzymu dimethylarginindimethylaminohydrolázy (DDAH), což je enzym produkovaný endotelem. DDAH degraduje velkou většinou ADMA ( při parenterálním podání se ADMA jen v 5% vyloučí do moči nezměněn, zbytek je degradován enzymem především na citrulin). Homocystein inhibuje DDAH tím, že zasahuje sulfhydrylovou skupinu, která je pro tento enzym klíčovou (patrně tím, že se s ní váže a vytvoří s DDAH bisulfid). Podařilo se prokázat, že zvýšené hodnoty asymetrického dimethylargininu inhibují NO-syntázu, a tím vyvolávají endoteliální dysfunkci (Ito et al. 1999). Inhibice DDAH vyvolává v experimentu vazokonstrikci a tento efekt se dá zrušit přidáním L-argininu, což je přirozený zdroj NO. Ke kumulaci ADMA dochází především u nemocných s renální insuficiencí, neboť ADMA je vylučován ledvinami. Nemocní v chronickém dialyzačním programu dnes z velké části umírají na kardiovaskulární nemoci díky pokročilé ateroskleróze a díky faktu, že komplikace vlastní dialýzy jsou dnes málo časté. Proto jsou studie u těchto nemocných cenné ve výzkumu aterosklerózy a jejích komplikací. V roce 2001 byla publikována první prospektivní studie, v níž autoři sledovali kromě jiných faktorů ADMA u hemodialyzovaných nemocných po dobu 33 měsíců (Zoccali et al. 2001). Zjistili, že ADMA silně předpovídal celkovou mortalitu i výskyt



kardiovaskulárních příhod, a to jako druhý nejsilnější faktor hned po věku. Ve stejném čísle časopisu Lancet byla publikována studie provedená u mužů středního věku ve Finsku, kde autoři sledovali hladiny ADMA u mužů po infarktu myokardu a u stejně starých kontrolních jedinců (Valkonen et al. 2001). Prokázali opět, že ADMA hraje roli také u nemocných s normálními renálními funkcemi, tj. u jedinců, kde exkrece ADMA ledvinami je normální, a tedy že je to především aktivita hlavního degradačního enzymu, DDAH, která může mít vztah k rozvoji aterosklerózy a následných komplikací. Snížení dostupnosti NO a endoteliální dysfunkce hraje významnou roli v patogenezi restenozy po provedené koronární angioplastice. ADMA se pravděpodobně chová jako proaterogenní molekula (Böger et al. 1998), která stimulací sekrece monocytárního chemotaktického proteinu 1 zvyšuje tvorbu endoteliálního superoxidového radikálu a dále potencuje adhezi monocytů, což může částečně vysvětlit horší výsledky provedené koronární angioplastiky u pacientů se zvýšenou hodnotou ADMA před zákrokem. Aktivitu DDAH pravděpodobně ovlivňuje kromě hyperhomocysteinemie i výše cholesterolemie a glykémie. V experimentech bylo zjištěno, že ADMA v hodnotách 1-10  $\mu\text{mol/l}$  inhibuje vasodilataci závislou na endotelu a aktivitu NO syntézy (Thum et al. 2005). Tyto výsledky jsou velmi sugestivní a při jejich definitivním potvrzení mohou mít praktický dopad na prevenci kardiovaskulárních onemocnění. Nepříznivý účinek nízké aktivity DDAH můžeme vyrušit podáním L-argininu, který by mohl zlepšovat funkci endotelu, inhibovat agregaci destiček a zpomalovat atherogenezu.

## **Cíle práce**

Základním cílem této práce bylo ověřit účelnost běžné farmakoterapie u nemocných s ischemickou chorobou tepen dolních končetin. Sledování bylo zaměřeno na následující 4 oblasti:

1. Posouzení dlouhodobého laboratorního a klinického efektu statinů u dvou skupin nemocných s ICHDK; u skupiny nemocných s poruchou lipidových parametrů, a u skupiny bez poruchy lipidového metabolismu.
2. Posouzení laboratorního a klinického účinku nejčastěji používaného farmaka v indikaci aterosklerotických uzávěrů periferních tepen – pentoxifyllinu, při i.v. aplikaci a dlouhodobé p.o. medikaci.
3. Třetí oblastí sledování byl výskyt mírné hyperhomocysteinemie u nemocných s ICHDK a její farmakologické ovlivnění suplementací kyselinou listovou. Kontrolní skupinou byli zdraví senioři a testována byla též závislost na příslušném genotypu MTHFR.
4. Čtvrtou oblastí výzkumu bylo stanovení hladiny asymetrického dimetylargininu a posouzení vztahu mezi ADMA a konvenčními rizikovými faktory u relativně zdravých osob a pacientů s manifestní aterosklerózou.

## **Metodika**

### **Laboratorní ukazatele:**

Hladiny jednotlivých frakcí lipidů byly stanoveny v plasmě fotometricky pomocí analyzátoru HITACHI 917 s užitím chemikálií od firmy Roche. Nemocný před náběrem 12 hodin lačněl. Stanovovali jsme celkový cholesterol (norma < 5 mmol/l), LDL cholesterol (norma < 3 mmol/l), HDL cholesterol (norma > 1 mmol/l), TG (norma < 2 mmol/l).

Koagulační parametry fibrinogen, plasminogen a antitrombin III byly stanoveny pomocí komerčních kitů Chromogenix a kitů Instrumental Laboratory.

Pro stanovení markerů oxidativního stavu byla použita heparinizovaná krev.

Malondialdehyd byl stanoven pomocí substancí reagujících s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS), superoxiddismutaza v erytrocytech, glutathionperoxidaza (GSHPx) v celé krvi a celková antioxidační kapacita pomocí kitů Randox (Crumulain, N. Ireland, UK). Redukovaný glutathion byl měřen kity Oxis Intern (Bonnenie, Marie, Francie). Všechny metody byly adaptovány pro analyzátor HITACHI 717.

Genetický polymorfismus methylenetetrahydrofolatreduktázy byl stanoven PCR metodou (DNA izolace používající Quiagen kity následovaná amplifikací, rozštěpením a elektroforetickou detekcí specifického DNA fragmentu). Všechny subjekty byly testovány na přítomnost C/C (homozygot s oběma normálními alelami), C/T (heterozygot) anebo T/T (homozygot s oběma mutovanými alelami).

Homocystein a ADMA byly stanovovány metodou HPLC s fluorescenční detekcí. Vzhledem k technickým potížím se stanovením ADMA metodou HPLC jsme posléze přešli na metodu ELISA. Zjistili jsme, že míra shody je vysoká, a

že metoda ELISA je časově mnohem méně náročná (Šíroká 2005). ADMA u porovnávaných skupin nemocných byl stanoven vždy shodnou metodikou.

### **Funkční ukazatele:**

Funkční výkonnost pacientů byla testována na pohyblivém chodníku ERGOCOMP EC 560 firmy PPG HELLIGE GmbH při rychlosti 2,5 km/h a stoupání 7,5%. Stanovali jsme klaudikační interval v metrech, tj. maximální vzdálenost, kterou nemocný ušel bez bolestí dolních končetin nutících nemocného zastavit.

Místní tlak na periferních arteriích dolních končetin byl měřen dopplerovským průtokovým detektorem „Dopplex“ firmy Huntleigh Diagnostics Ltd., kotníkový index kalkulován jako poměr hodnoty systolického tlaku na a. tibialis posterior ku hodnotě systolického tlaku na a. brachialis PHK. Vyšetření bylo prováděno vleže po 10 minutách klidu na zádech. Při vstupním vyšetření byl změřen kotníkový index na obou dolních končetinách. Při sledování efektu léčby jsme zvolili více postiženou dolní končetinu s nižším kotníkovým indexem.

### **Statistika:**

Vzhledem k tomu, že sledované veličiny neměly normální rozložení jsme používali neparametrické (pořadové) testy. Normalitu jsme testovali jednoduchým testem pro kontrolu šikmosti a špičatosti.

Pro posouzení závislosti jednotlivých veličin byla použita pořadová korelace (Spearman).

Souvislost genotypu MTHFR s ostatními veličinami byla testována Kruskal-Walisovým testem (neparametrická analogie ANOVY).

Pro porovnání hodnot před a po léčbě byl použit Wilcoxonův párový test.

Dvouvýběrový test jsme použili pro srovnání 2 nezávislých skupin.

## **1 Léčba statiny u pacientů s ICHDK**

### **1.1 Pacienti s poruchou spektra krevních lipidů - ovlivnění laboratorních ukazatelů a funkční výkonnosti**

**Cíl:** Posouzení dlouhodobého laboratorního a klinického efektu statinů u nemocných s ICHDK s poruchou lipidových parametrů.

#### **Metodika:**

Do prospektivního sledování byli zařazováni pacienti s ICHDK II.-III. funkčního stadia, kteří podstoupili angiografické vyšetření tepen DK a byli pro pokročilost aterosklerotických změn léčeni konzervativně a byl předpoklad jejich spolupráce. Nemocní byli podrobně informováni o průběhu tohoto sledování, nepodepisovali informovaný souhlas. Nejméně 6 týdnů před zařazením do tohoto sledování byla nemocným vynechána veškerá hypolipidemická léčba. Všichni pacienti po zařazení do sledování byli léčeni simvastatinem v dávce 20 mg denně, v případě vzestupu hodnoty celkového cholesterolu nad 6 mmol/l byla tato dávka zvýšena na 40 mg. Při vzestupu hodnoty TG nad 3 mmol/l byla hypolipidemická terapie rozšířena o fenofibrát. Bazální medikaci jsme se snažili už během vymývací fáze neměnit. V dlouhodobém sledování užívali pacienti vždy pentoxifyllin a antiagregační či antikoagulační léčbu. Dávky perorálních antidiabetik či inzulinoterapie byly dle kompenzace upravovány. Antihypertenzní léčba byla upravována při neuspokojivých hodnotách krevního tlaku, cílem léčby bylo udržení hodnoty TK < 140/80 mm Hg. Uspořádání v této skupině je koncipováno jako „sám sobě kontrolou“, tj. jako srovnání s výchozí hodnotou před léčbou.

Do sledování po dobu 24 měsíců bylo zařazeno 50 pacientů. Charakteristika souboru je shrnuta v (tab. 1).

**Tabulka č. 1: Základní charakteristika souboru**

---

Parametr	
počet pacientů	n=50
pohlaví (% žen)	36
věk (roky).....median / kvartil.rozptyl	64,3 (51,7 - 72,8)
body mass index (kg/m <sup>2</sup> )...median / kvartil.rozptyl	25,51(23,2 - 32,8)
aktuální kouření (%)	44
DM 2.typu (%)	20
antihypertenzní léčba (%)	50

### **Výsledky:**

Poruchu lipidového metabolismu při vstupu do sledování lze charakterizovat jako středně závažnou ve všech ukazatelích (tab. 2). Přítomny byly také další změny, byla zvýšená hladina homocysteinu (norma < 15 μmol/l), ukazatele oxidačního stavu lze hodnotit jako nakloněné prooxidačním směrem, především při srovnání s hodnotami z dalšího vývoje. Laboratorní ukazatele byly hodnoceny v celé skupině v časovém sledu dle vypracovaného protokolu. Přes pečlivou titraci dávky simvastatinu bylo dosaženo normálních hodnot až za 24 měsíců. Hladina homocysteinu během sledování statisticky významně klesala bez specifické léčebné intervence. Glykémie se při kontrolních náběrech postupně zvyšovala, při poslední kontrole lehce přesahovala normu. Nutno dodat, že 1/5 pacientů měla prokázaný diabetes mellitus 2. typu. Fibrinogen zaznamenal v průběhu měsíců pozvolný statisticky nevýznamný vzestup v limitu normálních hodnot.

U ukazatelů oxidačního stavu je nutné hodnotit především jejich časovou dynamiku. Arbitrární normální hodnoty jsou pro oxidační stav jen orientační, neboť jde o proměnlivý stav. Malondialdehyd je ukazatelem lipoperoxidace a od 18. měsíce jeho produkce statisticky významně klesala. Superoxiddismutaza jako enzym zúčastněný při peroxidaci statisticky významně stoupala od 18.

měsíce. Glutathion v erythrocytech se po celou dobu sledování neměnil, aktivita glutathionperoxidazy byla za 12.-18. měsíců snad o trochu vyšší. Nápadná je v tuto dobu shoda upravujících se poměrů skladby krevních lipidů a úpravy oxidačního stavu.

Klaudikační interval se v průběhu jednotlivých měsíců prodlužoval. Za 3, 6 a 12 měsíců bylo prodloužení statisticky nevýznamné, v kritickém 18. měsíci byl zaznamenán statisticky významný rozdíl (při této kontrole se rovněž normalizovaly lipidové parametry a byly též významně nižší parametry oxidačního stavu). Později se již klaudikační interval neprodlužoval.

Kotníkový index se také zvyšoval, statisticky významný je rozdíl ve 12. měsíci.

**Tabulka č. 2: Pacienti s ICHDK s poruchou spektra krevních lipidů - změna laboratorních ukazatelů a funkční výkonnosti oproti vstupnímu vyšetření**

počet pacientů	vstupní.vyš.		za 12 měsíců			za 18 měsíců			za 24 měsíců		
	n=50		n=50		p	n=50		P	n=50		p
Parametr	median	kvart. rozptyl	median	kvart. rozptyl		median	kvart. rozptyl		median	kvart. rozptyl	
Celk.cholesterol (mmol/l)	6,91	5,71-7,12	5,44	5,08-6,29	***	5,16	4,55-5,32	***	4,94	4,32-5,16	***
LDL cholesterol (mmol/l)	4,88	4,65-5,16	3,42	3,19-3,71	***	3,21	3,03-3,54	***	2,96	2,55-3,29	***
HDL cholesterol (mmol/l)	0,95	0,84-1,32	1,22	1,12-1,57	***	1,27	1,19-1,75	***	1,33	1,10-1,64	***
TG (mmol/l)	2,71	2,52-3,16	2,17	1,67-2,42	***	1,94	1,58-2,30	***	1,78	1,39-2,08	***
Homocystein (μmol/l)	22,10	18,1-24,5	18,31	15,2-23,9	***				17,54	11,6-21,4	**
Fibrinogen (g/l)	3,66	3,29-4,01	4,01	3,77-4,22	**	3,94	3,68-4,17	*	3,85	3,32-4,08	n.s.
Glykémie (mmol/l)	4,76	4,10-4,99	5,79	5,52-6,08	***	5,71	5,44-6,12	***	5,60	5,38-6,05	***
MDA (μmol/l)	3,09	2,61-3,59	2,98	2,74-3,46	n.s.	2,66	2,22-2,98	**	2,27	1,94-2,37	***
SOD (U/g Hb)	1203,6	1145-1289	1199,7	1148-1254	n.s.	1308,9	1276-1349	**	1372,1	1312-1405	***
GSHPx (U/g Hb)	47,2	39,2-59,6	49,5	40,7-59,8	n.s.	51,9	44,8-53,9	*	46,8	38,2-58,4	n.s.
GSH (mmol/l Ery)	1,68	1,38-1,95	1,66	1,31-1,88	n.s.	1,72	1,34-1,91	n.s.	1,68	1,35-2,01	n.s.
CAC (mmol/l)	1,31	1,23-1,42	1,34	1,31-1,56	n.s.	1,46	1,38-1,73	***	1,49	1,33-1,81	***
Klaud.interval (m)	161,8	86-204	169,8	78-219	n.s.	178,7	86-215	*	170,9	80-228	n.s.
Kotník.index	0,491	0,36-0,59	0,533	0,40-0,62	*	0,518	0,37-0,58	n.s.	0,511	0,39-0,57	n.s.

---

MDA, malondialdehyd; SOD, superoxiddismutaza; GSHPx, glutathionperoxidaza; GSH, glutathion v ery; CAC, celková antioxidační kapacita  
kotníkový index: poměr systolického TK nad ATP k hodnotě systolického TK nad a.brachialis PHK  
Wilcoxon.párový test: \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , n.s. nesignifikantní, oproti vstupnímu vyšetření

## Diskuze:

Skupina 50 pacientů se vstupní smíšenou hyperlipidémií, kde jsme sledovali funkční výkonnost při uspořádání sám sobě kontrolou (srovnání naměřených hodnot během léčby se vstupní hodnotou), představovala metodicky méně dokonalou formu z hlediska statistického důkazu, ale poměrně vysoký počet probandů dovoluje učinit závěr, že nebyl zaznamenán trend k dalšímu zhoršování funkčního stavu, ale naopak trend k prodlužování klaudikační vzdálenosti s dosažením statistické významnosti za 18 měsíců. Lipidové parametry byly sledovány jednak z důvodů monitorování účinku statinů, ale také jako korelát ke stanovovaným markerům oxidačního stavu. Jejich ovlivnění jsme hypoteticky předpokládali jako nezávislý účinek prováděné léčby. Oxidační stav za 18 a 24 měsíců lze hodnotit jako nejnižší ve srovnání s předcházejícími intervaly a je zajímavé, že v tuto dobu se navozuje normalizace lipidových parametrů a zároveň se statisticky významně také prodloužil klaudikační interval. Interpretace parametrů oxidačního stresu je nejednoznačná, stále nevíme, zda normalizace lipidových parametrů snižuje oxidační zátěž cévního endotelu či zda elevace oxidačních markerů může sama o sobě vést k endoteliální dysfunkci.

Léčba statiny byla též provázena snižováním homocysteinu, jak jsme zaznamenali po 12 měsících léčby. Příčinná souvislost není z dosavadních poznatků vysvětlitelná. Hladina fibrinogenu v průběhu měsíců postupně stoupala, např. ve 12. měsíci dosáhla významnosti rozdílu ( $p < 0,01$ ). Změny byly však v limitu normálních hodnot. Podobně se zvyšovala též průměrná hodnota glykémie, pětinu nemocných tvořili pacienti s diabetes mellitus 2. typu. Zaznamenané účinky by mohly připustit možnost uplatnění tzv. aditivních „nelipidových“ účinků statinů.



Obdobné výsledky přineslo i několik zahraničních studií. Podávání 40 mg simvastatinu (Aronow et al. 2003) u nemocných s ICHDK starších 60 let a vstupní hodnotou LDL  $\geq 3,2$  mmol/l vedlo po 1 roce u 31 nemocných léčených statinem k prodloužení vstupního klaudikačního intervalu o 95 sekund ( $p < 0,001$ ). U 29 nemocných léčených placebem došlo ke zkrácení vstupního klaudikačního intervalu o 10 sekund (n.s.). Srovnání 12 měsíčního efektu 10 mg a 80 mg atorvastatinu s placebem u 601 nemocných s ICHDK (Emile et al. 2003) se vstupní hodnotou LDL nižší než 4,14 mmol/l vedlo k signifikantnímu prodloužení klaudikačního intervalu v léčené skupině o 78 sekund. Ve skupině léčené placebem byl významně vyšší výskyt vaskulárních komplikací oproti léčeným skupinám. V podskupině pacientů s ICHDK léčených ve studii 4S (Pedersen et al. 1998) vedla terapie simvastatinem ke 40% snížení rizika zhoršení klaudikací.

## **1.2 Pacienti bez poruchy spektra krevních lipidů - ovlivnění laboratorních ukazatelů a funkční výkonnosti**

**Cíl:** Porovnání dlouhodobého laboratorního a klinického efektu statinů u nemocných s ICHDK bez poruchy lipidového metabolismu oproti pouhému dietnímu doporučení.

### **Metodika:**

Zařazování do prospektivního sledování byli opět pacienti s uzávěrovou chorobou tepen DK II.-III. funkčního stadia, kteří také podstoupili arteriografické vyšetření tepen DK a byli pro pokročilost aterosklerotických změn léčeni konzervativně a byl předpoklad jejich spolupráce. Podmínkou zařazení byly normální vstupní hodnoty lipidogramu, tj. celkový cholesterol < 5 mmol/l, LDL < 3 mmol/l, HDL > 1 mmol/l a TG < 2 mmol/l. Toto sledování bylo koncipováno jako srovnání pacientů s ICHDK randomizovaně zařazených do skupiny léčené statinem a skupiny s doporučením dietního režimu (bez hypolipidemické léčby) po dobu 24 měsíců. Charakteristika souborů je uvedena v (tab. 3). Všichni nemocní zařazení do léčené skupiny statinem užívali simvastatinem v dávce 20 mg denně. Všichni nemocní užívali pentoxifyllin a antiagregační či antikoagulační léčbu. Perorální antidiabetika či inzulinoterapie se ve většině neměnily v dávce, dle kompenzace byla dávka přizpůsobována. Antihypertenzní léčba byla upravována při neuspokojivých hodnotách krevního tlaku, cílem léčby bylo udržení hodnoty TK < 140/80 mm Hg.

**Tabulka č. 3: Základní charakteristika souborů**

	skupina léčená simvastatinem	skupina na dietním režimu
Parametr		
Počet pacientů	n=20	n=22
pohlaví (% žen)	40	36,4
věk (roky).....median / kvartyl.rozptyl	61,5 (52,3 - 71,7)	64,9 (53,9-72,4)
body mass index (kg/m <sup>2</sup> )...median / kvartyl.rozptyl	26,7 (24,5 - 33,9)	28,8 (25,1-34,8)
aktuální kouření (%)	40	54,5
DM 2.typu (%)	30	45,5
antihypertenzní léčba (%)	60	72,7

**Výsledky:**

Vstupní průměrné hodnoty spektra krevních lipidů byly v limitu normálních hodnot v obou skupinách (tab. 4).

**Tabulka č. 4: Pacienti s ICHDK bez poruchy spektra krevních lipidů - laboratorní ukazatele a funkční výkonnost oproti vstupnímu vyšetření**

Parametr		vstupní vyš.		za 12 měsíců		p	za 18 měsíců		p	za 24 měsíců		p
		dieta (n=22)	statin (n=20)	dieta (n=22)	statin (n=20)		dieta (n=22)	statin (n=20)		dieta (n=22)	statin (n=20)	
		median	kvart. rozptyl	median	kvart. rozptyl		median	kvart. rozptyl		median	kvart. rozptyl	
Celkový cholesterol	Dieta	4,76	4,40-4,97	5,55	5,15-5,89	***	5,88	5,61-6,22	***	6,28	5,89-6,85	***
	Statin	4,80	4,28-5,00	4,57	4,12-4,71	*	4,23	3,94-4,62	**	4,29	3,68-4,83	*
LDL cholesterol	Dieta	2,95	2,59-2,98	3,69	3,28-4,01	***	3,99	3,59-4,34	***	4,32	4,11-4,79	***
	Statin	3,19	2,62-2,93	2,74	2,36-3,01	**	2,34	2,15-2,59	***	2,46	1,81-2,92	**
HDL cholesterol	Dieta	1,14	1,09-1,26	1,09	1,04-1,15	n.s.	1,06	1,01-1,10	n.s.	1,03	0,95-1,09	*
	Statin	1,11	1,02-1,20	1,22	1,13-1,28	**	1,25	1,16-1,33	***	1,30	1,24-1,39	***
Triglyceridy (mmol/l)	Dieta	1,72	1,62-1,94	2,27	1,88-2,65	***	2,30	2,06-2,65	***	2,69	2,28-2,98	***
	Statin	1,54	1,28-1,69	1,40	1,29-1,58	n.s.	1,85	1,58-1,98	**	1,51	1,22-1,75	n.s.
Klaudikační interval (m)	Dieta	172,5	78-215	152,5	95-205	n.s.	147,0	80-206	*	143,5	94-193	*
	Statin	119,0	69-162	153,0	72-189	**	160,0	78-198	***	156,0	85-257	***
Kotníkový index	Dieta	0,395	0,26-0,62	0,365	0,25-0,55	**	0,355	0,26-0,56	**	0,330	0,26-0,55	**
	Statin	0,360	0,25-0,51	0,380	0,32-0,58	**	0,390	0,31-0,57	**	0,405	0,30-0,62	***

---

Celkový, LDL a HDL cholesterol (mmol/l)

Kotníkový index: poměr systolického TK na ATP k hodnotě systolického TK na a.brachialis PHK

Wilcoxon.párový test: \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , n.s. nesignifikantní, oproti vstupnímu vyšetření

Ve skupině s dietním režimem se parametry lipidového metabolismu již od 6 měsíců statisticky významně zhoršovaly, tento trend zhoršování byl zachován i při následujících kontrolách, HDL cholesterol mírně klesal.

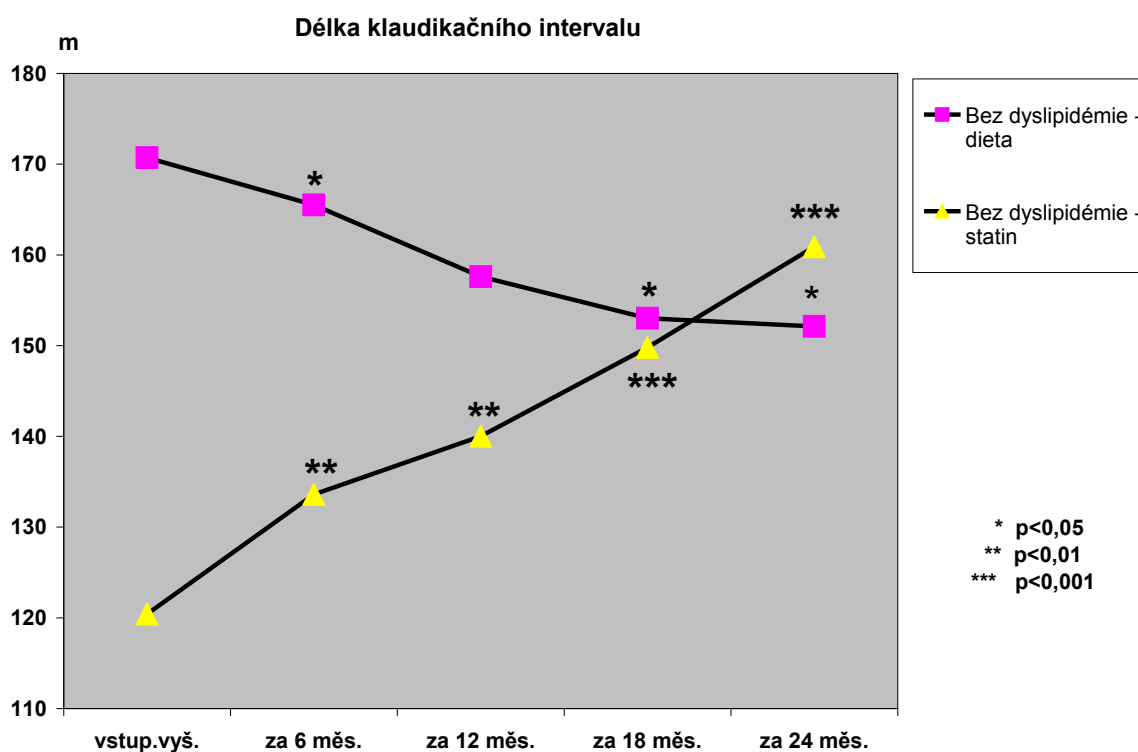
Ve skupině léčené simvastatinem došlo v průběhu měsíců k dalšímu statisticky významnému poklesu LDL cholesterolu a vzestupu HDL cholesterolu, ačkoliv se vše dělo v rozmezí normálních hodnot. Jen triglyceridy byly vyšší za 6 a 24 měsíců.

Parametr délky klaudikačního intervalu se měnil v obou skupinách s opačným trendem (graf 1).

Ve skupině s dietním režimem došlo v 6. měsíci k statisticky významnému zkrácení, trend dalšího zkracování se prohluboval za 18 a 24 měsíců. Také kotníkový index se snížil již za 6 měsíců, trend kopíroval vývoj klaudikačního intervalu.

Ve skupině léčené statiny bylo zaznamenáno prodlužování klaudikačního intervalu, a to již v 6. měsíci. Tento trend se s uspokojivou statistickou významností uplatňoval i v dalších měsících. Kotníkový index se zvyšoval se statisticky významnými rozdíly proti výchozí hodnotě ve všech intervalech sledování.

**Graf č. 1: Vývoj klaudikačního intervalu**



### **Diskuze:**

V této části studie jsme si položili otázku, zda je možné statiny oproti pouhým dietním opatřením ovlivnit výkonnost pacientů s ischemickou chorobou tepen DK bez poruchy krevních lipidů. Při nižších počtech pacientů jsme sice nedocílili úplného vyvážení všech vstupních parametrů pacientů, přesto je trend vývoje délky klaudikačního intervalu zřetelně opačný, zkracuje se ve skupině léčené dietou a prodlužuje se ve skupině léčené statiny. Tento závažný fakt není potlačován skutečností, že vstupní klaudikační interval měl větší rozptyl. Z tohoto důvodu byl použit ke statistickému zhodnocení Wilcoxonův neparametrický párový test, který je nezávislý na této povaze dat. Lipidové ukazatele zřetelně klesaly ve skupině léčené statiny na hodnoty nižší než byla

vstupní hodnota, pokles se ovšem odehrával v normálním limitu. Ve skupině s dietním režimem došlo již od 6. měsíce k signifikantnímu vzestupu celkového a LDL cholesterolu, vzestupu triglyceridů, HDL cholesterol klesal pouze nesignifikantně.

Zahraniční práce věnující se této problematice zařazovaly nemocné s hodnotami LDL nižší než 3 mmol/l současně s pacienty s hodnotami LDL nad 3 mmol/l do sledovaných souborů, nemocní s ICHDK a s LDL < 3 mmol/l nebyli samostatně sledováni.

Současný pohled na nelipidové účinky statinů je mírně skeptický. Snížení kardiovaskulární a celkové mortality je připisován hypolipidemickému efektu statinů. Pokud byli nemocní léčeni LDL-aférezou, pak dramatický pokles LDL byl také provázen zlepšením endoteliální dysfunkce a poklesem ultrasenzitivního CRP (hs-CRP). CRP klesá při léčbě fibráty i ezetimibem.

Příznivý dopad užívání statinů dříve přičítaný nelipidovým účinkům je spíše dán tím, že snižování lipidů je prospěšné také v rozmezí hodnot, které jsme dříve pokládali za normální. Studie HPS se simvastatinem nám přinesla jednoznačný důkaz o snížení kardiovaskulárních příhod u nemocných s vysokým KV rizikem, jejichž lipidový profil byl normální či lehce nad normu. V této studii byli sledováni i nemocní s manifestní ICHDK.

Domnívám se, že pokles LDL cholesterolu může vést ke stabilizaci aterosklerotických plátů, a tím i snížení CRP. Nově se podařilo zjistit, že statiny významně snižují výskyt Alzheimerovy choroby a až o 47% výskyt kolorektálního karcinomu. Mechanismus tohoto účinku však není přesně znám. Nelipidové účinky statinů jistě existují, bohužel stále nemáme dostatek důkazů. Tyto léky nasazujeme ale z důvodu snížení hladiny lipidů, a ne pro jejich nelipidový efekt. Jako rozhodující se jeví dlouhodobá stabilizace sklerotických plátů. Léčbu po dosažení cílových hodnot bychom neměli přerušovat. V minulosti byly doporučovány krátkodobé pauzy ve farmakoterapii, dnes je však od této myšlenky odklon, neboť byl prokázán dlouhodobý bezpečnostní

profil statinů. Také naše práce prokázala dlouhodobý bezpečností profil statinů a význam dlouhodobé hypolipidemické terapie ke stabilizaci sklerotických plátů. Všichni nemocní s manifestní ICHDK by měli užívat statin, pokud hodnota celkového cholesterolu je  $\geq 3,5$  mmol/l.

## 2 Léčba pentoxifylinem u pacientů s ICHDK

### Farmakodynamické a terapeutické účinky pentoxifylinu

#### 2.1 Intravenozní podání jednotlivé dávky

**Cíl:** Posouzení možného laboratorního účinku intravenózně podaného pentoxifylinu u nemocných s ICHDK.

#### Metodika:

Ve studii byli sledováni nemocní s ICHDK II. a III. stadia hospitalizovaní na lůžkové části Oddělení klinické farmakologie FN Plzeň, kteří podstoupili arteriografické vyšetření tepen DK. Nemocným byla 14 dnů před přijetím vynechána vasodilatační léčba pentoxifylinem či naftidrofurylem. Náběry byly provedeny před a po podání 200mg pentoxifylinu ve 250 ml fyziologického roztoku po dobu 2 hodin. Během aplikace nemocní byli v klidu na lůžku.

#### Výsledky:

Po intravenózním podání došlo ke snížení hodnoty fibrinogenu ( $p < 0.05$ ), zvýšila se aktivita superoxiddismutazy a glutathionperoxidazy ( $p < 0.05$ ), což lze interpretovat jako projev možného snížení oxidačního stavu ( tab. 5).

**Tabulka č. 5: Laboratorní parametry před a po podání jednotlivé dávky 200mg pentoxifylinu v i.v. infuzi po dobu 2 hod**

Parametr	před podáním n=30		po podání n=30		p
	median	kartilový rozptyl	median	kartilový rozptyl	
Fibrinogen (g/l)	3,72	3,69 - 4,17	3,45	3,21 - 3,86	<0,05
MDA ( $\mu\text{mol/l}$ )	3,31	2,96 - 3,51	3,29	2,98 - 3,55	n.s.
SOD (U/g Hb)	1151,9	1112 – 1184	1186,7	1132 - 1308	<0,05

GSHPx (U/g Hb)	41,5	41,2 - 41,8	44,0	43,8 - 44,5	<0,05
GSH (mmol/l Ery)	1,66	1,51 - 1,75	1,67	1,58 - 1,81	n.s.
CAC (mmol/l)	1,30	1,21 - 1,52	1,32	1,26 - 1,59	n.s.

MDA, malondialdehyd; SOD, superoxiddismutaza; GSHPx, glutathionperoxidaza; GSH, glutathion v ery; CAC, celková antioxidační kapacita  
Wilcoxon.párový test, n.s. nesignifikantní

## 2.2 Orální podání jednotlivé dávky

**Cíl:** Posouzení možného laboratorního efektu pentoxifyllinu u nemocných s ICDK dlouhodobě užívajících tuto léčbu.

### Metodika:

Ve studii byli sledováni nemocní s ICHDK II. a III. stadia sledování v cévní poradně při Oddělení klinické farmakologie FN Plzeň. Nemocní užívali dlouhodobě vasodilatační léčbu pentoxyfillinem (minimálně 6 měsíců). Pentoxifyllin byl podán v retardované tabletě (Agapurin retard) v dávce 400 mg 50 pacientům. Stanovení bylo provedeno před a 2 hodiny po podání tablety. Během těchto 2 hodin nemocní seděli v klidu v čekárně.

### Výsledky:

Po perorálním podání se snížila hodnota fibrinogenu ( $p < 0.05$ ) a zvýšila se aktivita superoxiddismutazy ( $p < 0.05$ ) a celková antioxidační aktivita (tab. 6). Výsledky jsou obdobné jako při intravenózním podávání pentoxifyllinu po 14 denní vymývací periodě. Pentoxifyllin si pravděpodobně zachovává účinnost i při dlouhodobém p.o. podávání.

**Tabulka č. 6: Účinek jednotlivé dávky pentoxifyllinu 400 mg orálně podaného v jedné retardované tabletě**

Parametr	před podáním n=50		po podání n=50		p
	median	kvartilový rozptyl	median	kvartilový rozptyl	
Fibrinogen (g/l)	3,93	3,76 – 4,57	3,75	3,51 - 4,36	<0,05
MDA (μmol/l)	3,21	2,94 – 3,62	3,23	2,91 - 3,75	n.s.



SOD (U/g Hb)	1249,3	1192 - 1286	1270,2	1211 - 1306	<0,05
GSHPx (U/g Hb)	47,5	47,3 - 47,9	48,2	47,9 - 48,7	n.s.
GSH (mmol/l Ery)	1,66	1,41 - 1,95	1,67	1,38 - 1,91	n.s.
CAC (mmol/l)	1,31	1,11 - 1,72	1,42	1,24 - 1,89	<0,05

MDA, malondialdehyd; SOD, superoxiddismutaza; GSHPx, glutathionperoxidaza; GSH, glutathion v ery; CAC, celková antioxidační kapacita  
Wilcoxon.párový test, n.s. nesignifikantní

### 2.3 Klaudikační interval před 8 denní infúzní léčbou a po ní

**Cíl:** Posuzení účelnosti podávání infúzní vasodilatační léčby během hospitalizace.

#### Metodika:

Ve studii byli sledováni nemocní s ICHDK II. a III. stadia přijímaní na lůžkovou část Oddělení klinické farmakologie FN Plzeň pro zhoršení klaudikačních bolestí. Nemocní před přijetím užívali dlouhodobě vasodilatační léčbu pentoxyfillinem ( minimálně 6 měsíců ). Infúzní terapie pentoxifyllinem v dávce 200 mg ve 250 ml fyziologického roztoku byla podávána 2x denně po dobu 8 dní. Pokud byl nemocný hospitalizován po dobu delší než 8 dní, byl i u těchto nemocných vyhodnocen stav 8.dne hospitalizace. Během podávání infúze nemocní leželi v klidu na lůžku. Během hospitalizace byl prováděn intenzivní intervalový trénink. Při aortoilickém postižení nemocný cvičí podřepy, při femoropopliteálním a horní 1/3 bérceových tepen vystupuje nemocný na špičky. Při lokalizaci v dolních 2/3 bérce je doporučeno provádět dorzální a plantární flexe nohou v horizontální poloze se zdviženými dolními končetinami.

#### Výsledky:

Infúzní terapie pentoxifyllinem po dobu 8 dní vedla ve skupině 50 pacientů ke statisticky významnému prodloužení klaudikačního intervalu ( $p < 0.01$ ) a vzestupu kotníkového indexu ( $p < 0.001$ ) (tab. 7).

**Tabulka č. 7: Parametry funkční výkonnosti před a po 8 denní vasodilatační infúzní terapii**

počet pacientů	před léčbou n=50		po léčbě n=50		p
	median	kvartilový rozptyl	median	kvartilový rozptyl	
Parametr					
Klaudikační interval (m)	163,7	94 - 219	179,5	112 – 239	<0,01
Kotníkový index	0,491	0,38 - 0,57	0,54	0,43 - 0,62	<0,001
Systolický TK na PHK (mmHg)	138,0	131 - 156	137,0	132- 154	n.s.

Wilcoxon.párový test, n.s. nesignifikantní

### Diskuze:

Pozitivní efekt pentoxifyllinu na snížení hladiny fibrinogenu byl pozorován při perorálním i infúzním podávání pentoxifyllinu. Získaná data připouští, že se dostavuje i určitý antioxidační účinek. Osmi-denní infúzní léčba vedla k statisticky významnému prodloužení klaudikačního intervalu a nárůstu kotníkového indexu. Pravděpodobně se zde uplatnil i efekt infúzí na zvýšení intravaskulárního objemu a vliv intenzivní rehabilitace. Zda se jednalo o skutečný efekt pentoxifyllinu, by bylo možno ověřit pouze ve studii kontrolované placebem, kdy kontrolní skupina by dostávala infúze s čistým fyziologickým roztokem. Ze získaných dat považujeme hospitalizaci nemocných se zhoršením klaudikačního intervalu za účelnou vzhledem ke zmírnění klaudikačních bolestí při komplexní léčbě včetně intenzivní rehabilitace. Výsledky připouští, že protekční účinek pentoxifyllinu nastává širším

mechanismem, než jsou jen dosud popisované reologické a vasodilatační účinky.

Sledování účinku pentoxifyllinu nepatří mezi zájmy farmaceutických společností. V roce 1982 byla provedena první randomizovaná studie s pentoxifyllinem (Porter et al. 1982) u 128 nemocných s ICHDK, která vedla po 6 měsících k nesignifikantnímu 12% prodloužení klaudikačního intervalu oproti placebo. Obdobná studie (Lingarde et al. 1989) u 150 pacientů s ICHDK vedla také po 6 měsících k nesignifikantnímu prodloužení klaudikačního intervalu oproti placebo o 21%. Studie (Dawson et al. 2000) u 689 nemocných s ICHDK nenalezla po 6 měsících rozdíl v klaudikační vzdálenosti u nemocných léčených placebem a pentoxifyllinem

V běžné praxi patří pentoxifyllin stále k bazální terapii ICHDK, bohužel nebyly provedeny žádné prospektivní dlouhodobé placebem kontrolované klinické studie, které by posoudily efektivnost této léčby. Metaanalýza (Hood et al. 1996) celkem 11 studií sledující nemocné s ICHDK zjistila průměrné prodloužení klaudikačního intervalu o 29 metrů u 308 pacientů léčených pentoxifyllinem oproti 304 nemocným na placebo. Signifikantní nálezy byly pouze při selekci nemocných s ICHDK II. stadia a se vstupním klaudikačním intervalem 50 - 200 metrů.

### 3 Léčba foláty u pacientů s ICHDK

#### 3.1 Výskyt hyperhomocysteinemie u pacientů s ICHDK

**Metodika:** V souboru 150 pacientů s ICHDK I.-III. stadia náhodně vybraných z ambulantní klientely Oddělení klinické farmakologie byly sledován výskyt hyperhomocysteinemie a její možný vztah k hodnotám lipidogramu a fibrinogenu.

#### **Výsledky:**

Pacienti byli rozděleni na skupinu s nadnormální hodnotou homocysteinu ( $> 15 \mu\text{mol/l}$ ) a normální hodnotou homocysteinu ( $< 15 \mu\text{mol/l}$ ). V obou skupinách byly nalezeny nadnormální hodnoty celkového a LDL-cholesterolu, triglyceridů a fibrinogenu, avšak bez vazby na zvýšenou či normální hladinu homocysteinu (tab. 8).

**Tabulka č. 8: Výskyt hyperhomocysteinemie u nemocných s ICHDK**

	Hyperhomocysteinemie		Normohomocysteinemie		<i>p</i>
počet pacientů	n=96		n=54		
Parametr	median	kvartilový rozptyl	median	kvartilový rozptyl	
Homocystein ( $\mu\text{mol/l}$ )	31,22	23,7 - 33,6	13,12	10,1 – 14,7	$<0,001$
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,95	5,38 - 7,12	5,85	5,11 - 6,99	n.s.
LDL cholesterol (mmol/l)	4,17	3,38 - 4,92	3,75	3,40 - 4,81	$<0,05$

Triglyceridy (mmol/l)	2,26	1,88 - 2,62	2,57	1,99 - 2,76	<0,05
Fibrinogen (g/l)	4,47	4,18 - 4,75	4,43	4,07 - 4,82	n.s.

Wilcoxon. dvouvýběrový test, n.s. nesignifikantní

### 3.2 Methioninový zátěžový test

#### Metodika:

V sestavě 50 pacientů s ICHDK I.-III. stadia sledovaných v cévní poradně při Oddělení klinické farmakologie byl sledován účinek jednotlivé dávky L-methioninu v dávce 50mg / kg během zátěžového methioninového testu. Nemocní byli požádáni o spolupráci při pravidelné ambulantní kontrole, byl jim pečlivě vysvětlen význam a bezpečnost testu, nemocní vyjádřili ústní souhlas s tímto testem. Při výběru nemocných jsme neznali vstupní hodnotu homocysteinu. Náběry krve jsme provedli za 3, 6 a 12 hodin po podání L-methioninu.

#### Výsledky:

Vzestup homocysteinu vrcholil za 6 hodin, proto jsme v tuto dobu současně vyhodnotili i další laboratorní parametry (tab. 9).

**Tabulka č. 9: Účinek podání jednotlivé dávky L- methioninu orálně (50mg / kg) během zátěžového metabolického testu**

počet pacientů	před podáním n=50		za 6 hod po podání n=50		p
	median	kvartilový rozptyl	median	kvartilový rozptyl	
Homocystein (μmol/l)	21,2	13,5 - 30,2	53,6	29,5 - 71,3	<0,001
Fibrinogen (g/l)	3,62	3,28 - 4,02	3,64	3,22 - 3,99	n.s.

MDA ( $\mu\text{mol/l}$ )	3,14	2,62 – 3,41	3,55	2,89 - 3,72	<0,01
SOD (U/g Hb)	1206,1	1143 - 1281	1198,1	1135 - 1276	n.s.
GSHPx (U/g Hb)	46,9	38,5 - 59,1	47,2	39,1 - 58,6	n.s.
GSH (mmol/l Ery)	1,70	1,47 – 1,92	1,66	1,39 - 1,85	n.s.
CAC (mmol/l)	1,31	1,25 – 1,38	1,30	1,27 - 1,38	n.s.

MDA, malondialdehyd; SOD, superoxididismutaza; GSHPx, glutathionperoxidaza; GSH, glutathion v ery; CAC, celková antioxidační kapacita  
Wilcoxon.párový test, n.s. nesignifikantní

Za 6 hodin po podání L-methioninu dosáhl homocystein zhruba 2,5 násobku vstupní hodnoty, ve stejnou dobu došlo k vzestupu malondialdehydu ( $p < 0.01$ ), také ostatní ukazatele jevíly nesignifikantní posun prooxidačním směrem. Ve sledovaném souboru byla nalezena zvýšená vstupní hodnota Hcy.

### 3.3 Porovnání účinku léčby kyselinou listovou u pacientů s ICHDK a u zdravých seniorů, plazmatická hladina homocysteinu, parametry koagulačního a oxidačního stavu, význam genotypu methylenetetrahydrofolátreduktázy

**Metodika:** Do studie byli zařazeni pacienti s hyperhomocysteinemií (plazmatické hladiny  $> 20 \mu\text{mol/l}$ ), 33 z nich mělo uzávěrovou chorobu tepen DK ověřenou arteriografií DK, 26 nemocných bylo vybráno ze souboru zdravých seniorů. Charakteristika sledovaných souborů uvedena v tab. 10.

**Tabulka č. 10: Základní charakteristika souborů**

	pacienti s ICHDK	zdraví seniori
počet pacientů	n=33	n=26
Parametr		
pohlaví (% žen)	42,4	80,8
věk (roky).....median/kvartil.rozptyl	63,5 (54,8 - 71,1)	68,2 (61,1-74,6)
body mass index (kg/m <sup>2</sup> )...median/kvartil.rozptyl	28,7 (23,5 - 34,6)	26,1 (23,1-31,8)
aktuální kouření (%)	54,5	19,2
DM 2.typu (%)	18,2	0

st.p.CMP (%)	12,1	0
st.p.IM (%)	42,4	0
ICHS (%)	45,5	0
antihypertenzní léčba (%)	66,7	0
hyperlipidémie (%)	57,6	15,4

Uspořádání studie bylo identické v obou sledovaných skupinách. Všechny osoby byly po vstupní placebové fázi léčeny kyselinou listovou v dávce 5 nebo 10 mg denně po dobu 3 měsíců, dávka byla použita náhodně.

## Výsledky:

### Pacienti s ischemickou chorobou tepen DK

Vstupní hodnota homocysteinu v plazmě statisticky významně klesla po 3 měsíční léčbě kyselinou listovou klesla ( $p < 0.0001$ ) (tab. 11). Obdobný trend zaznamenal i fibrinogen, naopak hodnota plasminogenu a antitrombinu III se zvýšila (graf 2).

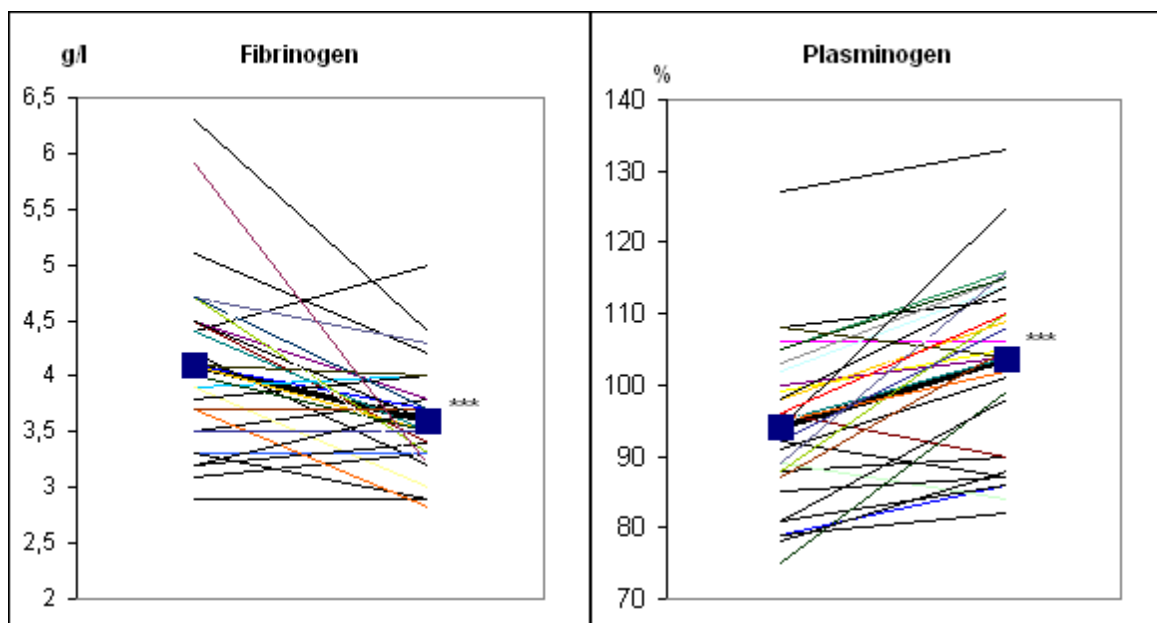
**Tabulka č. 11: Změny ukazatelů po 3 měsíční léčbě kyselinou listovou u pacientů s ICHDK**

počet pacientů	před léčbou n=33		po léčbě n=33		p
	median	kvart. rozptyl	median	kvart. rozptyl	
Parametr	median	kvart. rozptyl	median	kvart. rozptyl	p
Homocystein ( $\mu\text{mol/l}$ )	26,70	23,6-33,5	20,0	17,8-26,5	<0,0001
Kyselina listová ( $\mu\text{g/l}$ Ery)	210,0	174-255	549,0	485-635	<0,0001
Fibrinogen (g/l)	4,10	3,50-4,50	3,50	3,30-3,80	<0,0001
Plasminogen (%)	94,0	88-102	105,0	90-114	<0,0001
Antithrombin III (%)	88,0	74-101	93,0	81-105	<0,05
MDA ( $\mu\text{mol/l}$ )	3,10	2,60-3,60	2,60	2,40-2,80	<0,0001
SOD (U/g Hb)	1118,0	1058-1173	1196,0	1142-1286	<0,001
GSH (mmol/l Ery)	1,59	1,37-1,92	1,86	1,63-2,17	<0,0001
GSHPx (U/g Hb)	39,2	35,4-51,4	44,1	38,6-59,0	<0,001
CAC (mmol/l)	1,30	1,23-1,42	1,31	1,22-1,35	<0,05
Celkový cholesterol (mmol/l)	6,03	5,37-7,08	5,95	5,24-6,75	n.s.
HDL cholesterol (mmol/l)	1,28	1,06-1,43	1,27	0,99-1,39	<0,05
LDL cholesterol (mmol/l)	3,99	3,34-4,98	3,68	3,40-4,63	n.s.
Triglyceridy (mmol/l)	1,61	1,24-2,74	1,94	1,38-2,84	n.s.

Glykémie (mmol/l)	5,70	5,30-6,50	5,70	5,30-6,90	n.s.
Systolický TK (mmHg)	142,0	120-156	140,0	132-154	n.s.
Diastolický TK (mmHg)	86,0	80-90	91,0	84-95	<0,05

MDA, malondialdehyd; SOD, superoxiddismutaza; GSH, glutathion v erytrocytech; GSHPx, glutathionperoxidaza; CAC, antioxidační kapacita  
 Wilcoxon.párový test, n.s. nesignifikantní

**Graf č. 2: Vývoj fibrinogenu a plasminogenu u nemocných s ICHDK**



Malondialdehyd považovaný s určitou rezervou za ukazatel lipoperoxidace poklesl, superoxiddismutaza vykazovala vyšší aktivitu (pravděpodobně nebyla spotřebovávána), glutathion a korespondující enzym glutathionperoxidaza rostla (pravděpodobně nebyly také spotřebovávány při možném poklesu produkce peroxidu vodíku). Hladina celkové antioxidační kapacity se snížila v souvislosti s poklesem oxidativní zátěže. Parametry lipidického a glycidového metabolismu se nezměnily.



## Zdraví senioři

Vstupní hodnoty homocysteinu byly u zdravých seniorů nižší než u nemocných s manifestovanou aterosklerózou. Po 3 měsíční léčbě došlo také ke statisticky významnému snížení hodnoty Hcy ( $p < 0.0001$ ) (tab. 12).

Koagulační stav se upravoval ve smyslu snížení hladiny fibrinogenu a zvýšení aktivity plasminogenu, antitrombin III se nezměnil (graf 3).

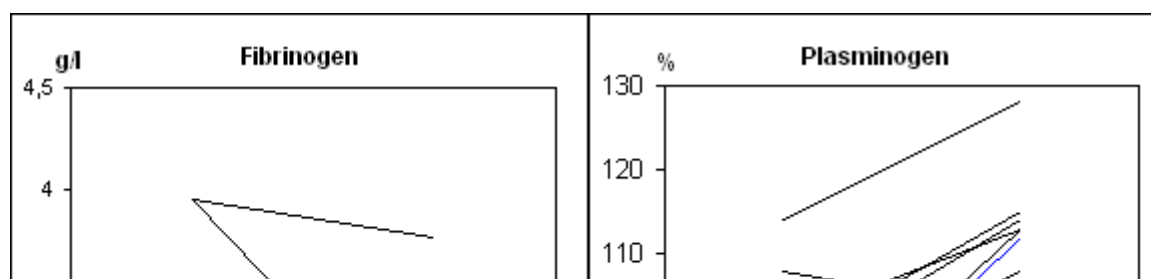
Indikátory oxidativního stavu nebyly modifikovány tak zřetelně jako v předcházející skupině.

**Tabulka č.12: Změny ukazatelů po 3 měsíční léčbě kyselinou listovou u zdravých seniorů**

počet vyšetřených	před léčbou n=26		po léčbě n=26		p
	median	kvart. rozptyl	median	kvart. rozptyl	
Homocystein ( $\mu\text{mol/l}$ )	24,35	20,5-27,4	18,6	15,8-20,0	<0,0001
Kyselina listová ( $\mu\text{g/l}$ Ery)	209,5	153-257	783	706-814	<0,0001
Fibrinogen (g/l)	3,05	2,85-3,19	2,57	2,39-2,93	<0,0001
Plasminogen (%)	91,5	86-97	103,0	101-112	<0,0001
Antithrombin III (%)	90,0	82-100	93,0	86-102	n.s
MDA ( $\mu\text{mol/l}$ )	3,30	2,50-4,0	3,20	2,50-3,80	n.s
SOD (U/g Hb)	1182,0	1139-1265	1316,1	1219-1364	<0,001
GSH (mmol/l Ery)	1,49	1,22-1,87	1,81	1,72-2,15	<0,001
GSHPx (U/g Hb)	48,8	38,6-58,8	58,6	52,4-73,3	<0,001
CAC (mmol/l)	1,28	1,21-1,33	1,29	1,27-1,34	n.s.
Celkový cholesterol (mmol/l)	6,29	5,71-6,58	6,28	5,89-6,96	n.s.
HDL cholesterol (mmol/l)	1,66	1,29-1,90	1,63	1,29-1,88	n.s.
LDL cholesterol (mmol/l)	4,12	3,66-4,49	4,06	3,59-4,60	n.s.
Triglyceridy (mmol/l)	1,28	0,98-1,63	1,25	0,96-2,04	n.s.
Glykémie (mmol/l)	5,45	5,30-5,70	5,20	5,0-5,80	n.s.
Systolický TK (mmHg)	140,0	129-156	134,0	124-148	n.s.
Diastolický TK (mmHg)	83,0	77-92	83,0	78-92	n.s.

MDA, malondialdehyd; SOD, superoxiddismutaza; GSH, glutathion v erytrocytech; GSHPx, glutathionperoxidaza; CAC, antioxidační kapacita  
Wilcoxon.párový test, n.s. nesignifikantní

**Graf č. 3: Vývoj fibrinogenu a plasminogenu u zdravých seniorů**



Velikost dávky kyseliny listové se v účinku neprojevila, parametry se měnily ve stejném smyslu po vyšší i nižší dávce (tab. 13).

**Tabulka č.13: Změny laboratorních parametrů po 3 měsíční léčbě kyselinou listovou podle použité dávky**

počet vyšetřených Parametr	5 mg denně		před / po léčbě	10 mg denně		před / po léčbě	5mg / 10 mg
	median	kvart.rozptyl	<i>p</i>	median	kvart.rozptyl	<i>p</i>	<i>p</i>
ΔKys.listová (μg/l Ery)	+426,0	326 - 555	0,0001	+403,0	324 - 514	0,0001	n.s.
ΔHomocystein (μmol/l)	-6,40	-9,5 - -2,9	0,0001	-7,65	-18 - -5,3	0,0001	n.s.
ΔFibrinogen (g/l)	-0,50	-0,9 - -0,19	0,0001	-0,075	-0,56 - 0,05	0,05	0,05
ΔPlasminogen (%)	+10,50	6,0 - 17,0	0,0001	+8,50	3,0 - 16,0	0,0001	n.s.
ΔAntitrombin III (%)	+3,50	-5 - 14	n.s.	+9,0	-5 - 17	n.s.	n.s.
ΔMDA (μmol/l)	-0,40	-1,2 - 0,4	n.s.	-0,45	-1,0 - 0,0	n.s.	n.s.
ΔSOD (U/g Hb)	+79,0	33,0 - 142,0	0,05	+82,0	25,0 - 146,0	0,0001	n.s.
ΔGSHPx (U/g Hb)	+9,05	5,3-13,8	0,0001	+7,0	1,9 - 10,2	0,05	n.s.
ΔCAC (mmol/l)	0,010	-0,10 - 0,08	n.s.	-0,005	-0,09 - 0,06	n.s.	n.s.
ΔCelkový cholesterol (mmol/l)	-0,040	-0,51 - 0,32	n.s.	-0,070	-0,56 - 0,57	n.s.	n.s.
ΔHDL cholesterol (mmol/l)	-0,020	-0,17 - 0,08	n.s.	-0,055	-0,15 - 0,01	0,01	n.s.
ΔLDL cholesterol (mmol/l)	-0,14	-0,46 - 0,12	n.s.	+0,035	-0,53 - 0,42	n.s.	n.s.
ΔTriglyceridy (mmol/l)	-0,010	-0,40 - 0,46	n.s.	+0,160	-0,11 - 0,39	n.s.	n.s.
ΔGlykémie (mmol/l)	-0,15	-0,5 - 0,4	n.s.	+0,10	-0,1 - 0,6	n.s.	0,05

MDA, malondialdehyd; SOD, superoxididismutaza; GSH, glutathion v erytrocytech; GSHPx, glutathionperoxidaza; CAC, antioxidační kapacita  
Wilcoxon.dvouvýběrový test, n.s. nesignifikantní

### Změny sledovaných parametrů hodnocené dle MTHFR genotypu

Ve sledovaných souborech byla u 5 osob nalezena T/T mutace MTHFR. Tyto osoby měly nejvyšší vstupní hodnotu homocysteinu bez statistické signifikace vzhledem k malému počtu oproti porovnávaným skupinám.

Při statistickém vyhodnocení sledovaných ukazatelů byla zjištěna jen u vstupní hodnoty fibrinogenu statisticky významná asociace s genotypem, nejvyšší hodnotu měl genotyp T/T (tab. 14).

**Tabulka č. 14: Změna homocysteinu, kyseliny listové a koagulačních parametrů před a po léčbě foláty v závislosti na genotypu methylenetetrahydrofolátreduktazy**

počet vyšetřených Parametr		C/C n=29		C/T n=25		T/T n=4		p
		median	kvart.rozptyl	median	kvart.rozptyl	median	kvart.rozptyl	
Homocystein (μmol/l)	před	25,0	20,5-31,2	25,6	23,5-32,6	31,9	20,3-56,4	n.s.
	po	18,2	15,8-22,8	19,45	17,8-21,6	22,5	20-34,1	n.s.
Kyselina listová (μg/l Ery)	před	236,0	184-263	187,0	153-229	208,5	203-305	n.s.
	před	656,0	539-784	630,0	558-753	577	520-632	n.s.
Fibrinogen (g/l)	před	3,50	3,16-4,20	3,26	2,90-4,10	4,60	3,90-4,80	0,03
	po	3,30	2,9-3,7	2,93	2,3-3,7	3,45	3,0-3,8	n.s.
Plasminogen (%)	před	92,0	87-102	89,0	85-98	99,0	94-108	n.s.
	po	104,0	101-113	102,5	87-109	112,5	104-114	n.s.
Antitrombin III (%)	před	86,0	74-101	89,0	79-104	86,0	74-119	n.s.
	po	94,0	84-102	94,5	81-108	89,5	75-93	n.s.

Kruskal Wallisův test, n.s. nesignifikantní

### Diskuze:

Ateroskleróza tepen dolních končetin byla provázena zvýšenými hladinami homocysteinu. Při sledování byl pokles hladiny homocysteinu docílený

podáváním kyseliny listové zřetelně provázen snížením prokoagulačního a prooxidačního potenciálu krve. Superoxiddismutaza a glutathionperoxidaza se zvýšily po léčbě kyselinou listovou. Možné snížení oxidační zátěže organismu při poklesu homocysteinu se projevilo snížením hodnoty malondialdehydu a zachováním antioxidační kapacity.

Fibrinogen klesal a naopak antikoagulačně účinkující faktory plasminogen a antitrombin III stoupaly. Výsledky korespondují s nálezy (Undas A. et al. 1999), které ukázaly pokles trombin-antitrombinového komplexu po vitamínu B6, B12 a kyselině listové.

Nalezli jsme asociaci hladiny fibrinogenu na genetickém polymorfizmu MTHFR. Tento nálezn potvrzuje domněnku o vyšším riziku žilní tromboembolie u nemocných s mutací MTHFR. Léčebná odpověď na substituci foláty nebyla závislá na přítomném genotypu.

Závěrem bych rád citoval výsledky studie Norvit (Bona et al. 2006), které byly uveřejněny před několika měsíci. Tato studie sledovala 4000 nemocných, kteří dlouhodobě užívali vitaminy B a kyselinu listovou. Tato suplementace nevedla ke snížení výskytu kardiovaskulárních onemocnění, ve skupině léčené vyšší dávkou kyseliny listové byl prokázán vyšší výskyt nádorů.

Samostatnou skupinou zůstávají nemocní s těžkou familiární hyperhomocysteinemií na podkladě defektu cystathionin- $\beta$  syntázy (Yap et al. 2001). U těchto nemocných existují důkazy, že snižování Hcy vede ke snížení extrémně vysokého KV rizika.

## **4 Asymetrický dimethylarginin**

### **4.1 ADMA a konvenční rizikové faktory v populačním vzorku MONICA**

**Cíl:** Stanovení hladiny asymetrického dimethylargininu a posouzení vztahu mezi ADMA a konvenčními rizikovými faktory u relativně zdravých osob.

#### **Metodika:**

ADMA jsme stanovili u 250 relativně zdravých osob sledovaných ve studii MONICA (tab. 15). Studie MONICA sleduje kardiovaskulární rizikové faktory u náhodně vybraných skupin probandů z obecné populace ve věku 25-65 let v devíti okresech ČR. Stanovení ADMA jsme provedli u 250 nemocných vyšetřených na podzim 2000 ze zamražených vzorků séra.

#### **Výsledky:**

Ve vyšetřovaném vzorku populace byla nalezena zvýšená hodnota lipidů, pouze však 9% osob užívalo hypolipidemickou léčbu (tab. 15). Průměrná hodnota homocysteinu byla v normě, obdobně i ADMA se nacházela v mezích normy. Hodnoty ADMA jsme korelovali s konvenčními rizikovými faktory

aterosklerózy, posoudili jsme vztah mezi hladinou ADMA a kategorizovanými rizikovými faktory a stanovili regresní koeficient (tab. 16-17).

ADMA se jeví jako nezávislý parametr na konvenčních rizikových faktorech aterosklerózy. Hladina ADMA pouze významně rostla s věkem.

**Tabulka č. 15: Základní charakteristiky a koncentrace ADMA náhodného populačního vzorku ze studie MONICA ( n=250)**

Parametr	
pohlaví (% žen)	51,9
věk (roky).....median/kvartyl.rozptyl	48,9 (39,4-56,0)
body mass index (kg/m <sup>2</sup> ).....median/kvartyl.rozptyl	25,9 (23,5-28,7)
aktuální kouření (%)	32,0
STK (mmHg).....median/kvartyl.rozptyl	124,0 (114,7-135,3)
DTK (mmHg).....median/kvartyl.rozptyl	80,0 (75,0-86,4)
antihypertenzní léčba (%)	19,2
celkový cholesterol (mmol/l)..median/kvartyl.rozptyl	5,78 (5,09-6,41)
triglyceridy (mmol/l).....median/kvartyl.rozptyl	1,41 (1,01-2,01)
HDL cholesterol (mmol/l).....median/kvartyl.rozptyl	1,42 (1,22-1,67)
LDL cholesterol (mmol/l).....median/kvartyl.rozptyl	3,61 (2,96-4,28)
hypolipidemická léčba (%)	9,2
glykémie (mmol/l).....median/kvartyl.rozptyl	5,40 (5,10-5,80)
antidiabetická léčba (%)	4,4
homocystein (μmol/l).....median/kvartyl.rozptyl	10,15 (8,78-11,91)
ADMA (μmol/l) *.....median/kvartyl.rozptyl	0,49 (0,42-0,57)

\* stanovena pouze u 99 osob a metodou HPLC

**Tabulka č. 16: Korelace hodnot ADMA s ostatními rizikovými faktory aterosklerózy**

	korelační koeficient	p
--	----------------------	---

Věk	0,1904	0,059
Homocystein	0,1311	0,198
BMI	-0,0606	0,551
Systolický TK	0,0016	0,988
Diastolický TK	0,0459	0,652
Celkový cholesterol	0,0048	0,963
Triglyceridy	0,0296	0,772
HDL cholesterol	0,0444	0,664
LDL cholesterol	-0,0316	0,759
Glykémie	-0,064	0,531

**Tabulka č. 17: Mnohočetná lineární regrese hladiny ADMA v závislosti na rizikových faktorech aterosklerózy**

	regresní koeficient	SE	<i>p</i>
Věk	0,2328	0,1168	0,048
Pohlaví	-0,0151	0,0616	0,806
BMI	-0,0328	0,0648	0,614
LDL cholesterol	-0,0395	0,0664	0,553
Systolický TK	-0,0591	0,0663	0,375
Glykémie	0,0167	0,0683	0,808

## **4.2 ADMA u nemocných s předčasnou ICHS a u kontrolní skupiny ve věku 45-55 let**

**Cíl:** Porovnání rizikových faktorů aterosklerózy a hladiny ADMA u nemocných s předčasnou aterosklerózou oproti zdravé skupině stejného věku.

### **Metodika:**

Vyšetřili jsme 80 nemocných s předčasnou manifestací koronární aterosklerózy ve věku 45-55 let a kontrolní skupinu 80 jedinců stejného věku bez ischemické choroby srdeční a bez diabetes mellitus 2.typu. U těchto nemocných jsme stanovovali základní rizikové faktory aterosklerózy a současně jsme vyšetřovali i hladinu ADMA.

### Výsledky:

U nemocných s ICHS byly obdobně jako u zdravých jedinců zjištěny uspokojivé hodnoty krevního tlaku, 90% nemocných s ICHS užívalo antihypertenzní léčbu (tab. 10). Lipidové parametry u nemocných s ICHS byly nadnormální, pozitivní je, že 70% z nich bylo léčeno hypolipidemikem. Stále však 20% nemocných s ICHS kouřilo. U kardiaků byla nalezena statisticky vyšší hodnota homocysteinu stále ještě v mezích normy. Hladina ADMA se u těchto skupin nelišila.

**Tabulka č. 18: Základní charakteristiky, koncentrace ADMA a srovnání pacientů s předčasnou manifestací ICHS a kontrolní skupiny bez manifestní vaskulární choroby**

Parametr	pacienti s předčasnou ICHS n=80	osoby bez vaskulární choroby n=80	p
pohlaví (% žen)	12,5	50,0	<0,003
věk (roky).....median/kvartil.rozptyl	50,5 (48,0-52,8)	52,5 (48,9-54,68)	<0,0001
body mass index (kg/m <sup>2</sup> ).....median/kvartil.rozptyl	28,7 (26,0-31,0)	27,0 (24,0-29,0)	0,68
aktuální kouření (%)	20,0	16,3	<0,01
STK (mmHg).....median/kvartil.rozptyl	125,5 (117,0-139,5)	129,5 (119,0-141,0)	0,28
DTK (mmHg).....median/kvartil.rozptyl	83,0 ( 77,0-89,0)	89,5 (80,0-93,0)	<0,0003
antihypertenzní léčba (%)	90,0	17,5	<0,0001
celkový cholesterol (mmol/l).median/kvartil.rozptyl	5,65 (5,17-6,24)	5,0 (5,0-6,0)	<0,03
triglyceridy (mmol/l).....median/kvartil.rozptyl	1,57 (1,24-2,86)	1,0 (1,0-2,0)	<0,02
HDL cholesterol (mmol/l).....median/kvartil.rozptyl	1,16 (0,99-1,42)	1,50 (1,0-2,0)	<0,03



LDL cholesterol (mmol/l).....median/kvartil.rozptyl hypolipidemická léčba (%)	3,98 (3,51-4,56) 70,0	3,64 (3,09-4,16) 12,5	<0,002 <0,0001
glykémie (mmol/l).....median/kvartil.rozptyl antidiabetická léčba (%)	6,0 (5,60-6,55) 3,8	5,0 (5,0-6,0) 0	0,08 -
homocystein (μmol/l).....median/kvartil.rozptyl	11,94 (10,0-13,8)	10,0 (9,0-12,0)	<0,002
ADMA (μmol/l).....median/kvartil.rozptyl	0,77 (0,71-0,85)	0,78 (0,73-0,83)	0,49*

---

\* adjustováno na věk  
Wilcoxon.dvouvýběrový test

### Diskuze:

ADMA se jeví jako parametr nezávislý na konvenčních rizikových faktorech aterosklerózy, hodnota ADMA u zdravých osob stoupala pouze s věkem. Neprokázali jsme staticky signifikantně vyšší hodnotu ADMA u nemocných s definitivní aterosklerózou oproti kontrolní skupině stejného věku. Neprokázali jsme korelaci zvýšené hodnoty ADMA s hyperhomocysteinemií, přestože Hcy blokuje enzym odbourávající ADMA. Možná je role ADMA u zdravých lidí malá, ale uplatňuje se u osob s pokročilým aterosklerotickým postižením a u osob s renální insuficiencí, kde je porušeno odbourávání ADMA.

## **5 Závěry pro praxi**

1. Léčba statiny se u nemocných s pokročilou aterosklerozou manifestovanou ischemickou chorobou tepen dolních končetin projevila jako ochranná minimálně ve smyslu zdržení vývoje u pacientů s poruchou lipidického metabolismu. Zaznamenána byla úprava prooxidačního stavu, která sledovala dynamiku úpravy porušeného spektra krevních lipidů.

U pacientů bez poruchy lipidového metabolismu léčených statiny bylo prokázáno zlepšení výkonnosti ve smyslu prodloužení délky klaudikačního intervalu a nárůstu kotníkového indexu, kdežto u srovnatelné skupiny s doporučenými dietními opatřeními docházelo k dalšímu zhoršování výkonnosti. Zajímavý je pokles hladiny homocysteinu při léčbě statiny. Bylo prokázáno, že dlouhodobé podávání statinů je bezpečné.

2. Aterosklerotické onemocnění DK bylo spojeno s vyšší hladinou homocysteinu. Pokles docílený kyselinou listovou byl provázen úpravou prokoagulačního a prooxidačního stavu jak u pacientů s uzávěrovou chorobou, tak u zdravých seniorů s hyperhomocysteinemií. Domnívám se ale, že homocystein bychom měli považovat za marker aterosklerozy, nikoliv za rizikový faktor. Tuto hypotézu podporují závěry studie NORVIT.

3. Široce prováděná léčba pentoxifilinem u pacientů s aterosklerozou nemá sice stále důkaz typu evidence based medicine, ale získané dílčí výsledky ve smyslu

snížení hladiny fibrinogenu, potlačování oxidačního stavu, i prodloužení klaudikačního intervalu odpovídají pozitivním terapeutickým zkušenostem.

4. ADMA se jeví jako parametr nezávislý na konvenčních rizikových faktorech aterosklerózy, hodnota ADMA u zdravých osob stoupala pouze s věkem. Neprokázali jsme staticky signifikantně vyšší hodnotu ADMA u mladších nemocných s koronární aterosklerózou oproti kontrolní skupině stejného věku. ADMA je stále intenzivně studován, může hrát významnou roli především u starších osob s významným aterosklerotickým postižením a s renálním postižením. Význam stanovení ADMA pro klinickou praxi nebyl stanoven.

#### LITERATURA

Aboyans V, Criqui MH, Denenberg JO, et al. Risk factors for progression of peripheral arterial disease in large and small vessels. *Circulation* 2006; 113:2623

Adams MR, Kinlay S, Blake GJ, et al. Atherogenic lipids and endothelial dysfunction: mechanism in the genesis of ischemic syndromes. *Ann Preview of Medicine* 2000; 51:149-67

Aronow WS, Batak D, Woodworth S, Ahn C. Effect of simvastatin versus placebo on treadmill exercise time until onset of intermittent claudication in older patients with peripheral arterial disease at six months and a one year after treatment. *Am J Cardiol* 2003; 92:711

Aronow WS, Ahn C. Frequency of new coronary events in older persons with peripheral arterial disease and serum low-density lipoprotein cholesterol  $\geq 125$  mg/dl treated with statins versus no lipid-lowering drug. *Am J Cardiol* 2002; 90:789-791

Bonaa KH, Njolstad I, Ueland PM, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 354:1578

Böger RH, Bode-Boger S.M., Szuba A, et al. Asymmetric dimethylarginine: a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98:1842

Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995; 274:1049-57

Carson NA, Neil DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child.* 1962; 32:505-13

Clagett GP, Sobel M, Jackson MR, et al. Antithrombotic therapy in peripheral arterial occlusive disease: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic Therapy. *Chest* 2004; 126:609

Coffman JD. Drug therapy: Vasodilator drugs in peripheral vascular disease. *N Engl J Med* 1979; 300:713

Constans J, Blann AD, et al. Endothelial dysfunction during acute methionine load in hyperhomocysteinaemic patients. *Atherosclerosis* 1999; 147 (2): 411-3

Dawson DL, Cutler BS, Hiatt WR, et al. A comparison of cilostazol and pentoxifylline for treating intermittent claudication. *Am J Med* 2000; 109:523-30

De Vigneaud VE. Trail of research in sulphur chemistry and metabolism and related fields. Cornell University Press, Ithaca (NY) 1952

Dormandy JA, Rutherford RB. Management of peripheral arterial disease. TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). *J Vasc Surg* 2000; 31:S1

Filipovský J, Mayer O Jr., Cífková R, Tichá M, Roučka P. The relationship of large artery properties with homocysteine levels in healthy subjects. *J Hypertension* 2004; 22: S198.

Gardner AW, Montgomery PS, Flinn WR, Katzel LI. The effect of exercise intensity on the response to exercise rehabilitation in patients with intermittent claudication. *J Vasc Surg* 2005; 42:702

Girolami B, Bernardi E, Prins MH, et al. Treatment of intermittent claudication with physical training, smoking cessation, pentoxifylline, or nafronyl: A meta-analysis. *Arch Intern Med* 1999; 159:337

Graham IM, Daly EL, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as risk factor for vascular disease. *JAMA* 1997; 277:1775-81

Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360:7-22

Hiatt WR, Krantz MJ. Masterclass series in peripheral arterial disease. Antiplatelet therapy for peripheral arterial disease and claudication. *Vasc Med* 2006; 11:55

Hiatt WR. Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *N Engl J Med* 2001; 344:1608

Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzler NR, et al. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease. *Circulation* 2006; 113:463

Hirsch AT, Criqui MH, Jacobson D, et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA* 2001; 286:1317

Homocystein Lowering Trialist Group (HLTG): Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials *BMJ* 1998; 316: 894-8

Hood S.C, Moher D., Barber G.G. Management of intermittent claudication with pentoxifylline: meta-analysis of randomized controlled trials. *CMAJ* 1996; 155:1053

Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, et al. Novel mechanism for endothelial dysfunction: Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999; 99:3092

Kang SS, Zhou J, Wong PWK, Kowalisyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methyltetrahydrofolatreductase. *Am J Hum Genet* 1988; 43:414-21

Kang SS, Wong PWK, Sukmano A, et al. Thermolabile methyltetrahydrofolatreductase: an inherited risk factor for coronary artery diastase. *Am J Hum Genet* 1991; 48:536-45

Kannani PM, Sinkey CA, Browning RL et al. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocysteinemia in humans. *Circulation* 1999; 100:1161-8

Leng, GC, Fowkes FG, Lee, AJ, et al. Use of ankle brachial pressure index to predict cardiovascular events and death: a cohort study. *BMJ* 1996; 313:1440

Lindgarde F, Jelnes R, Bjorkman H, et al. Conservative drug treatment in patients with moderately severe chronic occlusive peripheral arterial disease. *Circulation* 1989; 80:1549-56

Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocysteinemia. *J Clin Invest* 1996; 98:5-7

McGee SR, Boyko EJ. Physical examination and chronic lower extremity ischemia.: A critical review. *Arch Intern Med* 1998; 158:1357

Mayer O.jr., Šimon J., Rosolová H., Hromádka M, et al.: The effects of folate supplementation on some coagulation parameters and oxidative status surrogates. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; 58:1-5

Mohler ER, Hiatt WR, Creager MA. Cholesterol reduction with atorvastatin improves walking distance in patients with peripheral arterial disease. *Circulation* 2003; 108:1481-6

Mondillo S, Ballo P, Barbati R, et al. Effects of simvastatin on walking performance and symptoms of intermittent claudication in hypercholesterolemic patients with peripheral vascular disease. *Am J Med* 2003; 114:359

Pedersen TR, Kjeldshus J, Pyörälä K, et al. Effect of simvastatin on ischemic signs and symptoms in the Scandinavian Simvastatin Study (4S). *Am J Cardiol* 1998; 81:333-6

Porter JM, Cutler BS, Lee BY, et al. Pentoxifylline efficacy in the treatment of intermittent claudication: multicenter controlled double-blind trial with objective assessment of chronic occlusive arterial disease patients. *Am Heart J* 1982; 104:66-72

Robinson K, Mayer E, Jacobsen DW. Homocystein and coronary artery disease. *Cleveland Clin J Med* 1994; 61:438-48

Rosolová H, Šimon J, Šefrna F: Impact of cardiovascular risk factors on morbidity and mortality in Czech middle-aged men – Pilsen Longitudinal Study. *Cardiology* 1994; 85:61-8

Rosolová H, Mayer O.jr., Šimon J.: Unexpected inverse relationship of insulin resistance and serum homocysteine in healthy subjects. *Physiol Res* 2002; 51:93-8

Ruef J, Peter K, et al. Oxidative stress and atherosclerosis: its relationship to growth factors, thrombus formation and therapeutic approaches. *Thrombosis and Haemostasis* 1999; 1:32-7

Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344:1383-89.



Schnabel R, Blankenberg D, Lubos E, et al. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. *Circ Res* 2005; 97:53

Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993; 91:308-18

Stewart KJ, Hiatt WR, Regensteiner JG, Hirsch AT. Exercise training for claudication. *N Engl J Med* 2002; 347:1941

Široká R, Trefil L, Rajdl D, Racek J, Eiselt J, Filipovský J. Asymmetric dimethylarginine – comparison of HPLC and ELISA methods. *Clin Chemistry Lab Medicine* 2005; 43:A32.

Thum T, Tsikas D, Stein S, et al. Suppression of endothelial progenitor cells in human coronary artery disease by the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1693

Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:6369-6373

Undas A, Domagala TB, Jankowski M, Szcekklik A. Treatment of hyperhomocysteinemia with folic acid and vitamins B12 and B6 attenuates thrombin generation. *Thromb Res* 1999; 95: 281-8

Valkonen V.P, Paiva H, Salonen J.T, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001; 358:2127

Vollset SE, Refsum H, Tverdal A, et al. Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality : the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 130-6

Yap S, Boers G, Wilcken B, et al. Vascular outcome in patients with homocysteinuria due to cystathionine  $\beta$ -synthase deficiency treated chronically: a multicenter observational study. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2001; 21:2080-85.

Zoccali C, Bode-Boger SM, Mallamaci F, et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358:2113-7

## Publikace

[1] Hromádka M, Filipovský J. Asymetrický dimethylarginin-nový rizikový faktor endoteliální dysfunkce ? *Cor et Vasa* 2004; 46:556-7

[2] Hromádka M, Filipovský J. Pacient po infarktu myokardu. *Medicína po promoci* 2005; 6:67-9.

[3] Hromádka M, Filipovský J. Terapeutické přístupy k pacientovi se stabilní anginou pectoris. *Medicína po promoci* 2006; 7:46-9

[4] Mayer O, Hromádka M. Statiny v léčbě nemocných s uzávěrovou chorobou tepen dolních končetin. *Vnitřní lékařství* 2001; 47:664-9

[5] Mayer O, Filipovsky J, Hromadka M, et al. Treatment of hyperhomocysteinemia with folic acid: Effects on homocysteine levels, coagulation status, and oxidative stress markers. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2002; 39:851-7

[6] Mayer O Jr, Simon J, Roslova H, Hromadka M, Subrt I, Votrubova I. The effects of folate supplementation on some coagulation parametrs and oxidative status surrogates. *European Journal of Clinical Pharmacology* 2002; 58:1-5

## Odborné akce

[1] Hromádka M, Polívková H, Stehlík P, Poklopová Z, Mayer O. Homocystein – význam stanovení u pacientů s aterosklerózou, teorie, praxe a vlastní zkušenost

- Tradiční angiologické dny, 3/1999, Praha, přednáška

[2] Hromádka M, Mayer O, Šimon J. Vliv doplnění folátů a polymorfismu metyilentetrahydrofolát reduktázy na markery oxidativního stresu u nemocných s mírnou hyperhomocysteinemií

- Tradiční angiologické dny, 4/2000, Praha, přednáška

[3] Hromádka M, Mayer O, Šimon J. Vliv terapie foláty a MTHFR polymorfismu na oxidační markery u nemocných s mírnou hyperhomocysteinemií

- VIII. sjezd České kardiologické společnosti 5/2000, Brno, poster

[4] Hromádka M, Mayer O, Šimon J, et al. The influence of folate supplementation and MTHFR polymorphism on oxidative stress markers in patients with mild hyperhomocysteinemia

- XIIth International Symposium on Atherosclerosis, Stockholm, Sweden 6/2000, poster

[5] Hromádka M, Mayer O, Polívková H. Vliv terapie statiny na klinický a laboratorní nález u pacientů s ICHDK IIa-IIc bez poruchy lipidového metabolismu.

- XVII. konference České společnosti pro hypertenzi, 8/2000, Znojmo, poster

[6] Hromádka M, Mayer O, Polívková H. Vliv terapie foláty a MTHFR polymorfismu na oxidační markery u osob s mírnou hyperhomocysteinemií

- IV. konference České společnosti pro aterosklerózu 12/2000, Špindlerův Mlýn, poster

[7] Hromádka M, Polívková H, Mayer O. Vliv terapie simvastatinem na funkční a laboratorní parametry u pacientů s uzávěrovou chorobou tepen DK

- VI. Konference České společnosti pro aterosklerózu, 10/2002, Plzeň, poster

[8] Hromádka M, Polívková H, Mayer O. Vliv terapie simvastatinem na funkční a laboratorní parametry u pacientů s uzávěrovou chorobou tepen DK

- Postgraduální lékařské dny Plzeň, 2003, přednáška

[9] Hromádka M, Široká R, Filipovský J: Asymetrický dimethylarginin – nový rizikový faktor aterosklerózy?

- XXII. konference České společnosti pro hypertenzi, 10/2005, Český Krumlov, poster

[10] Polívková H, Hromádka M, Stehlík P, Mayer O. Hyperhomocysteinemie – význam stanovení u nemocných s pokročilou arteriosklerózou.

- XV. konference o arteriální hypertenzi, 10/1998, Rožnov pod Radhoštěm, poster

[11] Mayer O, Hromádka M. Folate treatment and decrease of pro-coagulation and oxidative status in patients with mild hyperhomocysteinemia and definitive atherosclerosis.

- 9th International congress on Cardiovascular Pharmacotherapy Salvador, Bahia, Brazil, 3/2000, poster

[12] Mayer O jr., Šimon J, Hromádka M, Rosolová H. The influence of MTHFR polymorphisms on folate supplementation efficacy in patient with mild hyperhomocysteinemia.

- Meeting of the Working Group on Epidemiology and Prevention of the European Society of Cardiology, Gdansk, Poland 5/2000, poster.

[13] Mayer O, Hromádka M, Polívková H. Endoteliální dysfunkce u pokročilé aterosklerózy, některé ukazatele z vlastního pozorování

- XVII. Konference České společnosti pro hypertenzi, 8/2000, Znojmo-poster

[14] Polívková H, Hromádka M, Tintěra J, Mayer O. Použití MRI vyšetření při sledování volumových změn LKS u pacientů s CHSS vlivem antagonisty endotelinu

- XVIII. konference České společnosti pro hypertenzi, 9/2001, Český Krumlov, poster

[15] Filipovský J, Hromádka M. Antagonisté vasopresinu – nová perspektiva v léčbě srdečního selhání a hyponatremických stavů.

- X. sjezd pracovní skupiny Kardiovaskulární rehabilitace České kardiologické společnosti, 1/2007, Konstantinovy Lázně.

# **Příloha 1**

## **Příloha 2**



## **Příloha 3**

## **Příloha 4**

## **Příloha 5**

## **Příloha 6**

## **Příloha 7**