

Hemoreológiai paraméterek szívműtétek során és a metamizol új alkalmazási lehetősége a trombocita aggregáció gátlásban

Ph.D. értekezés

Szerző: Dr. Papp Judit

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Kísérletes Kardiológia program

Programvezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán

Témavezetők: Prof. Dr. Tóth Kálmán
Dr. Mezősi Emese

Pécsi Tudományegyetem
I. sz. Belgyógyászati Klinika
Pécs

2012

I. Tartalomjegyzék

I. Tartalomjegyzék	1
II. Rövidítések jegyzéke	3
III. Bevezetés	4
IV. Célkitűzések	7
V. On-pump és off-pump technikákkal végzett koszorúér bypass műtétek hatása a hemoreológiai paraméterekre	8
1. <i>Bevezetés</i>	8
1.1. Koszorúér bypass műtét (CABG).....	8
1.2. On-pump CABG.....	8
1.3. Off-pump CABG	9
1.4. On-pump és off-pump technikák összehasonlítása	10
2. <i>Betegek és módszerek</i>	10
2.1. Betegek	10
2.2. Vérvételek.....	11
2.3. Hemoreológiai mérések.....	11
2.3.1. Hematokrit meghatározás	11
2.3.2. Plazma és teljes vér viszkozitás mérése	11
2.3.3. Vörösvérsejt aggregáció mérése.....	12
2.3.4. Vörösvérsejt deformabilitás mérése	13
2.3.5. Trombocita aggregációs mérések	13
2.3.6. Scanning elektronmikroszkópos felvételek.....	14
2.3.7. Statisztikai módszerek	14
3. <i>Eredmények</i>	14
3.1. Hematokrit	15
3.2. Viskozitás	16
3.3. Vörösvérsejt aggregáció	18
3.4. Vörösvérsejt deformabilitás.....	20
3.5. Scanning elektronmikroszkópos felvételek	21
3.6. Trombocita aggregációs mérések	23
4. <i>Diskusszió</i>	24
5. <i>Összefoglalás</i>	27

VI. Trombocita aggregáció gátlás acetilszalicilsavval, metamizollal és kombinációjukkal	
- <i>in vitro</i> és <i>in vivo</i> összehasonlítás	28
1. <i>Bevezetés</i>	28
1.1. A trombociták működése.....	28
1.2. Acetilszalicilsav.....	29
1.3. Non-aszpirin nem-szteroid gyulladáscsökkentők (NANSAID-ok).....	30
1.4. Metamizol.....	31
2. <i>Módszerek</i>	31
2.1. <i>In vitro</i> vizsgálatok.....	31
2.1.1. Anyagok és vérvételek.....	31
2.1.2. Trombocita aggregációs mérések.....	32
2.2. <i>In vivo</i> vizsgálat.....	32
2.2.1. Egészséges önkéntesek.....	32
2.2.3. Trombocita aggregációs mérések.....	33
2.2.4. Statisztikai módszerek.....	33
3. <i>Eredmények</i>	34
3.1. <i>In vitro</i> vizsgálatok.....	34
3.2. <i>In vivo</i> vizsgálat.....	36
3.2.1. Adrenalin-indukálta trombocita aggregáció.....	36
3.2.2. ADP-indukálta trombocita aggregáció.....	37
3.2.3. AZ IPA időfüggésének leírása.....	38
4. <i>Diszkusszió</i>	40
5. <i>Összefoglalás</i>	42
VII. Új eredmények	43
VIII. Köszönetnyilvánítás	44
IX. Irodalomjegyzék	45
X. Saját közlemények	55

II. Rövidítések jegyzéke

Htk	hematokrit
PV	plazma viszkozitás
VV	teljes vér viszkozitás
vvs	vörösvérsejt
ISZB	iszkémiás szívbetegség
PCI	perkután koronária intervenció
CABG	koszorúér bypass műtét
tct	trombocita
ASA	acetilszalicilsav, aszpirin
COX	ciklooxygenáz enzim
MET	metamizol
CPB	kardiopulmonális bypass
SEM	scanning elektronmikroszkóp
LORCA	Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer
M	Myrenne aggregációs index M mód
M1	Myrenne aggregációs index M1 mód
AI	aggregációs index
γ	küszöbgrádiens
PVP	polivinilpirrolidon
EI	elongációs index
PBS	foszfát puffer
RCTT	relatív sejt tranzit idő
PRP	trombocita dús plazma
PPP	trombocita szegény plazma
ADP	adenozin-difoszfát
GP	glikoprotein
TXA ₂	tromboxán A ₂
VASP	vazodilatátor-stimulált foszfoprotein
NSAID	nem-szteroid gyulladáscsökkentő
ACS	akut koronária szindróma
NANSAID	non-aszpirin nem-szteroid gyulladáscsökkentő
MAA	4-metilaminoantipirin
IPA	inhibition of platelet aggregation = trombocita aggregáció gátlás

III. Bevezetés

A kardiovaszkuláris kórképek a világ szinte valamennyi fejlett országában a leggyakoribb megbetegedések, illetve a vezető halálokok közé tartoznak. Az elmúlt évtizedekben a morbiditási és mortalitási mutatók fokozatos javulása volt észlelhető, mely egyrészt a primer prevenciónak, másrészt pedig a fejlődő gyógyszeres kezelésnek és a revaszkularizációs eljárásoknak köszönhető. A primer prevenció megvalósításában nagy szerepet játszott az ún. klasszikus rizikófaktorok meghatározása a Framingham-vizsgálat alapján, melyek az elmúlt néhány évtized alatt újonnan felfedezett kockázati tényezőkkel egészültek ki [1].

A hemoreológia a vér áramlásával foglalkozó tudományág, amely a vér áramlási viszonyait és alkotóelemeinek fizikai tulajdonságait vizsgálja. Számos multicentrikus tanulmány igazolta, hogy a hemoreológiai tényezők romlása önálló rizikófaktoroként kezelendő a kardiovaszkuláris és cerebrovaszkuláris kórképekben [2,3,4]. A legfontosabb hemoreológiai paraméterek közé tartoznak: a hematokrit (Htk), fibrinogén, plazma és teljes vér viszkozitás (PV, VV), vörösvérsejt (vvs) aggregáció és vörösvérsejt deformabilitás. A hemoreológia ezen kívül foglalkozik a fehérvérsejtek és a trombociták (tct) tulajdonságaival is (pl. trombocita adhézió és aggregáció, fehérvérsejt adhézió és deformabilitás).

A klinikai rutinban a leginkább ismert és használt tényező a hematokrit, mely a legtöbb mért paraméterrel összefüggésben áll. Alacsony hematokrit esetén a vér nem tud elegendő oxigént szállítani, mely a szövetek hipoperfúziójához vezethet, míg magas hematokrit esetén nő a vérviszkozitás és lassul a mikrokeringés, mely szintén rontja a szövetek oxigénellátását.

A viszkozitás a folyadékok belső súrlódása, melyet az adott hőmérsékleten az áramlást fenntartó nyírófeszültség és a létrehozott sebességgrádiens hányadosa mutat meg. A plazma viszkozitást a hőmérséklet, a plazmafehérjék (főként a fibrinogén) és a plazma lipid szint befolyásolja. A teljes vér viszkozításra pedig a Htk, a PV, a vvs aggregáció és a vvs deformabilitás van hatással. Emelkedett viszkozitás esetén megnő a perifériás ellenállás, nagyobb terhelés hárul a szívre, mely a verőtér fogat fenntartásához növeli a perfúziós nyomást. A hemoreológiai paraméterek romlása a mikrokeringés, s így a szövetek vérellátásának károsodásához vezethet [5,6].

A vörösvérsejt aggregáció a vér hemoreológiai paramétereinek fontos meghatározója. Növekedése az áramlási ellenállást jelentős mértékben képes fokozni [7]. A vvs aggregáció mértékét főként a hematokrit és a plazmafehérjék (legjelentősebb a fibrinogén) szintje határozza meg. Széleskörben elterjedt laboratóriumi vizsgálat a vvs aggregáció *in vitro* vizsgálata, a süllyedés, melynek három fázisát különböztetjük meg: (1) a vvs-ek pénztekeres-képződése, majd gömb alakú aggregátumokba tömörülése, (2) az aggregátumok állandó sebességgel történő süllyedése, (3) a süllyedés lassulása és megszűnése. Klinikai gyakorlatban a magas plazmafehérje szint miatt fokozott vvs aggregációt és süllyedést tapasztalhatunk például myeloma multiplex, szepszis, autoimmun kórképek és tumoros betegségek esetén. Emelkedett plazmafehérje szint nélkül is fokozott vvs aggregáció mérhető különböző kardiovaszkuláris és cerebrovaszkuláris kórképekben és cukorbetegségben is [8,9,10].

A vörösvérsejtek deformálódási képessége teszi lehetővé a keringés során fellépő nyíróerőknek megfelelő alakváltoztatást, a kapillárisokon való áthaladást. A deformabilitást befolyásolja a vvs belső viszkozitása, a membránviszkozitása, a felület-térfogat arány és a vvs morfológia, mely tényezőket számos genetikai és környezeti faktor megváltoztathat. Az eltérő okokból kialakuló oxidatív stressz miatt a vvs membrán rigiditása fokozódik, ez okozza az iszkémiás szívbetegségben (ISZB) szenvedőkben tapasztalt csökkent deformabilitást [8,11]. A mechanikai trauma, mint pl. a műbillentyű szintén membránkárosodást és ennek következtében hemolízist okozhat.

A vörösvérsejtek mellett a vérlemezkék is fontos szerepet játszanak egyes kóros állapotok kialakulásában. Megnövekedett számuk és fokozott reaktivitásuk jelentősen befolyásolja a véráramlási tényezőket és a mikrocirkulációt. A trombociták kitapadása a sérült érfalhoz, a trombocita aggregáció elindulása és a trombocitadús trombus képződése - más tényezők mellett - fontos szerepet játszik az ateroszklerózis kialakulásában és progressziójában [5].

Az ateroszklerózis talaján kialakuló iszkémiás szívbetegség kezelésében nagy előrelépést jelentettek a revaszkularizációs eljárások, melyek az elzáródott érszakaszok megnyitását vagy áthidalását célozzák. A perkután koronária intervenció (PCI) és a koszorúér bypass műtétek (CABG) technikai fejlődésének köszönhetően az ISZB-ben szenvedő betegek várható élettartama az utóbbi évtizedekben jelentősen növekedett.

Az invazív eljárások mellett nagy szerepe van a megfelelő gyógyszeres kezelésnek. Az akut kardiovaszkuláris események megelőzésében és terápiájában, illetve a stabil ISZB kezelésében az egyik legfontosabb farmakoterápiás módszer a trombocita aggregáció

gátlás. Erre a célra leggyakrabban használt vegyület az acetilszalicilsav (ASA, aszpirin), mely a ciklooxygenáz (COX) enzim gátlásán keresztül fejt hatását. A metamizol (MET, dipiron) fájdalom- és lázcsillapítóként használt gyógyszer, szintén gátolja a COX-enzimet, a trombocita aggregációra gyakorolt hatásáról és az ASA-val való kölcsönhatásáról azonban kevés ismeretünk van.

IV. Célkitűzések

Az első tanulmányunkban a hemoreológiai paraméterek változását kívántuk vizsgálni koszorúér bypass műtétek alatt és a 6 hónapos utánkövetés során. Összehasonlítottuk a két fő CABG műtéti technikát hemoreológiai szempontból. Vizsgáltuk továbbá a trombocita aggregáció változását is.

A második tanulmányunkban *in vitro* vizsgálatok során kívántuk összehasonlítani az acetilszalicilsav és a metamizol trombocita aggregációra gyakorolt hatását, és vizsgáltuk a két gyógyszer közötti lehetséges interakciókat. *In vivo* crossover vizsgálatban tanulmányoztuk az intravénásan alkalmazott MET, a szájon keresztül adott ASA és együttes adásuk trombocita aggregáció gátló hatását egészséges önkénteseken.

V. On-pump és off-pump technikákkal végzett koszorúér bypass műtétek hatása a hemoreológiai paraméterekre

1. Bevezetés

1.1. Koszorúér bypass műtét (CABG)

A CABG fontos szerepet játszik az ISZB kezelésében, hatékonyságát több klinikai vizsgálat is alátámasztotta [12]. A szívsebészeti beavatkozás során a szűkült koronária szakasz áthidalását végzik, biztosítva a szűkület mögötti érrendszer által ellátott miokardium perfúzióját. A beavatkozás célja kettős: (1) a hosszú távú túlélés növelése, (2) a beteg életminőségének javítása az anginás panaszok mérséklésével – ha ez egyedül gyógyszeres kezeléssel már nem biztosítható. Stabil koronária betegségben javítja a túlélést („I”-es osztályú, „A” evidencia szintű ajánlás): (1) a bal koronária főtrzs szignifikáns szűkülete esetén, (2) háromér-betegség esetén, (3) vagy proximális LAD (left anterior descending artery = bal elülső leszálló ág) érintettség esetén [13].

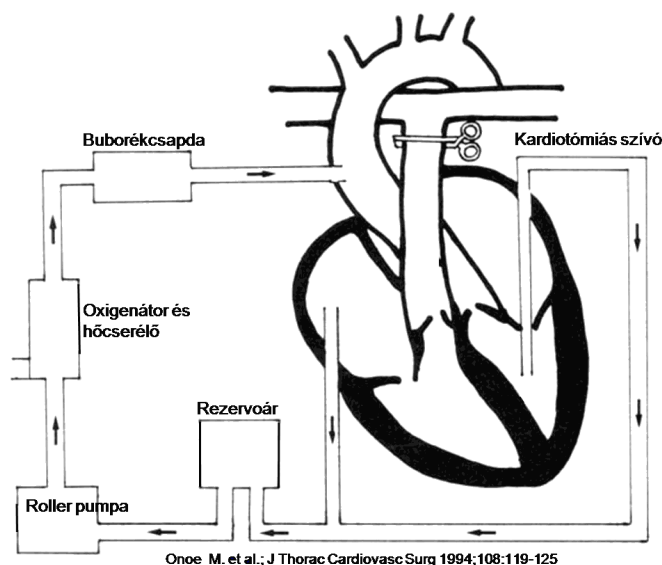
Az elzáródás mögötti terület vérellátásának biztosítása leggyakrabban vena saphena magna vagy arteria thoracica interna segítségével történik. Ismert, hogy az artériás graftok használata növeli a hosszú-távú túlélést és csökkenti az angina és a miokardiális infarktus újbóli előfordulását és a reoperáció szükségességét [14,15].

A CABG műtétek mortalitása és morbiditása rendkívül alacsony, az Egyesült Királyságban 2004-2008 között végzett összes CABG közül az elektív műtéteknél a betegek 1,1%-a, sürgős műtéteknél pedig a betegek 2,6%-a halt meg a kórházi tartózkodás alatt [16].

1.2. On-pump CABG

A hagyományos, ún. on-pump CABG során kardiopulmonális bypasst (CPB) hoznak létre, a szívet kardioplégiás oldat segítségével megállítják és a keringést a szív-tüdő motor tartja fenn. A szív-tüdő motor feladata a keringésből kirekesztett szív és tüdő funkciójának fenntartása. A vér a jobb pitvarból, vagy teljes bypass esetén a véna cavakból, egy rezervoárba jut, ahonnan a rollerpumpa az oxigenátoron, hőcserélőn és a buborék csapdán keresztül a felszálló aortába pumpálja azt (1. ábra). A CPB létrehozása előtt a szív-tüdő motort priming oldattal töltik fel, mely Ringer-laktátot, mannitolt, NaHCO₃-ot és heparint

tartalmaz és összekeveredik a beteg vérével. A beavatkozást hipotermiában végzik, mérsékelve a szív és a szövetek oxigén felhasználását.



1. ábra: Az extrakorporális keringés vázlatos felépítése

Az extrakorporális keringés afiziológiás körülményeket teremt. A vér nem-pulzatilis módon kering, és összetétele is változik a priming oldat és a heparinizálás miatt. A vér érintkezése a különböző nem biológiai, mesterséges felszínekkel erős stimulus az immunrendszer számára, mely a fehérvérsejtek, citokin rendszer, adhézions molekulák és komplement kaszkád aktiválódásához és egy szisztémás gyulladásos válasz létrejöttéhez vezet [17,18]. Az aktivált neutrofil granulociták szabadgyököket és proteolitikus enzimeket termelnek, károsítva ezzel a miokardiumot [18]. A vér sejtjei mechanikai stressznek és hemodilúciónak vannak kitéve, mely elégtelen hemosztázishoz, embolizációhoz, hemolízishez és különböző szervek hipoperfúziójához vezethet [19].

1.3. Off-pump CABG

Az extrakorporális keringés káros hatásainak elkerülésére egy új műtéti technikát fejlesztettek ki. Az off-pump CABG során a műtét dobogó szíven történik, CPB és kardioplégia használata nélkül. A szívnek azon részét, ahol a műtéti manipuláció zajlik, speciális stabilizátor (ún. octopus) segítségével rögzítik. A módszer elterjedtsége jelentős eltéréseket mutat, de a legtöbb országban erősen növekvő tendencia tapasztalható az alkalmazásában [20].

1.4. On-pump és off-pump technikák összehasonlítása

A két műtéti technika összehasonlítására számos randomizált, prospektív vizsgálat történt. Habár számos szempontból az off-pump műtétek előnyösebbnek bizonyultak, mint például a csökkent gyulladási reakció [21], szignifikánsan kisebb vérvesztés és transzfúziós igény [22,23], csökkent arányú légzési komplikáció és akut vesekárosodás [24], kisebb miokardium sérülés [18], a posztoperatív pitvarfibrilláció csökkent előfordulása [25] és a hospitalizáció időtartamának lecsökkenése [18]; a kemény klinikai végpontokban, mint a mortalitás és morbiditás, a legtöbb vizsgálat nem tudta igazolni az off-pump műtétek előnyeit. Különböző retrospektív vizsgálatok és metaanalízisek is ellentmondásos eredményeket szolgáltatottak [18,26,27,28,29]. Ennek számos oka lehetséges. A CABG műtétek mortalitási és morbiditási rátája rendkívül alacsony, ezért rendkívül nagy esetszámokra van szükség, hogy a randomizált vizsgálatokban statisztikailag szignifikáns különbségeket tudjunk kimutatni. Másrészt fontos az operatőrök eltérő tapasztalata a két módszerben; ezenkívül a betegcsoportok heterogenitása is szerepet játszhat az okok között. Ezen prospektív és retrospektív vizsgálatok részletesebb, további elemzése azonban azt mutatta, hogy a magas rizikójú betegcsoportban az off-pump módszer csökkenti a mortalitást [30,31,32]. Pár vizsgálatban csökkent graft átjárhatóságot találtak a dobogó szíven végzett műtéteknél, azonban a körülmények standardizálása után és képzett sebészi technikát alkalmazva a különbség eltűnt [33].

2. Betegek és módszerek

2.1. Betegek

Vizsgálatunkban 47 elektív, primer, izolált CABG műtéten áteső beteg vett részt. A beavatkozások 2009 októbere és 2011 májusa között zajlottak a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Szívgyógyászati Klinikán. A műtétek 25 esetben on-pump, 22 alkalommal pedig off-pump technikával történtek.

A vizsgálatot a Regionális Kutatásetikai Bizottság engedélyezte (engedély szám: 3383), a vizsgálatban való részvétel előtt minden beteg beleegyező nyilatkozatot írt alá.

2.2. Vérvételek

A vizsgálat során 9 alkalommal történt vérvétel: **(1)** a műtőbe érkezéskor, **(2)** az anesztézia bevezetése után, **(3)** a szívmotor elindítása után 20 és **(4)** 40 perccel (off-pump technikánál a szívmotor indításához szükséges átlagos időt vettük alapul), **(5)** a mellkas zárása után, **(6)** a posztoperatív 1. és **(7)** 2. napon, és a **(8)** 2 és **(9)** 6 hónapos kontroll vizsgálat alkalmával.

Az alap és a posztoperatív időszak vérvételei perifériás vénából történtek, zárt vérvételi rendszerben, minimális felkari leszorítást alkalmazva. A műtét alatti mérésekhez centrális vénás kanülből nyertünk vért. A vérvételek 2x6 ml-es Li-heparinnal bevont és 3x2,7 ml-es Na-citrátot tartalmazó Vacutainer csövekbe történtek. A heparinnal antikoagulált mintákból hematokrit, plazma és teljes vér viszkozitás, vörösvérsejt aggregáció és deformabilitás meghatározását végeztük, valamint scanning elektronmikroszkópos (SEM) felvételek készültek. A Na-citráttal antikoagulált vérből trombocita aggregációt mértünk.

2.3. Hemoreológiai mérések

Hemoreológiai méréseinket a vérvételeket követő 2 órán belül elvégeztük. A plazma és teljes vér viszkozitás meghatározása és a LORCA-val történt mérések 37°C-on történtek, a többi vizsgálatot szobahőmérsékleten ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) végeztük.

2.3.1. Hematokrit meghatározás

A Htk meghatározása Haemofuge (Heraeus Instruments GmbH, Osterode, Németország) kapilláris centrifugával történt.

2.3.2. Plazma és teljes vér viszkozitás mérése

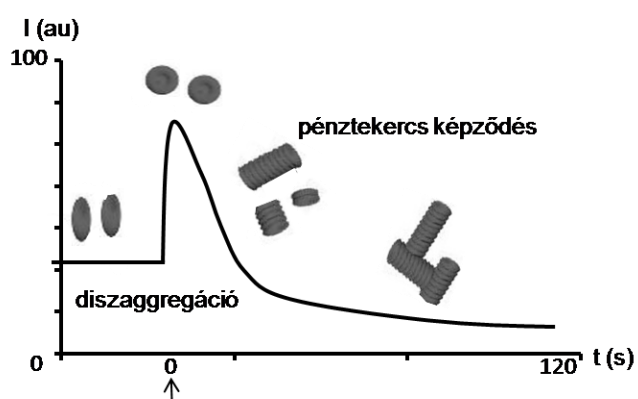
A PV-t és VV-t Hevimet 40 (Hemorex Kft, Budapest, Magyarország) kapilláris viszkoziméter segítségével mértük meg. A plazma kinyeréséhez a vért 2500 g-n 10 percig centrifugáltuk. A műszer a mérőcsövön átfolyó 620 μl folyadék sebességváltozását detektálja fotoelektromos érzékelők segítségével, mely áramlási görbéből az egyes viszkozitások kiszámíthatóak. A teljes vér viszkozitását 90 1/s-os nyírófeszültségen határoztuk meg.

A teljes vér viszkozitást a Mátrai-formula alkalmazásával 40%-os hematokritra korrigáltuk: $VV_{40\%}/PV=(VV_{Htk}/PV)^{40\%/Htk}$, ahol $VV_{40\%}$ a 40%-os, VV_{Htk} az eredeti minta Htk-jához tartozó teljes vér viszkozitást jelenti, PV a plazma viszkozitás [34].

2.3.3. Vörösvérsejt aggregáció mérése

A vvs aggregáció mérését Myrenne aggregométer (MA-1-es model, Myrenne GmbH, Roetgen, Németország) és a LORCA (Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer, R&R Mechatronics, Hoorn, Hollandia) segítségével végeztük. A Myrenne aggregométer a Schmid-Schönbein-féle fény transzmissziós elv alapján működik [35]. Az aggregométer a vérmintát (30 μ l) kezdetben 600 1/s-os nyírásnak teszi ki, hogy a vvs aggregátumokat diszaggregálja, majd a nyírás mértéke hirtelen nullára (M mód) vagy alacsony nyíróerőre (M1 mód) csökken. Az aggregáció mértékét az aggregációs index (M, M1) jelzi, melyet a műszer a fényintenzitás görbe első 10 másodpercének görbe alatti területéből számít ki [36].

A vvs aggregáció másik módszerrel történő meghatározásához a LORCA aggregométert használtuk. A mérés során 1 ml oxigenizált vért a műszer mozgó külső és álló belső cilindere közé pipettáztunk. A külső cylinder meghatározott sebességgradiensű forgó mozgása révén a vörösvérsejteket nagy nyíróerővel (500 s^{-1}) diszaggregálja, majd a nyírás hirtelen nullára zuhan. A visszaverődő lézerefény intenzitásváltozását, mely a vvs-ek aggregációjával együtt csökken, a műszer regisztrálja (2. ábra). Az aggregációs index (AI) az idő és a vvs aggregátumokról visszaverődő lézerefény intenzitás csökkenése által kirajzolt



2. ábra: A vvs aggregáció mérése LORCA-val

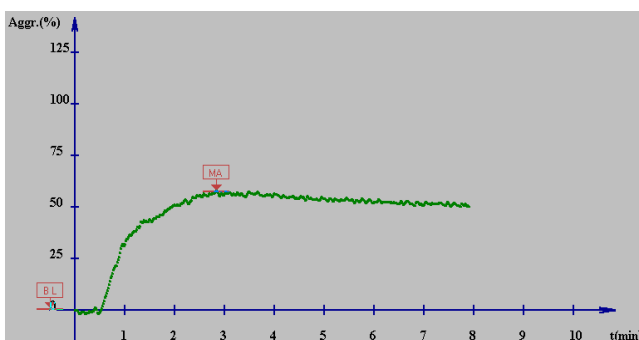
görbe aggregációs fázisának (diszaggregáció utáni első 10 másodperc) a teljes mérési időhöz (2 perc) viszonyított görbe alatti területe. Küszöbgradiensnek (γ) pedig azt a legkisebb sebességgradienst nevezzük, mely a teljes diszaggregáció fenntartására képes [37,38,39,40].

2.3.4. Vörösvérsejt deformabilitás mérése

A vörösvérsejt deformabilitást szintén két különböző módszerrel vizsgáltuk. A LORCA-val kivitelezett lézer diffrakciós ektacitometria során 25 µl-nyi vért szuszpendáltunk 5 ml magas viszkozitású (32,6 mPas) polivinilpirrolidon (PVP) oldatban. A berendezés 0,3 Pa-tól 30 Pa-ig, 9 különböző nyírófeszültségen deformálja a mintát. A mérés során a lézerefény diffrakciót szenved a megnyúlt vvs-eken, és az így nyert ellipszis alakú diffrakciós képből a deformabilitás mértékét jellemző elongációs index (EI) kiszámolható az alábbi képlet szerint: $(A-B)/(A+B)$, ahol A az ellipszis hosszabb átmérője, B pedig a rövidebb átmérője [41]. Filtrometriás méréseinket Carat FT-1 filtrométerrel (Carat Diagnostics Kft, Magyarország) végeztük. A vért 10 percig 2500 g-vel centrifugáltuk, majd a plazma és a fehérvérsejtek eltávolítása után foszfát pufferrel (PBS – pH: 7,4, ozmolaritás: 300 mOsm, glükóz: 10 mM) mostuk át két alkalommal. A hematokritot 10%-ra állítottuk be PBS-sel történő hígítással. A minták egy 5 µm pórusátmérőjű Nucleopore filteren haladtak keresztül. Az átáramláshoz szükséges időből az ún. relatív sejt tranzit idő (relative cell transit time - RCTT) került meghatározásra. Mintánként 3 mérést végeztünk [8].

2.3.5. Trombocita aggregációs mérések

A tct aggregáció meghatározását plazmából végeztük Carat TX4 optikai aggregométer (Carat Diagnostics Kft, Magyarország) segítségével. A vért 10 percen át 150 g-vel centrifugáltuk, majd a felülúszó leszívásával trombocita dús plazmát (platelet rich plasma, PRP) nyertünk. Az üledéket tovább centrifugáltuk 10 percig 2500 g-vel, melynek felülúszóját eltávolítva trombocita szegény plazmához (platelet poor plasma, PPP) jutottunk. A trombocita aggregációt 30 µl adenzin-difoszfát (ADP, 5µM végső koncentráció) vagy adrenalin (10 µM végső koncentráció) 270 µl PRP-hez adásával indukáltuk. A mintán áthaladó fény



3. ábra: A trombocita aggregációs görbe

intenzitásának változását aggregációs görbén tüntettük fel, ahol a PRP optikai denzitását 0%-nak, a PPP optikai denzitását pedig 100%-nak vettük. A mérés 8 percig tartott, a trombocita aggregáció mértékét az aggregációs görbe maximális értékével jellemeztük (3. ábra) [42].

2.3.6. Scanning elektronmikroszkópos felvételek

A vörösvérsejtek morfológiai vizsgálata céljából az alap, 40 perc, 1. és 2. posztoperatív nap mintáiból SEM felvételek készültek a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Központi Elektronmikroszkópos Laboratóriumában. A vérmintákat 10 percig 2500 g-n centrifugáltuk és a plazmát eltávolítottuk. Az üledékhez 1:1 arányban 2%-os glutáraldehid oldatot (0,5 ml 50% glutáraldehid és 12 ml 0,2 M foszfát puffer) kevertünk. Egy órás glutáraldehydes fixálás után PBS-es mosás következett, majd a minták dehidratálása etanol hígítási sorral (50-70-90-96%-os). A minták aranyozása után a vvs-ek vizualizálása JEOL JSM-6300-as scanning elektronmikroszkóppal történt.

2.3.7. Statisztikai módszerek

Az adatokat *átlag ± S.E.M.* formában tüntettük fel. A kapott eredményeket egy- és kétmintás Student t-próbával értékeltük. Az eltéréseket szignifikánsnak vettük $p < 0,05$ értéknél.

3. Eredmények

A két betegcsoport között az életkor, a rizikófaktorok és a kardiovaszkuláris anamnézis tekintetében nem mutatkozott különbség (1. táblázat). A két műtéttípus között nem volt jelentős eltérés a felvarrt graftok számát tekintve, azonban az átlagos műtéti idő hosszabb volt off-pump technika során. Az on-pump beavatkozásokon átesett betegek nagyobb mennyiségű Na-heparint és több folyadékot kaptak (on-pump CABG: 500 ml Ringerfundin, 1200-1500 ml Ringerlaktát, 200-300 ml Voluven, 40-60 ml Na-bikarbonát és 100 ml mannisol; off-pump CABG: 500 ml Ringerfundin, 1000-1200 ml Voluven) (2. táblázat).

A betegek a szakmai irányelveknek megfelelően kombinált antiiszkémiás-antianginás gyógyszeres terápiában részesültek. A trombocita aggregáció gátló kezelés a műtét előtt 5-7 nappal felfüggesztésre került és a műtétet követő napon kezdték újra. Az utánkövetés során major kardiovaszkuláris esemény (halál, miokardiális infarktus, stroke, revaszkularizáció) nem történt.

	On-pump (n=25)	Off-pump (n=22)	p-érték
Életkor (év)	62,9 ± 8,1	61,6 ± 7,2	NS
Nem (férfi/nő)	15/10	14/8	NS
Aktív dohányos	5 (20%)	2 (9%)	NS
Magas vérnyomás betegség	23 (92%)	19 (86%)	NS
Cukorbetegség	12 (48%)	11 (50%)	NS
Korábbi AMI	8 (32%)	11 (50%)	NS
Korábbi PCI	7 (28%)	6 (27%)	NS
Korábbi stroke	3 (12%)	2 (9%)	NS
Ejekciós frakció	56%	53%	NS

NS: nem szignifikáns

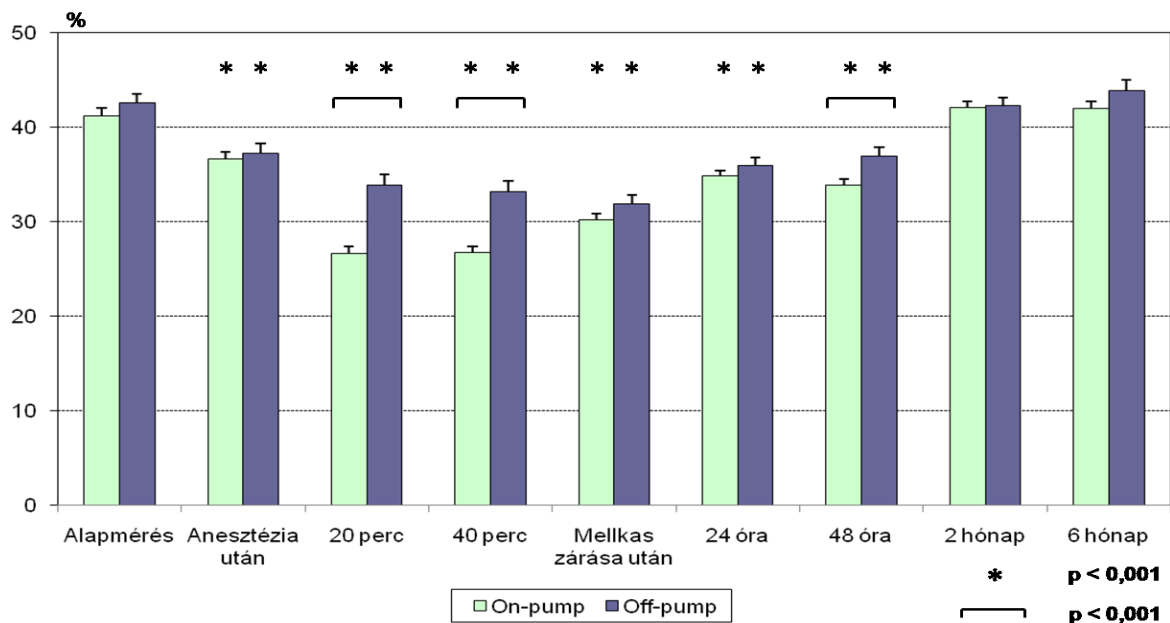
1. táblázat: A vizsgálatban résztvevő betegek alapadatai

	On-pump (n=25)	Off-pump (n=22)	p-érték
Graftok átlagos száma	3,28 ± 1,02	3,14 ± 0,89	NS
Átlagos műtéti idő (perc)	162 ± 41,8	191 ± 40,2	<0,05
Heparin (IU/ testtömeg kg)	300	150	<0,05
Teljes folyadékbevitel (ml)	2200 ± 374	1650 ± 363	<0,05

2. táblázat: A két műtéttípus műtéti és anesztéziai adatai

3.1. Hematokrit

A hematokrit mindkét műtéttípusnál jelentősen csökkent a beavatkozások kezdeti szakaszában. A műtétek végén és a korai posztoperatív időszakban a Htk emelkedni kezdett, de az első 48 órában végig szignifikánsan alacsonyabb volt az alapméréshez képest. A 2 és 6 hónapos kontroll vizsgálatok esetében a kiindulással közel megegyező értékeket kaptunk. On-pump technikánál szignifikánsan alacsonyabb volt a Htk az off-pumphoz képest a 20 és 40 perces mintáknál. Szintén alacsonyabb értékeket mértünk az on-pump csoportban a 2. posztoperatív napon (4. ábra).



4. ábra: A hematokrit változása CABG műtétek alatt és a posztoperatív időszakban.

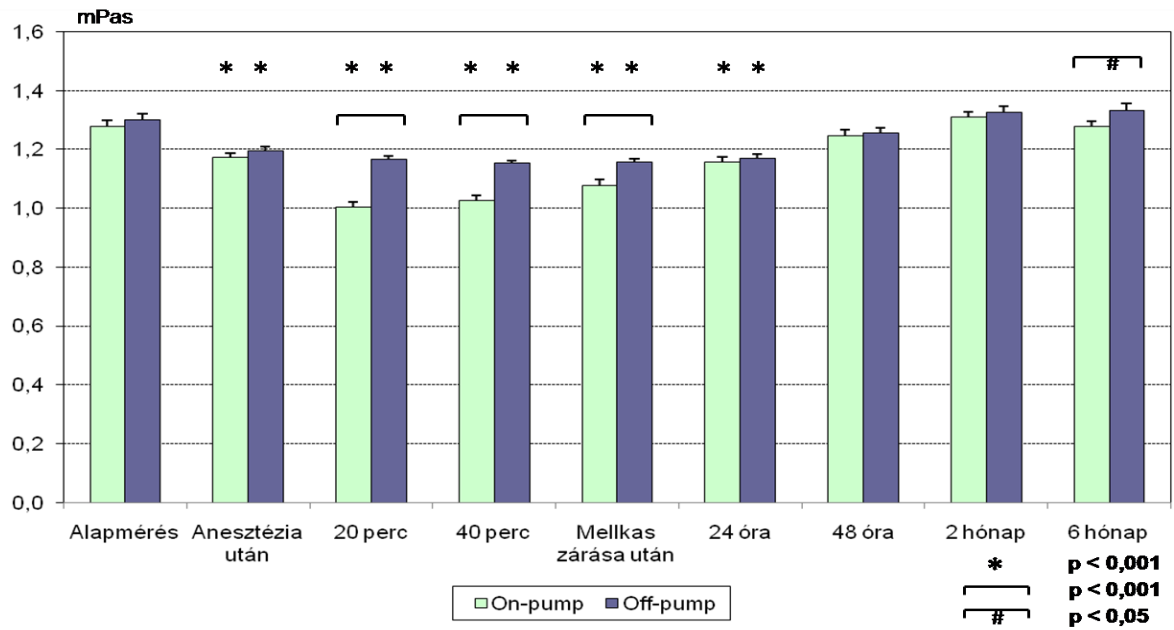
(* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest, \square = szignifikáns különbség a két csoport között)

3.2. Viszkozitás

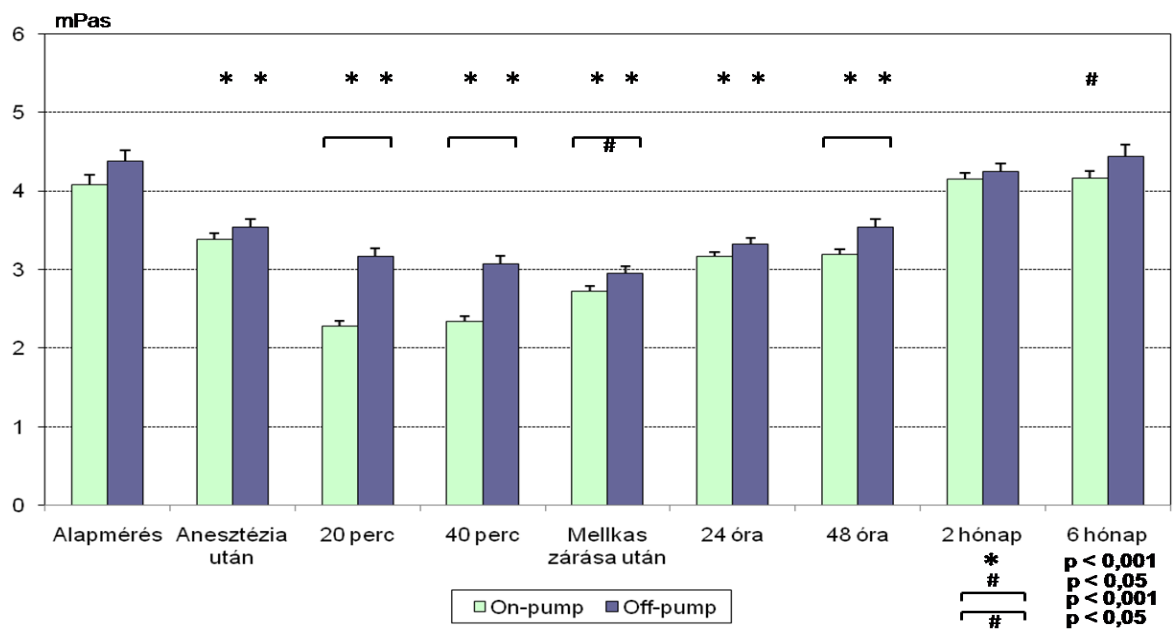
A plazma viszkozitás mindkét csoportban gyorsan csökkent a műtétek kezdeti szakaszában, a legalacsonyabb értékeket a 20 és 40 perces mintáknál észleltük az on-pump csoportban. Ezt követően a PV lassú növekedésnek indult, a 2 és 6 hónapos mintáknál elérte a kiindulási értékeket. A 20. és 40. percben, a sebzés és 6 hónap után az on-pump műtéteknél alacsonyabb PV-t mértünk az on-pump csoportban (5. ábra).

A teljes vér viszkozitás változása követi a Htk és a PV változását. A 20 és 40 perces, a sebzés utáni, továbbá a 48 órás mintáknál szignifikánsan nagyobb volt a csökkenés az on-pump műtéteknél az off-pump technikához viszonyítva. Az on-pump csoportban a 6 hónapos mintáknál szignifikánsan magasabb viszkozitás értékeket mértünk az alaphoz képest (6. ábra).

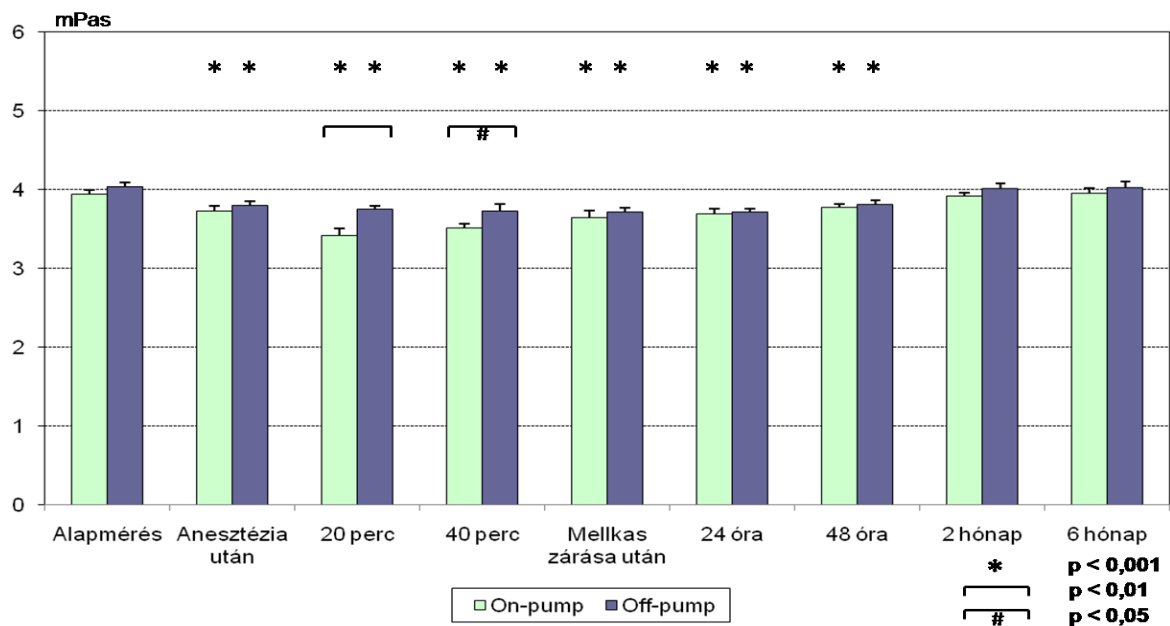
A korrigált teljes vér viszkozitás szignifikánsan alacsonyabb volt az első 48 órában az alapértékekhez viszonyítva mindkét műtéttípusnál, és szintén szignifikánsan alacsonyabb értékeket kaptunk 20 és 40 percnél az on-pump csoportban (7. ábra).



5. ábra: A plazma viszkozitás változása CABG műtétek alatt és a posztoperatív időszakban. (* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest; [], [#] = szignifikáns különbség a két csoport között)



6. ábra: A teljes vér viszkozitás változása CABG műtétek alatt és a posztoperatív időszakban. (*, # = szignifikáns eltérés az alaphoz képest; [], [#] = szignifikáns különbség a két csoport között)



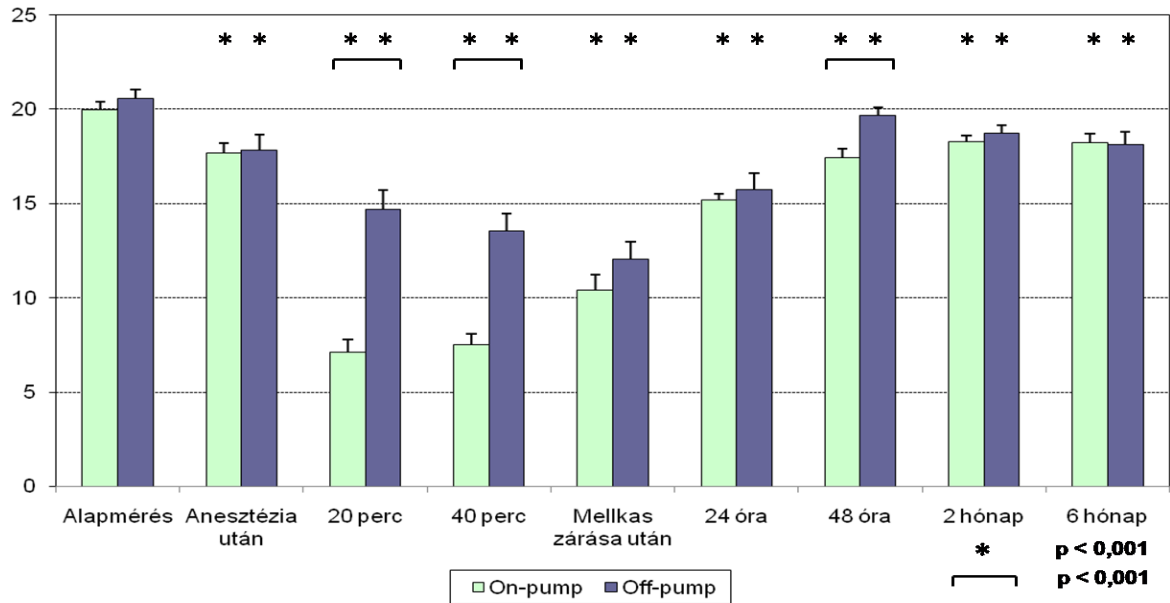
7. ábra: A korigált vér viszkozitás változása CABG műtétek alatt és a posztoperatív időszakban. (* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest; \square , $\square\#$ = szignifikáns különbség a két csoport között)

3.3. Vörösvérsejt aggregáció

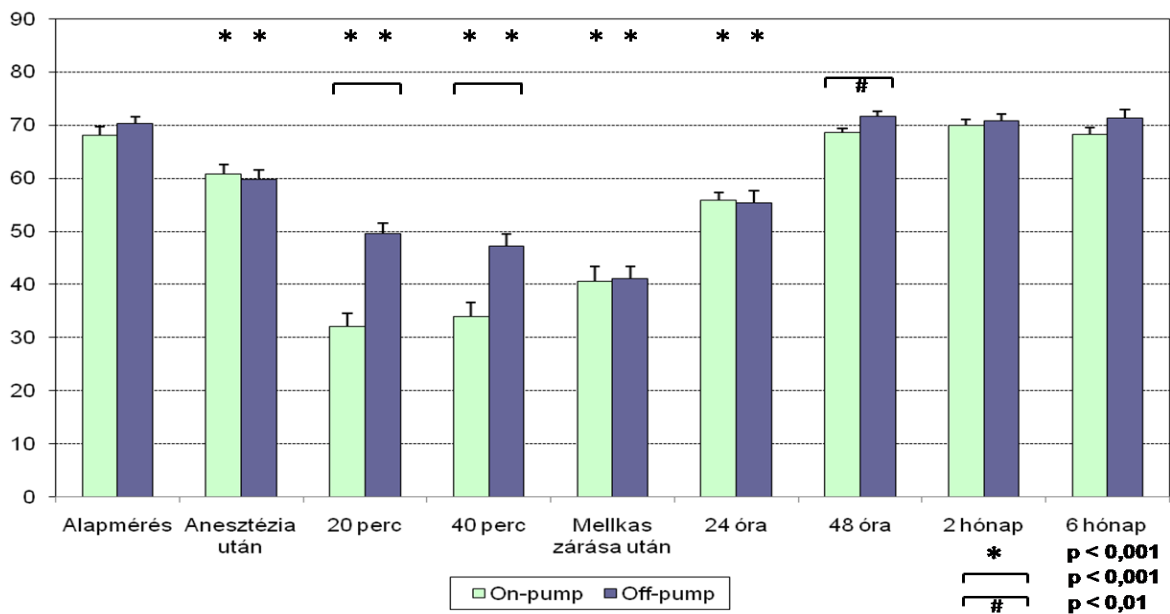
A Myrenne aggregációs indexek a hematokrit változásához hasonló tendenciát mutattak. Az M1 paraméter azonban a korai posztoperatív időszakban és az elkövetkező hónapokban is az alapérték alatt maradt. Az on-pump műtéteknél szignifikánsan nagyobb csökkenés volt megfigyelhető a 20 és 40 perces, illetve a 48 órás mintáknál (8. ábra). Az M paraméter átlag értékeiben szintén nagyobb mértékű volt a csökkenés az on-pump csoportban, és az alapmérésnél alacsonyabb átlagértékeket mértünk a késő posztoperatív szakaszban (az adatokat nem tüntettük fel).

A LORCA-val mért aggregációs index nagymértékben csökkent a reperfüzió kezdeti szakaszában majd emelkedésnek indult, és a 48. órára fokozatosan visszatért a kiindulási értékre. A két technika közti különbségek itt is megfigyelhetők (9. ábra).

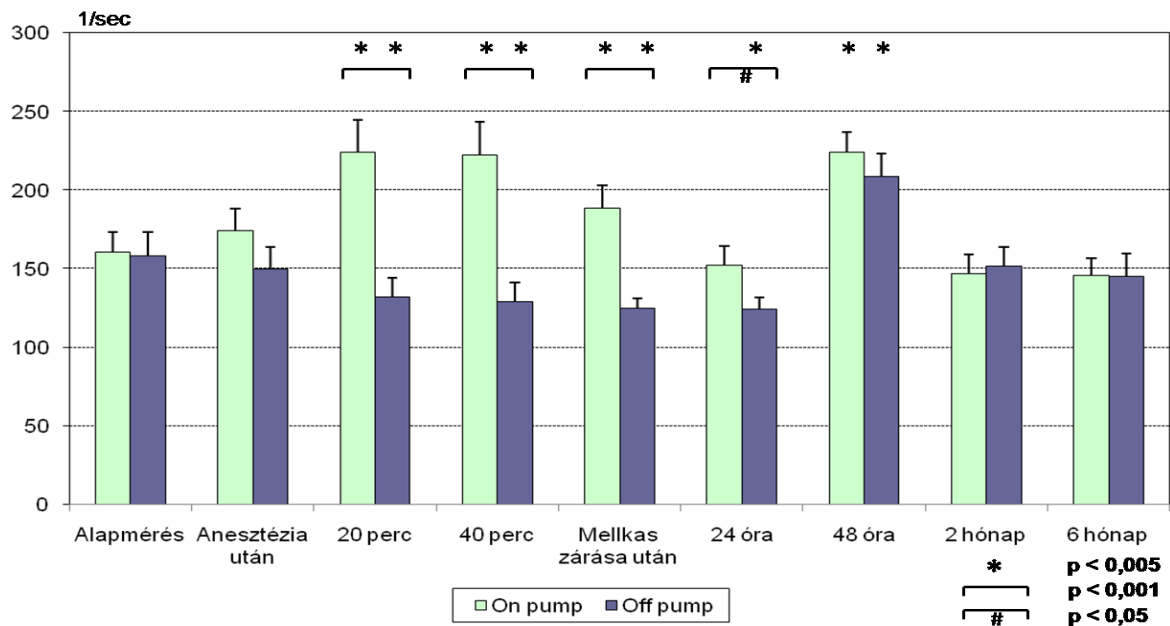
A küszöbgrádiens (γ) a műtétek alatt off-pump technika során fokozatosan csökkent, míg on-pump alatt jelentősen megemelkedett. Mindkét csoportban a posztoperatív 2. napon a paraméter jelentős növekedését találtuk, majd az elkövetkező hónapokban alapérték közeli értékeket kaptunk (10. ábra).



8. ábra: Myrenne M1 indexek változása CABG műtétek alatt és a posztoperatív időszakban. (* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest, \square = szignifikáns különbség a két csoport között)



9. ábra: LORCA aggregációs indexek változása CABG műtétek alatt és a posztoperatív időszakban. (* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest, \square , $\square\#$ = szignifikáns különbség a két csoport között)

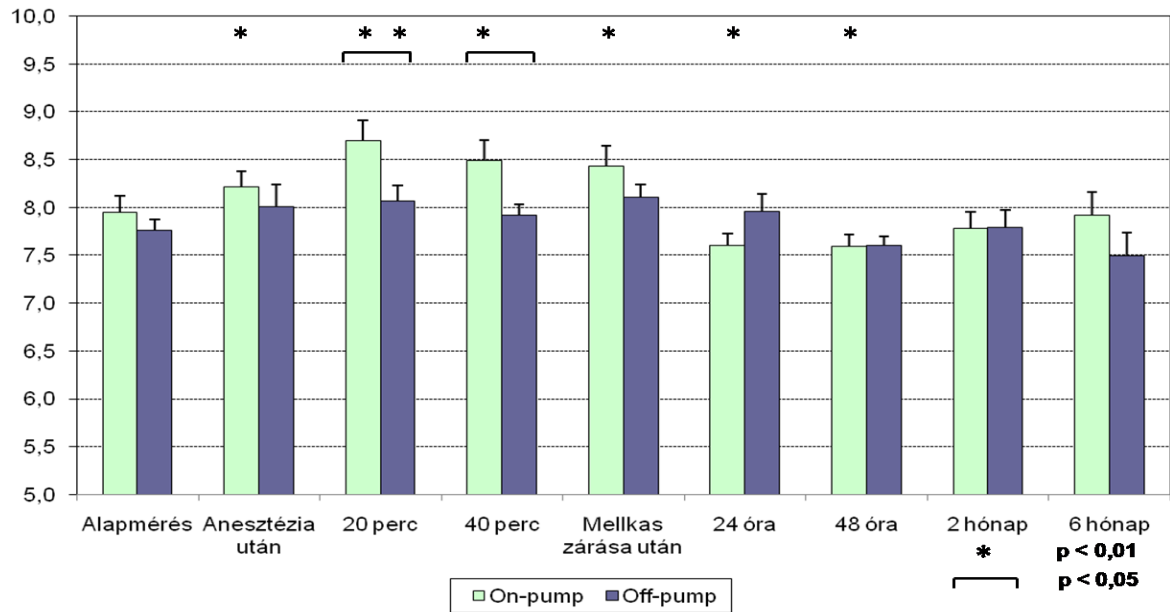


10. ábra: LORCA küszöbgrádiens változása CABG műtétek alatt és a posztoperatív időszakban. (* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest; [*], [#] = szignifikáns különbség a két csoport között)

3.4. Vörösvérsejt deformabilitás

Az ektacitometria elvén működő LORCA-val meghatározott EI-k nem mutattak eltérést sem a műtétek alatt, sem pedig a két műtét típus között (az adatokat nem tüntettük fel).

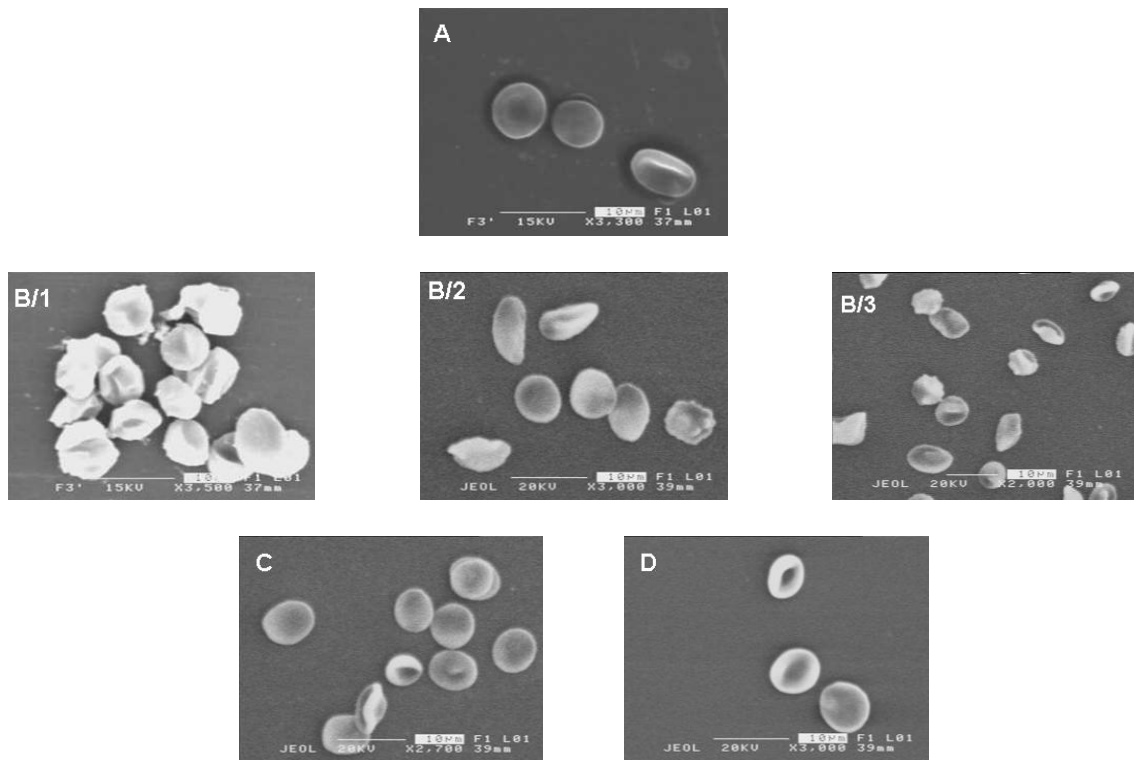
A filtrometriával mért RCTT az on-pump műtétek alatt szignifikánsan megemelkedett. A posztoperatív 1. és a 2. napon mért értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak, majd fokozatosan visszatértek az alapértékekhez. Az off-pump csoportban a 20 perces minta enyhén magasabb értékétől eltekintve nem volt szignifikáns változás a kiinduláshoz képest. A két csoport között szignifikáns különbséget találtunk a 20 és 40 perces mintáknál (11. ábra).



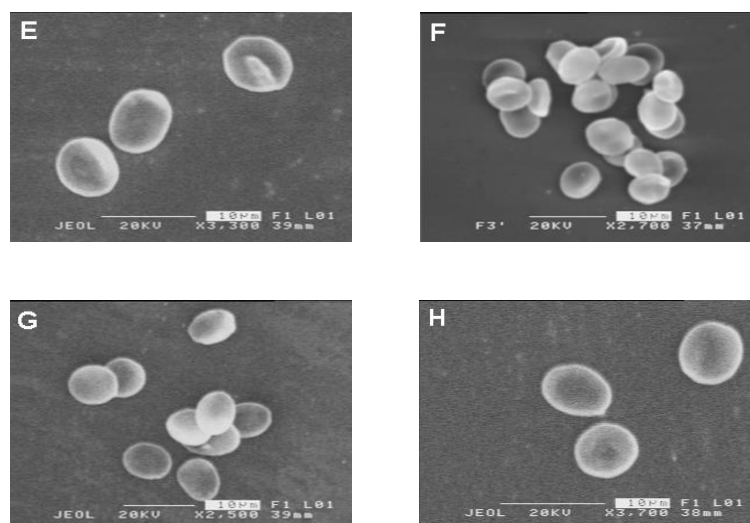
11. ábra: Filtrometriával meghatározott relatív sejt tranzit idő változása CABG műtétek alatt és a posztoperatív időszakban. (* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest, \square = szignifikáns különbség a két csoport között)

3.5. Scanning elektronmikroszkópos felvételek

A scanning elektronmikroszkópos felvételek az on-pump műtétek 40 perces mintáiban különböző deformált vörösvérsejteket mutattak néhány echinocytával. Ezek a változások a 24 és 48 órás mintákban már nem voltak jelen (12. ábra). A dobogó szíven végzett műtétek mintáiban nem találtunk morfológiai eltéréseket (13. ábra).



12. ábra: Scanning elektronmikroszkópos felvételek on-pump mintákról. A: alap minta, B: 40 perces minta, C: 24 órás minta, D: 48 órás minta

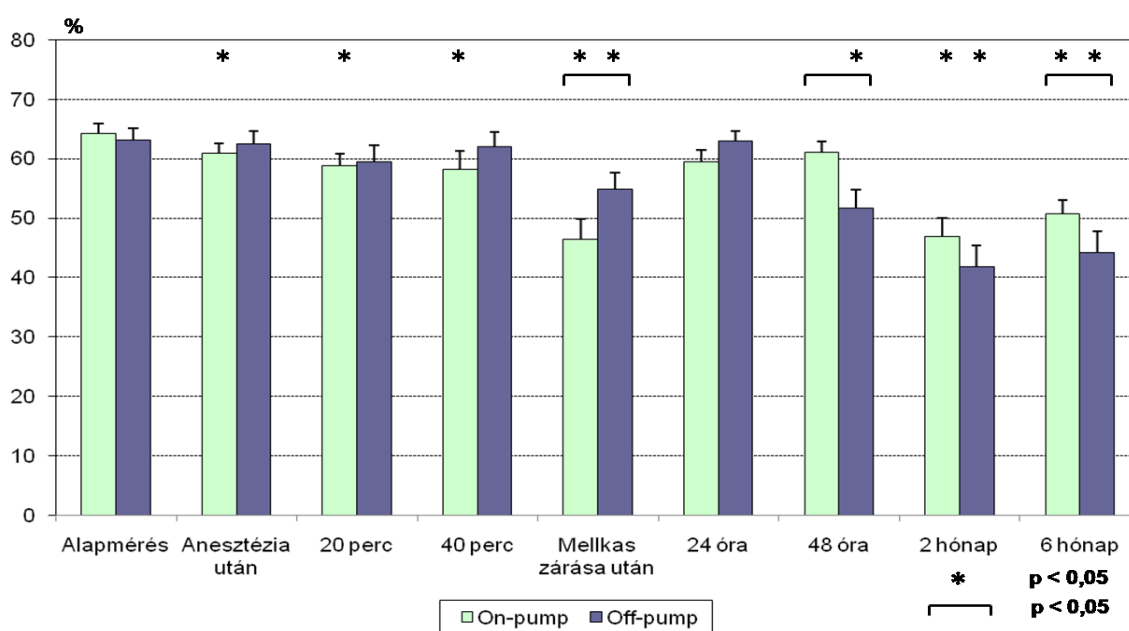


13. ábra: Scanning elektronmikroszkópos felvételek off-pump mintákról. E: alap minta, F: 40 perces minta, G: 24 órás minta, H: 48 órás minta

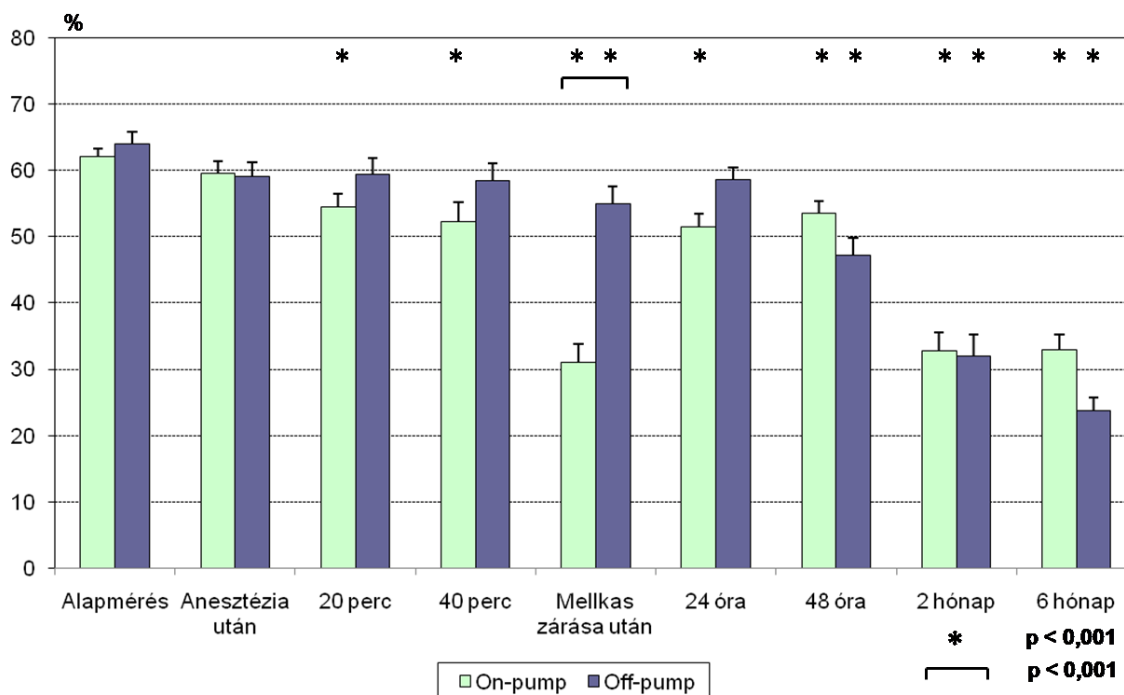
3.6. Trombocita aggregációs mérések

A tct aggregációs vizsgálatból 4-4 beteg kizárásra került, mert az alapméréseknél valamelyik induktorral szemben hatásos gátlást mutattak (50% alatti aggregációs index ADP-vel, 40% alatti adrenalinval szemben).

On-pump műtétek alatt ADP és adrenalin induktorral szemben is a tct aggregáció fokozatos csökkenését láttuk, ami a műtét végére igen jelentőssé vált. Az off-pump csoport esetében a műtét alatt változás nem volt, de a műtét végére szignifikáns csökkenést tapasztaltunk. A mellkas zárása után vett mintákban az on-pump csoportnál szignifikánsan alacsonyabb volt az aggregáció az off-pumphoz képest. Tekintettel arra, hogy a betegek az első posztoperatív naptól kezdve ismét trombocita aggregáció gátló kezelésben részesültek, így a 48 órás és a késői posztoperatív időszakban vett minták eredményeinek összehasonlításának nincs különös relevanciája.



14. ábra: 5 μ M ADP által indukált trombocita aggregáció változása. (* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest, \square = szignifikáns különbség a két csoport között)



15. ábra: 10 μ M adrenalin által indukált tet aggregáció változása. (* = szignifikáns eltérés az alaphoz képest, \square = szignifikáns különbség a két csoport között)

4. Diskusszió

A dobogó szíven végzett koszorúér bypass műtétek kifejlesztése óta több vizsgálat is foglalkozott a két technika összehasonlításával. Habár az off-pump technika előnyeit nem könnyű bizonyítani kemény klinikai végpontokkal, a kardiopulmonális bypass káros hatásai jól ismertek. Mivel a hemoreológiai tényezők fontos szerepet töltenek be a kardiovaszkuláris betegségek patomechanizmusában és a prognózist is képesek befolyásolni, ezért vizsgálatunkban az on-pump és off-pump CABG hemoreológiai aspektusát tanulmányoztuk, illetve követtük a hemoreológiai paraméterek változását 6 hónapon keresztül.

Vizsgálatunkban a hematokrit a műtétek korai szakaszában szignifikánsan csökkent a vérzés és a hemodilúció miatt. On-pump műtétek alkalmával a betegek több folyadékot kaptak a CPB során használt priming oldat miatt, ezért a hematokrit szignifikánsan alacsonyabb volt a 20. és a 40. percben az off-pump beavatkozásokhoz képest. Az off-pump csoportban 30-40% közötti értékeket, az on-pump csoportban pedig 20-30% közötti értékeket mértünk, mely hipoxiához és egyes szervek hipoperfúziójához (pl. agy, vese) vezethet, vagy különböző komplikációkat okozhat az on-pump műtétknél. Egyes szerzők szerint az intraoperatív vérzés on-pump technika esetén nagyobb [23], ami ugyancsak magyarázhatja az

észlelt különbséget. A műtétek végére és a műtétek utáni első napokban a hematokrit értékek normalizálódni kezdtek, vélhetően elsősorban a transfúzióknak köszönhetően.

A plazma és teljes vér viszkozitás operációk alatti esése és a két csoport között észlelt különbség a különböző mértékű hemodilúcióval magyarázható. A hematokrit okozta különbségek kiküszöböléséhez matematikailag korrigáltuk a teljes vér viszkozitás értékeit. A korrekció után továbbra is szignifikánsan alacsonyabb értékeket kaptunk az első 48 órában az alpméréshez képest, melyet a hemodilúció miatti csökkent vvs aggregáció és a plazma protein (pl. fibrinogén) szint csökkenés magyarázhat. A fibrinogén szintek meghatározására nem került ugyan sor ebben a vizsgálatban, de egyes szerzők jelentős csökkenését írták le CABG alatt, ami CPB használatakor jelentősebb volt [43], magyarázva az alacsonyabb korrigált vér viszkozitási adatokat.

A vvs aggregációs indexek jelentősen csökkentek mindkét csoportban, különösen az on-pump műtéteknél. Az vvs aggregációt befolyásolja a Htk és a plazmafehérjék (különösen a fibrinogén) szintje, így az észlelt változás magyarázható a Htk és a hemodilúció miatti plazmafehérje koncentráció csökkenéssel. Gu és munkatársai a vvs aggregációt 40%-os hematokritra standardizált mintákon vizsgálták: dobogó szíven végzett műtéteknél enyhe, CPB-vel végzett beavatkozásoknál jelentős aggregáció csökkenésről számoltak be [43], mely megfelel a mi eredményeinknek. A két mérési technika posztoperatív eredményei részleges ellentmondást mutattak. A Myrenne-nel mért AI-k az alapértékek alatt maradtak még a késői posztoperatív időszakban is. A Myrenne és a LORCA eredményei közt fennálló gyenge korreláció már előzetesen leírásra került, de az oka jelenleg sem tisztázott teljes mértékben [44].

A küszöbgrádiens vizsgálata során jelentős észrevételt tettünk. Off-pump technikánál mind a γ , mind az AI csökkenését láttuk. Ezzel ellentétben on-pump műtéteknél a γ jelentősen emelkedett az operáció alatt, miközben az AI csökkent. Feltételezhetően a CPB által mechanikailag károsított vvs-ek közti aggregációs erők fokozódtak, aminek megszüntetéséhez, a diszaggregációhoz, nagyobb küszöbgrádiens szükséges. A másik nem várt eredmény a γ jelentős emelkedése volt a 2. posztoperatív napon, mindkét csoportban. Ennek lehetséges magyarázata a kialakuló szisztémás gyulladáshoz vezető válaszreakció, melyet a műtéti trauma miatti oxidatív stressz okoz [45,46].

A vvs deformabilitás meghatározásra alkalmazott két módszer némileg ellentmondásos eredményt hozott. Az ektacitometria nem mutatott deformabilitás változást, hasonlóan egy korábbi vizsgálathoz [43]. Ugyanakkor a filtrometriával meghatározott RCTT szignifikánsan emelkedett on-pump műtétek alatt, ami a szív-tüdő-gép által okozott

mechanikai trauma miatti deformabilitás csökkenést igazolja. Az off-pump csoportban csupán enyhe RCTT emelkedést találtunk a 20 perces mintáknál, ami statisztikailag ugyan szignifikáns, de feltehetően irreleváns, és a betegszám növelésével valószínűleg elvész. Az on-pump csoportban észlelt korai posztoperatív deformabilitás változások oka nem tisztázott, további vizsgálatok szükségesek. Magyarázható a transzfúziók hatásával (a donor vvs-ek befolyásolhatják a deformabilitást), a vérvesztést kompenzáló növekvő retikulocita számmal vagy azzal, hogy a műtét után a jobban deformálható vvs-ek maradtak életben. A filtrometria előnyösebb módszernek tűnik a mechanikai károsodás miatt létrejövő deformabilitás változások kimutatására, habár a CPB hatása a vvs filterabilitásra ellentmondásos [47,48,49,50].

A filtrometriás eredményeinket a SEM felvételek egyértelműen megerősítették. CPB során a sejtek nagy nyíróerőknek, turbulenciának, extrém hemodilúciónak és hipotermiának vannak kitéve. A 40 perces mintákban a vörösvérsejtek károsodása és malformációi láthatók a mechanikai trauma miatt. Ezek a változások azonban reverzibilisek [51] és a műtétet követő napokon eltűnnek. Eredményeinket más szerzők vizsgálatai is megerősítették [49]. A dobogó szíven végzett beavatkozások nem okoztak morfológiai eltérést a vvs-ekben.

Vizsgáltuk a különböző CABG műtétek hatását a trombocitákra is. A tct aggregáció a műtétek végére szignifikánsan csökkent, mindkét műtéttípus és mindkét alkalmazott induktor esetében. Az aggregáció csökkenés on-pump műtételnél nagyobb mértékű volt, feltehetően a CPB által okozott mechanikai trauma miatt. A CPB során csökkent tct aggregációt mások is megfigyelték [52,53], illetve több kutatócsoport kimutatta mikroaggregátumok képződését is [54,55]. Az egyik vizsgálat közülük jelentős tct szám csökkenést figyelt meg on-pump műtétek alatt, és a trombociták aktivációját és a mikroaggregátumok megjelenését már a CPB előtt, a heparinizáció után észlelték [55]. Az optikai aggregometria során jelentkező aggregáció csökkenés egyik lehetséges magyarázata, hogy a mechanikai trauma és a mesterséges felszínnel való érintkezés hatására a tct-k aktiválódnak és aggregációjuk megindul. Emiatt a PRP-ben már az induktor hozzáadása előtt kisebb-nagyobb aggregátumok lehetnek jelen (a PRP-ben fiziológias esetben nincs, vagy minimális az aggregátum mennyisége), így az induktorok által okozott aggregáció a minta transzparenciáját csak kisebb mértékben képes megváltoztatni, és így kisebb tct aggregációs értékeket kapunk.

5. Összefoglalás

A CABG műtétek alatt a legtöbb hemoreológiai paraméter szignifikáns változást láttuk. Ezek a változások on-pump műtétek során kifejezettebbek voltak, a két módszer között szinte mindegyik paraméternél szignifikáns volt az eltérés a 20 és 40 perces mintákban. Az észlelt különbségek a hosszú távú utánkövetés során eltűntek. A vvs-ek mechanikailag károsodtak a CPB miatt, amit a SEM felvételek, a filtrometria és a γ értékek igazoltak. Az on-pump műtétek végére a tct aggregáció nagyobb mértékű csökkenését tapasztaltuk.

Mindezek alapján hemoreológiai szempontból a dobogó szíven végzett CABG műtéteket kedvezőbbnek tartjuk.

VI. Trombocita aggregáció gátlás acetilszalicilsavval, metamizollal és kombinációjukkal - *in vitro* és *in vivo* összehasonlítás

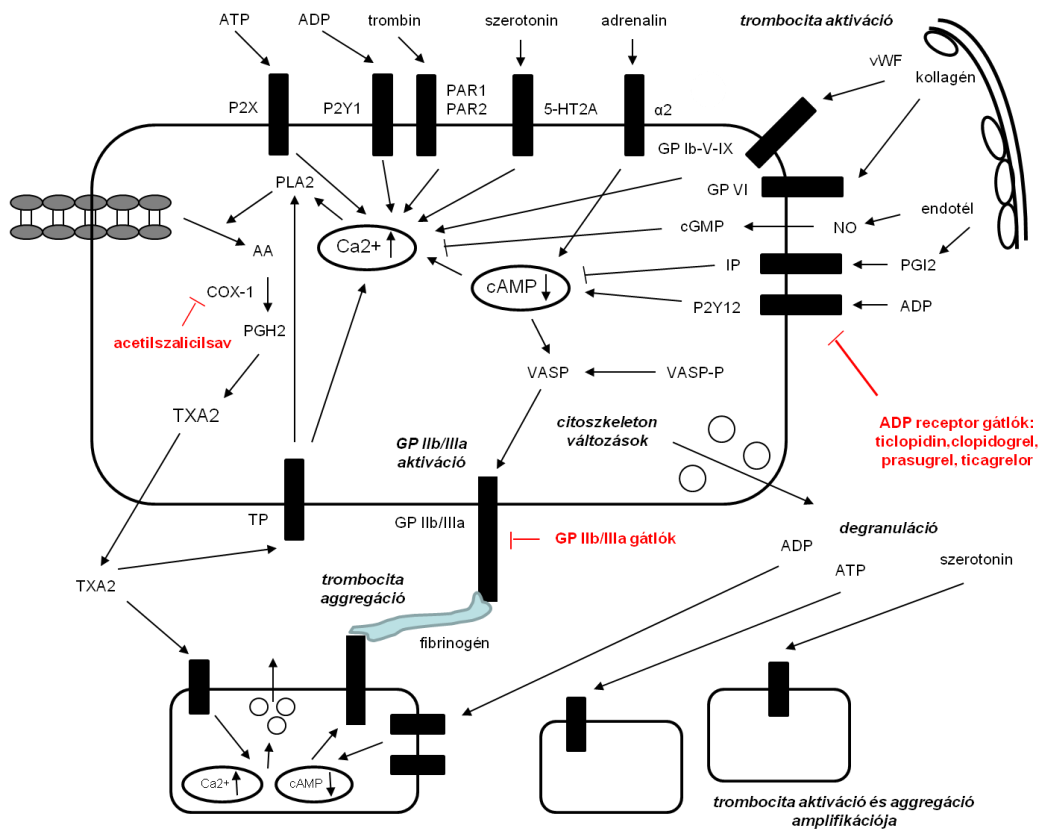
1. Bevezetés

A vérlemezkék fontos szerepet játszanak mind a normális hemosztázis, mind a patológiás trombus képződés kialakulásában és az ateroszklerózis progressziójában. Több multicentrikus, randomizált vizsgálat bizonyította, hogy a trombocita aggregáció gátlása jelentős mértékben csökkenti a kardiovaszkuláris halálozás rizikóját, ezért ma ez az egyik legfontosabb farmakoterápiás módszer az iszkémiás vaszkuláris események kivédésében és megelőzésében [56].

1.1. A trombociták működése

A normál hemosztázis első lépése a trombociták adhéziója, aktivációja és aggregációja, majd a következő lépésben megtörténik a véralvadási kaszkád aktivációja. Az adhézió során a sérült érfalon található von Willebrand (vWF) faktorhoz a trombociták a glikoprotein (GP) Ib/V/IX receptorral, a kollagénhez pedig a GP VI receptorral kapcsolódnak, mely elindítja az aktivációs folyamatot. A trombociták aktivációját további, az érfalból és a vérlemezkékből felszabaduló protrombotikus ágensek receptoraikhoz kapcsolódása láncszerűen erősíti (ADP - P2Y₁₂ és P2Y₁, ATP - P2X, TXA₂ - TP, trombin - PAR₁ és PAR₄, szerotonin - 5-HT_{2A}, adrenalin - α_2 -adrenerg receptoron keresztül). A folyamatot számos sejten belüli jelátviteli út aktiválódása kíséri, mely az intracelluláris Ca²⁺ szint emelkedéséhez és a cAMP szint csökkenéséhez vezet. A rendkívül komplex és bonyolult folyamatból kiemelendő a ciklooxygenáz-1 (COX-1) enzim, mely a sejtmembránból a foszfolipáz A₂ (PLA₂) enzim által hasított arachidonsavat (AA) különböző prosztanoidokká alakítja át, melyek közül a tromboxán A₂ (TXA₂) játszik fő szerepet a trombociták aktiválásában a sejtfelszíni receptorán keresztül. A folyamat másik fontos résztvevője az ADP, mely P2Y₁₂ receptorához kötődését követően a cAMP szint csökkenése miatt csökken a sejten belüli VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein, vazodilatátor-stimulált foszfoprotein) foszforilációja, melynek következménye a membrán GP IIb/IIIa aktiválódása. A trombociták a GP IIb/IIIa-val fibrinogénhez kötődnek, a fibrinogénhidakon keresztül egymáshoz aggregálódnak, és a trombushoz rögzülnek. Az aktiválódó trombociták alakja megváltozik, eközben granulumaikat kiürítik, olyan anyagokat felszabadítva (ADP, adrenalin, szerotonin), melyek

további trombociták aktivációját okozzák, így elősegítve ezt a komplex, önerősítő folyamatot (16. ábra) [57].



16. ábra: A trombocita aggregáció és aktiváció jelátviteli folyamatainak leegyszerűsített ábrája. (J. Papp et al.: Clinical importance of platelet function inhibitors in cardiac diseases, *Clin Hemorheol Microcirc*, 2012.)

1.2. Acetilszalícilsav

A mai trombocita aggregáció gátló kezelés alapját három vegyületcsoport képezi: az acetilszalícilsav, a P2Y₁₂ ADP receptor antagonisták (clopidogrel, prasugrel, ticagrelor) és a GP IIb/IIIa receptor antagonisták (abciximab, tirofiban, eptifibatid). További két gyógyszer-csoport, a tromboxán receptor antagonisták és trombin receptor antagonisták, hatékonyságát pedig már klinikai fázisban vizsgálják [58].

Az acetilszalícilsav széles körben alkalmazott trombocita aggregáció gátló gyógyszer, mely bizonyítottan csökkenti a kardiovaszkuláris rizikót és halálozást [56]. Az ASA a nem-szteroid gyulladáscsökkentők (NSAID) csoportjába tartozó nonszelektív ciklooxygenáz gátló, mely mindkét COX-izoenzimet gátolja, azonban kevésbé szelektív a COX-2 irányába [59]. Számos korábbi tanulmány igazolta, hogy a COX-1 konstitutívan expresszálódik a legtöbb szövetben, különösen a trombocitákban, míg a COX-2 főként gyulladás hatására indukálható

enzim [59,60,61]. Az ASA irreverzibilisen acetilálja a COX enzimet, így gátolva a TXA₂ képzését. Alacsonyabb dózistartományban - az Amerikai Kardiológiai Társaság (AHA) 2006-os ajánlása szerint napi 75-325 mg [62] - hatékonyan gátolja a trombocita aggregációt a vérlemezkék teljes élettartama alatt. Az ASA magas dózisu adagolása, azaz 500 mg felett, hatékony fájdalom-, láz-, és gyulladáscsökkentő hatással bír [61]. Primer és szekunder prevencióban az ASA-t alacsony dózisban ajánlott használni (75-150 mg), mivel a dózisemelés a hatékonyságot nem növeli, míg a gasztrointesztinális vérzések száma jelentősen növekszik [63]. Akut koronária szindrómában (ACS) a diagnózis igazolása után minél előbb ASA-t kell adni a betegnek, P2Y₁₂ receptor gátlóval együtt. Az ASA ajánlott dózisa ACS-ban 150-325 mg gyorsan felszívódó formában [64,65], melyet elrágva és lenyelve gyorsan és hatékonyan gátolja a trombocita aggregációt, habár egyes esetekben aszpirin rezisztenciával kell számolnunk [66]. Számos vizsgálat azt mutatta, hogy a betegek egy részénél a hosszútávú ASA kezeléssel szemben rezisztencia alakulhat ki [67]. A rezisztencia aránya rendkívül eltérő az egyes közleményekben, azonban klinikai jelentősége bizonyított, a laboratóriumi módszerekkel kimutatott aszpirin rezisztens betegekben szignifikánsan nagyobb a trombotikus események előfordulásának valószínűsége [68,69,70].

1.3. Non-aszpirin nem-szteroid gyulladáscsökkentők (NANSAID-ok)

Különböző non-aszpirin NSAID-oknak is vizsgálták a trombocita aggregáció gátló hatását. A NANSAID-ok reverzibilisen gátolják a COX-1 enzimet, így átmeneti trombocita aggregáció gátlást okoznak, azonban különböző epidemiológiai vizsgálatok nem tudták bizonyítani a hosszútávon szedett NANSAID-ok kardiovaszkuláris rizikócsökkentő hatását [71,72,73]. A vizsgálatok alapján felmerült azonban, hogy a NANSAID-ok kedvezőtlenül befolyásolhatják az ASA tct aggregáció gátló hatását a COX-enzimen fellépő lehetséges interakciók miatt. Capone és munkatársai szemléltették, hogy a naproxen gátolja az ASA trombocita aggregáció gátló hatását *in vitro*, de a két szer között kompetitív interakciót *in vivo* kimutatni nem tudták, mert a naproxen is gátolja a TXA₂ szintézist [74]. Ouellet és munkatársai megmutatták a coxibok és az ASA közötti interakciót, mely a COX-1 izoenzimmel való szelektivitással korrelált *in vitro* [75]. Catella-Lawson és szerzőtársai pedig felfedték, hogy az ibuprofen csökkenti az ASA trombocita aggregációt gátló hatását, amennyiben 2 órával az ASA előtt adták egészséges önkénteseknek; ezzel szemben a rofecoxib, acetaminofen és diklofenák nem befolyásolja az ASA hatását [76]. Különböző nagy kohort vizsgálatok és retrospektív analízisek eredményei ellentmondásosak. Garcia

Rodriguez [73] és munkatársai egy nagy kohort vizsgálatban klinikailag nem tudták bizonyítani a NNSAID-ok kedvezőtlen hatását az ASA trombotocita aggregáció gátló hatására, azonban egy másik kutatócsoport szerint a szelektív COX-2 gátlók minden dózisban, a nemszelektív NSAID-ok pedig magas dózisban növelték a mortalitást posztinfarktusos betegekben [77]. Az Európai Kardiológus Társaság „III”-as osztályú, „C” evidencia szintű ajánlása szerint ASA szedő betegekben kerülendő NSAID-ok adása, mely növelheti az iszkémiás események előfordulását [65].

1.4. Metamizol

A MET pirazolonszármazék, mely a többi NSAID-tól kissé eltér, viszonylag alacsony gasztrointesztinális toxicitása és feltételezett COX-független analgetikus hatása miatt. Erős fájdalom- és lázcsillapító gyógyszer, gyulladáscsökkentő hatása azonban enyhe [60,78]. Orálisan és parenterálisan egyaránt alkalmazható. Szájon keresztüli adagolás esetén a MET nem detektálható a szérumban, intravénás alkalmazás esetén azonban még körülbelül 15 percig mérhető [79]. A metamizol egy prodrug, mely gyorsan a farmakológiai szempontból legfontosabb metabolitjává, 4-metilaminoantipirinné (MAA) hidrolizál, mely ezután további metabolitokká alakul, mint pl. a 4-formilaminoantipirin, 4-aminoantipirin és a 4-acetilaminoantipirin. *In vitro* [60,80] és *in vivo* [78] vizsgálatokban is kimutatták, hogy a MET és metabolitjai gátolják mindkét COX-izoenzimet. A MET trombotocita aggregáció gátló hatását már többen leírták [81,82,83], azonban ilyen alkalmazásban nem használjuk, a klinikumban megmaradt láz- és fájdalomcsillapító gyógyszernek.

2. Módszerek

2.1. *In vitro* vizsgálatok

2.1.1. Anyagok és vérvételek

Vizsgálatainkhoz a Sigma-Aldrich által forgalmazott acetilszalicilsavat és metamizolt (Dipyron hydrate) használtuk, melyeket 0,9%-os fiziológiás sóoldatban hígítottuk. A MET vízben való oldódása során hidrolizál, ezért a vizsgált MET oldatok számos pirazon derivátum elegyéből állnak [84].

A vizsgálatban való részvétel előtt az egészséges önkéntesek beleegyező nyilatkozatot írtak alá. A donorok a vérvétel előtti 10 napban nem szedtek be trombotocita aggregációt

befolyásoló gyógyszereket. 10 egészséges önkéntestől vettünk vért könyökvénából, 21 G-s szárnystűvel, minimális strangulációt alkalmazva, Na-citrátot tartalmazó Vacutainer mintavételi csövekbe.

Az *in vitro* vizsgálatok első felében a két gyógyszer trombocita aggregáció gátló hatását hasonítottuk össze, különböző koncentrációjú ASA és MET oldatok (6, 12 és 25 µg/ml végső koncentráció) vérhez adásával.

A kísérletek második felében a két gyógyszer közti lehetséges interakciókat vizsgáltuk úgy, hogy alacsony koncentrációjú MET oldatot (1 µg/ml végső koncentráció), majd 15 perccel később alacsony koncentrációjú ASA oldatot (2 µg/ml végső koncentráció) adtunk a vérhez. Az interakció kompetitív voltának tanulmányozásához növeltük a MET-hoz adott ASA oldat koncentrációját, illetve az ASA-t adtunk 15 perccel a MET előtt a vérhez. Az összes mintát 37 °C-on 1 óráig inkubáltuk.

2.1.2. Trombocita aggregációs mérések

A trombocita aggregációs méréseket az előző vizsgálatnál részletezett módon végeztük.

2.2. *In vivo* vizsgálat

2.2.1. Egészséges önkéntesek

A kutatást a Regionális Kutatásetikai Bizottság engedélyezte (engedély szám: 4104). 20 egészséges, nem-dohányzó férfi vett részt a tanulmányban, az átlagéletkor $24,2 \pm 2,6$ év volt, a testtömeg-index normál határon belül mozgott ($24,6 \pm 3,5$ kg/m²). A vizsgálatban való részvétel előtt minden önkéntes beleegyező nyilatkozatot írt alá, majd anamnézis felvétel, fizikális vizsgálat és rutin laboratóriumi vizsgálat történt. Kizárásra kerültek azon személyek, akiknél vérzési zavar, anémia, hipotónia (szisztolés vérnyomás <90 Hgmm) vagy bármely gyógyszerrel szembeni allergia merült fel. Szintén kizárásra kerültek azok, akik a vizsgálat kezdete előtti 10 napban trombocita aggregációt befolyásoló gyógyszereket szedtek be.

2.2.2. Vérvételek

A crossover vizsgálatban 3 csoportra osztottuk az önkénteseket. A vizsgálati alanyoknak 21 G-s belső átmérőjű kanült helyeztünk be az alkari vénájukba, ahonnan az alap

vérvétel megtörtént. Az *első csoportban* 1 ampulla 1g/2 ml MET (metamizol-nátrium) intravénás beadása történt (a szokásos intravénás vagy intramuszkuláris dózis fájdalom- és lázcsillapítás esetén), a *második csoportban* fél tablettát 500 mg-os (250 mg) gyorsan felszívódó ASA-t rágtak el és nyeltek le 1 dl vízzel az önkéntesek, a *harmadik csoportban* pedig per os ASA és intravénás MET egy időben történő adására került sor. További vérvételek történtek a gyógyszer bejuttatásától számított 7 perc, 15 perc, 30 perc, 1 óra és 4 óra múlva, majd a kanül eltávolításra került. A 24 és 72 órás mintákat könyökvénából nyertük 21 G-s szárnyastűvel, minimális strangulációt alkalmazva. Minden alkalommal 2x4,5 ml vért vettünk Na-citrátot tartalmazó vérvételi csövekbe. A kanülből történő mintavétel előtt 1 ml vért leszívtunk és ez eldobásra került. A csoportokat kétszer megcseréltük 18±4 nap kimosási periódus után, majd ugyanezt a protokollt alkalmaztuk.

2.2.3. Trombocita aggregációs mérések

A trombocita aggregációs méréseket az előző vizsgálatnál részletezett módon végeztük.

2.2.4. Statisztikai módszerek

Az adatokat *átlag ± S.E.M.* formában tüntettük fel. A kapott eredményeket egy- és kétmintás Student t-próbával értékeltük. Az eltéréseket szignifikánsnak vettük $p < 0,05$ értéknél.

Az egészséges önkénteseknek adott szerek trombocita aggregáció gátló hatása kialakulásának és megszűnésének időbeli vizsgálatához egy származtatott mennyiséget, az IPA-t (trombocita aggregáció gátlás = inhibition of platelet aggregation) használtuk, melyet az optikai aggregométerrel mért maximális aggregációs indexekből számíthatunk ki az alábbi módon: $IPA (\%) = 100 \times (\text{kezelés előtti aggregációs index} - \text{kezelés utáni aggregációs index}) / \text{kezelés előtti aggregációs index}$ [85,86].

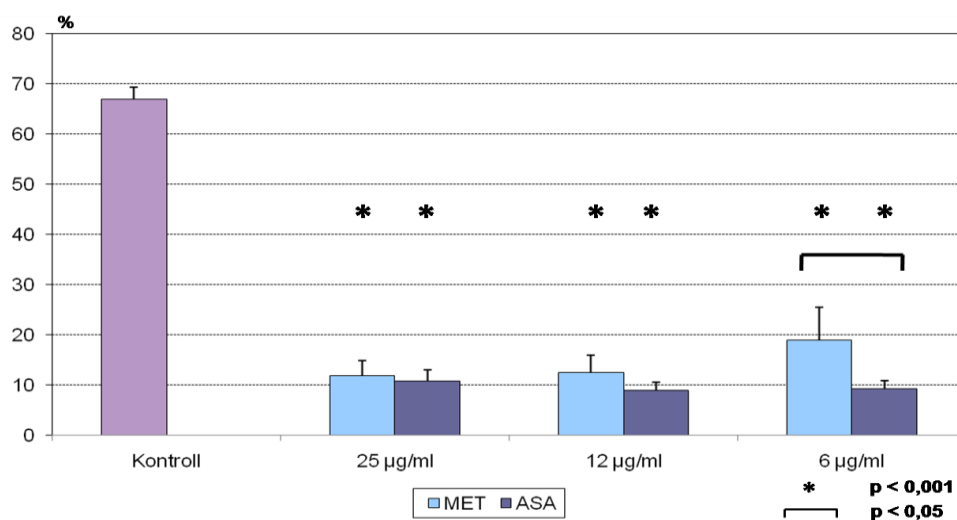
Az egyes önkénteseknél minden mérési időpontban kiszámoltuk az IPA értékeket, és azokat átlagoltuk. Az IPA időfüggésének leírásához feltételeztük, hogy a hatás kialakulása egy jellegzetes haranggörbének (Gauss-függvény) felel meg, míg a hatás megszűnése egy exponenciálisan lecsengő függvény. Ezen két függvény konvolúciójában (együttes integrális megjelenés) szereplő paramétereket egy saját készítésű approximációs eljárást alkalmazó programmal határoztuk meg. Ennek lényege, hogy a modell és a valós mért adatok közti

eltérést jellemző maradékszórást a függvény paramétereinek szimultán változtatásával és a változtatás mértékének fokozatos csökkentésével minimalizálja. E függvény paramétereit fizikailag is jól értelmezhetők: a Gauss függvény három, egymástól független paramétere a harang-görbe **A** amplitúdója, időbeli szélességét jellemző σ és a csúcs időpontját jellemző t_0 , míg az exponenciális elimináció sebességét a τ időállandó reprezentálja.

3. Eredmények

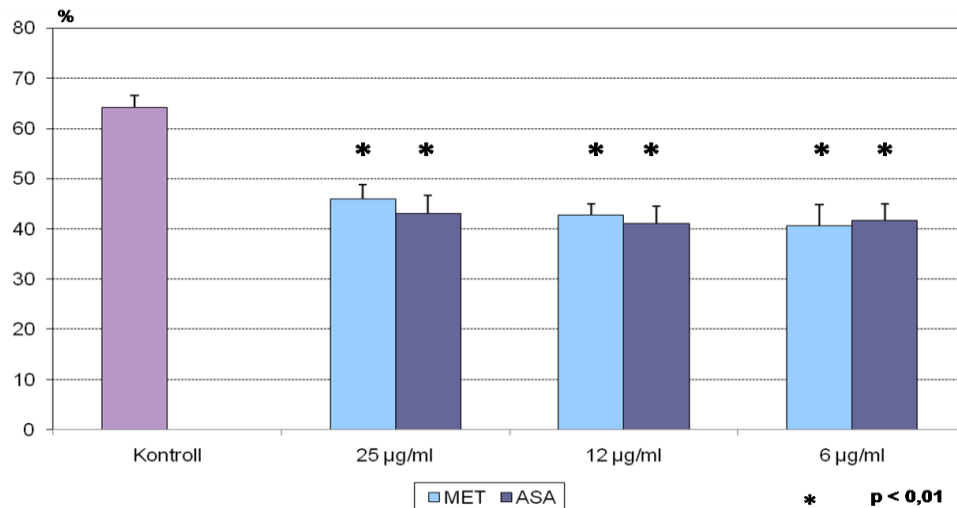
3.1. *In vitro* vizsgálatok

In vitro vizsgálataink első részében megfigyeltük, hogy az ASA és MET mindegyik vizsgált koncentrációban komplett adrenalin-indukálta trombocita aggregáció gátlást okozott. A gátlás mértékében szignifikáns különbség nem volt a 25 és 12 $\mu\text{g/ml}$ -es koncentráció esetén, azonban 6 $\mu\text{g/ml}$ ASA szignifikánsan jobban csökkentette a trombocita aggregációt, mint 6 $\mu\text{g/ml}$ MET (17. ábra).



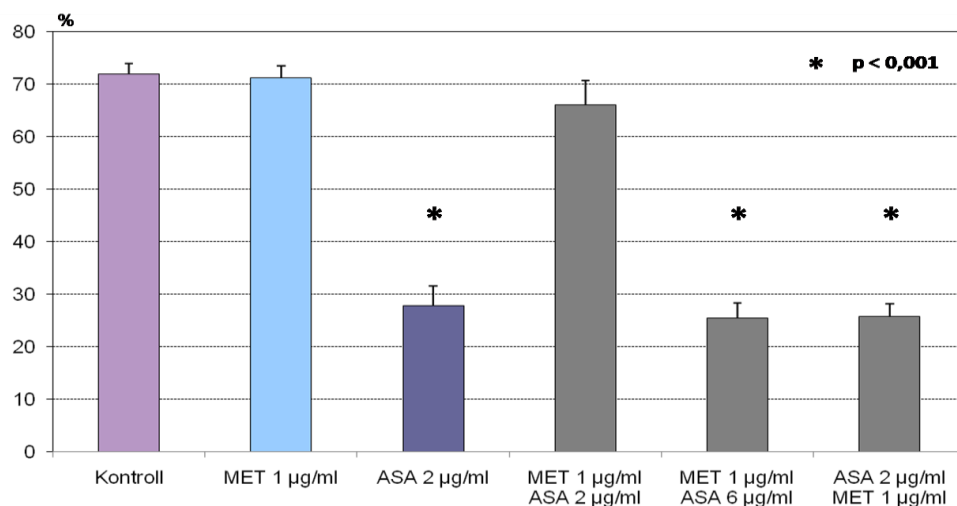
17. ábra: Adrenalin-indukálta trombocita aggregáció. MET és ASA *in vitro* összehasonlítása. (* = szignifikáns eltérés az kezeletlen kontrollhoz képest, \lrcorner = szignifikáns különbség a két csoport között)

Az ADP-indukálta trombocita aggregáció minden koncentrációban szignifikánsan alacsonyabb volt a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva és a két gyógyszer között különbség nem volt (18. ábra).



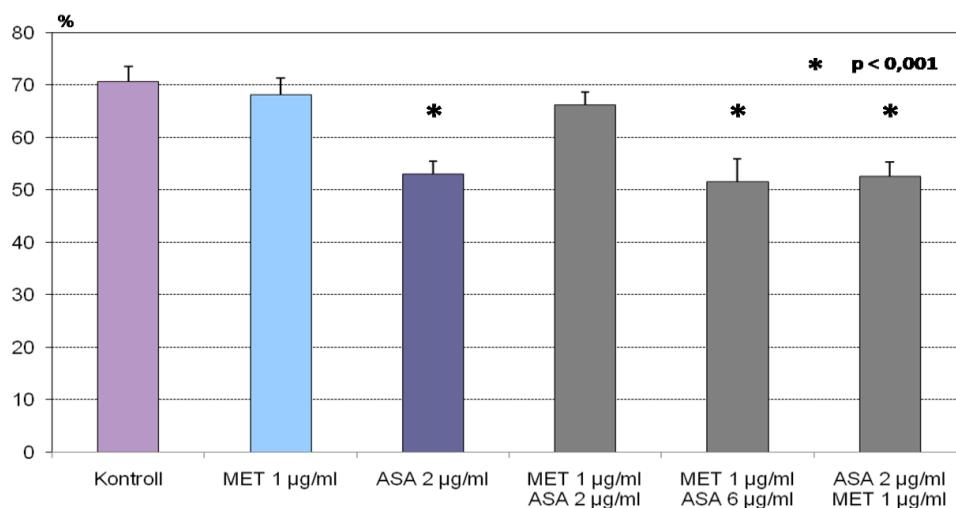
18. ábra: ADP-indukálta trombocita aggregáció. MET és ASA *in vitro* összehasonlítása. (* = szignifikáns eltérés a kezeletlen kontrollhoz képest)

In vitro vizsgálataink második felében az ASA és MET közti lehetséges interakciókat vizsgáltuk. Előzetes méréseink alapján 2 µg/ml ASA hatékony gátlást okozott az adrenalin-indukálta trombocita aggregációban, míg 1 µg/ml MET esetén gátlást nem tapasztaltunk. Ha a vérhez MET-t adtunk 15 perccel az ASA adása előtt, az adrenalin-indukálta trombocita aggregáció nem különbözött a kezeletlen kontrolltól. Ellenben, ha az ASA adása történt először, az adrenalin-indukálta trombocita aggregáció gátlás ismét kialakult. Ugyanezt tapasztaltuk, ha az ASA koncentrációját megemeltük (19. ábra).



19 ábra: A MET és ASA *in vitro* együttes adásának hatása az adrenalin-indukálta trombocita aggregációra. (* = szignifikáns eltérés a kezeletlen kontrollhoz képest)

Az ADP-indukálta trombocita aggregáció esetén szintén alacsonyabb értékeket kaptunk a kezeletlen kontrollhoz képest, amikor az ASA-t a MET előtt adtuk a vérhez, illetve magasabb ASA koncentráció esetén. Szintén az ASA gátló hatásának csökkenését tapasztaltuk, ha a hatástalan koncentrációjú MET oldatot adtuk először a vérhez (20. ábra).



20. ábra: A MET és ASA *in vitro* együttes adásának hatása az ADP-indukálta trombocita aggregációra. (* = szignifikáns eltérés a kezeletlen kontrollhoz képest)

3.2. *In vivo* vizsgálat

Egy személy kizárásra került a vizsgálatból erős fejfájás miatti NSAID szedés miatt. A többi önkéntes protokoll szerint fejezte be a tanulmányt. Nem kívánt esemény a vizsgálat során nem történt.

3.2.1. Adrenalin-indukálta trombocita aggregáció

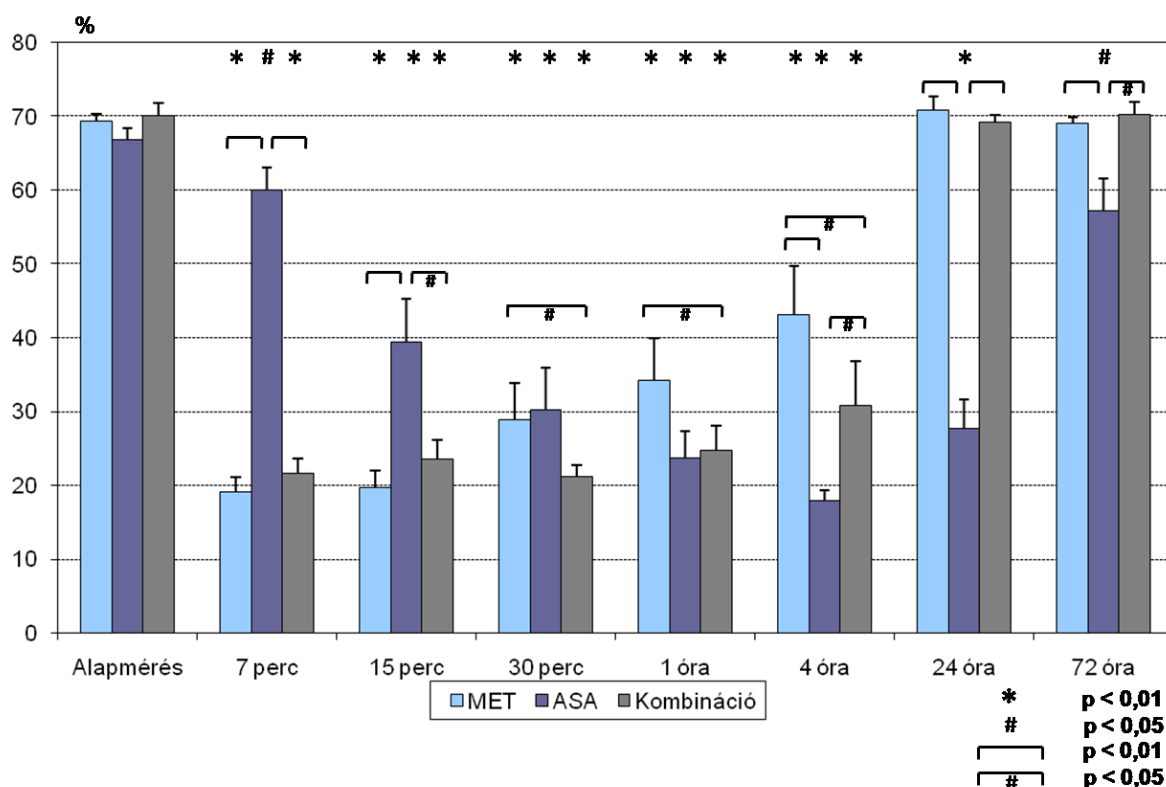
Az alap adrenalin-indukálta trombocita aggregációban nem volt különbség a 3 csoport között.

A MET csoportban, ahol a MET-t egy dózisban, intravénásan adagoltuk az önkénteseknek, már 7 perc alatt komplett gátlás alakult ki. Ezután az aggregációs indexek enyhén emelkedni kezdtek, de a 4 órás mérésnél még mindig szignifikánsan alacsonyabbak voltak az alapméréshez képest. A 24 órás mintáknál az alapméréssel megegyező értékeket kaptunk.

Az ASA szájon át történő adásakor a trombocita aggregáció lassan csökkent és átlag 4 óránál érte el a gátlás maximumát. A MET csoporttal összehasonlítva az aggregációs indexek

szignifikánsan nagyobbak voltak 7 és 15 percnél. Az ASA okozta gátlás még 24 óránál is nagymértékű volt, illetve 72 óránál is szignifikánsan alacsonyabb aggregációs indexeket kaptunk a kiinduláshoz viszonyítva.

A kombinált terápia estén rapid gátlás kifejlődését láttuk, hasonlóan a MET csoporthoz. Az aggregációs indexek alacsonyak maradtak az első órában. A gátlás még a 4 órás mintákban is hatékony volt, hatékonyabb, mint a MET csoportban, de kevésbé volt hatékony, mint az ASA szedőknél. 24 óra után trombocita aggregáció gátlást nem tapasztaltunk (21. ábra).

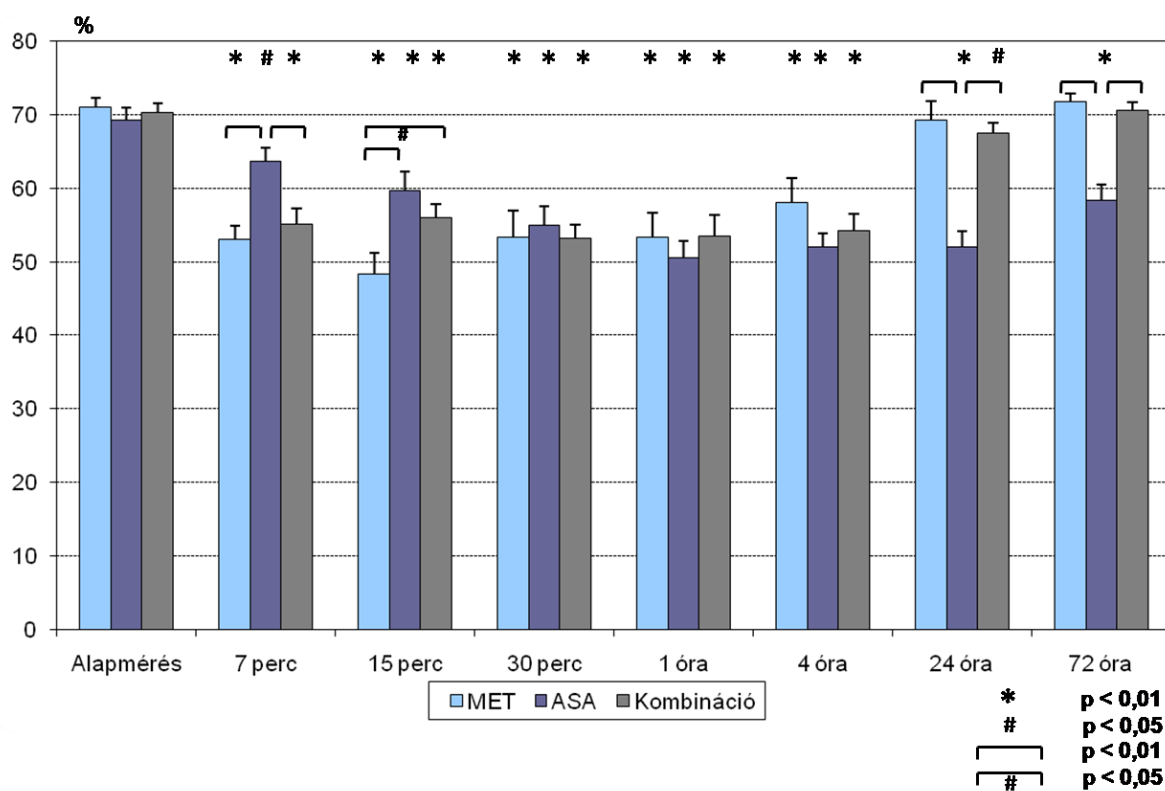


21. ábra: Az aggregációs indexek változása adrenalin induktor használata esetén az *in vivo* vizsgálatban. (*, # = szignifikáns eltérés az alapméréshez képest; [], [#] = szignifikáns különbség a csoportok között)

3.2.2. ADP-indukálta trombocita aggregáció

Az ADP-indukálta trombocita aggregáció hasonló kinetikát mutatott, mint az adrenalin-indukálta trombocita aggregáció, azonban a változások enyhébbek voltak. A legnagyobb gátlást a MET csoportban, a 15 perces mintáknál tapasztaltuk. Nem volt különbség a csoportok közt 30 percnél, 1 és 4 óránál. A 24 és 72 órás mintavételnél csak az

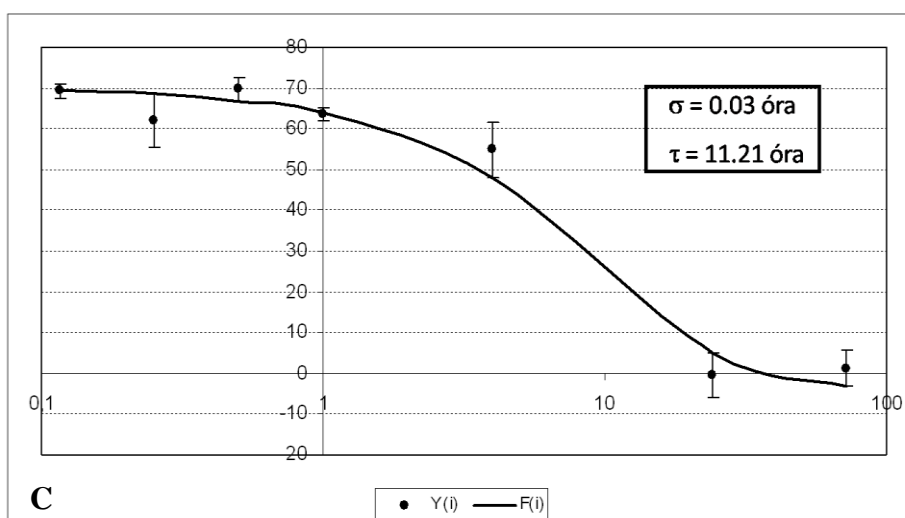
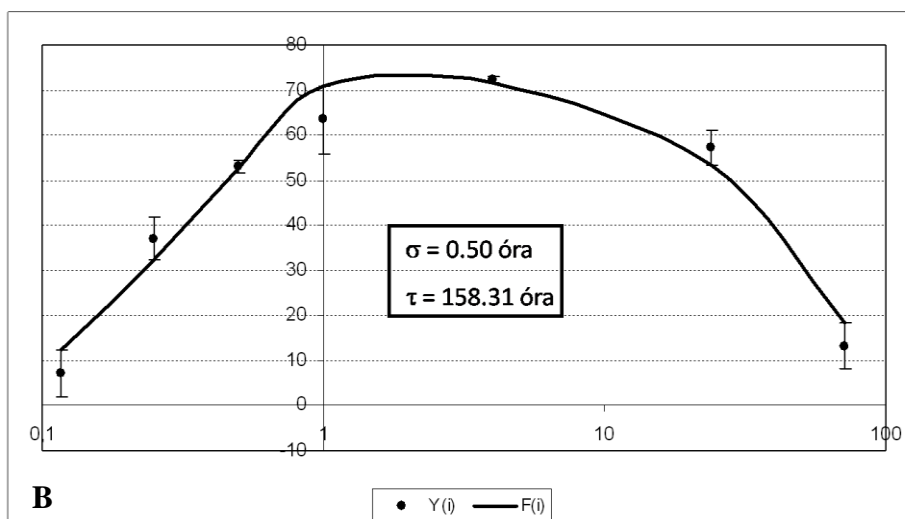
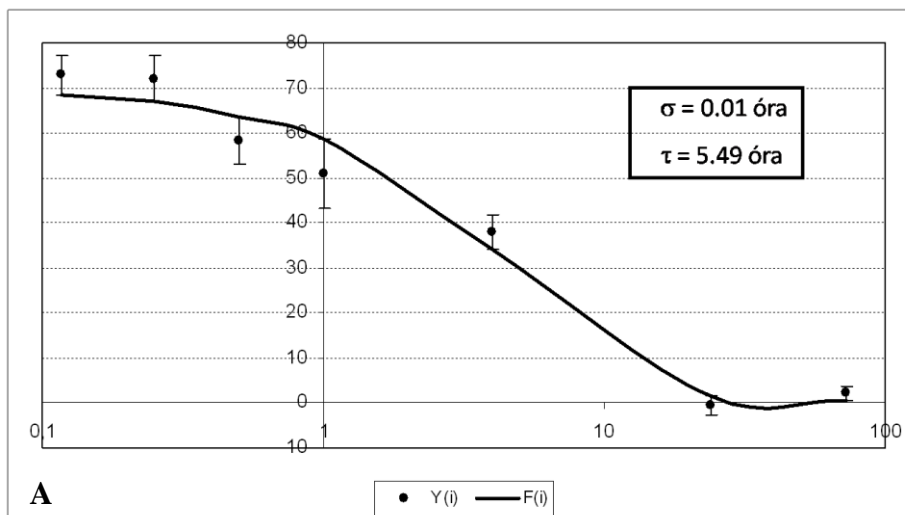
ASA csoportban volt az alapméréshez képest szignifikánsan csökkent trombecita aggregáció (22. ábra).



22. ábra: Az aggregációs indexek változása ADP induktor használata esetén az *in vivo* vizsgálatban. (*, # = szignifikáns eltérés az alapméréshez képest; [], [#] = szignifikáns különbség a csoportok között)

3.2.3. AZ IPA időfüggésének leírása

Az IPA időfüggése mindkét induktor esetében hasonlóan alakult, mivel azonban az adrenalin induktornál a változások reprezentatívabbak voltak, ezért az ADP induktor nem kerül itt leírásra. A MET csoportban a függvény jellemző időadatai az IPA gyors kezdetére utalnak ($\sigma = 0,01$ óra), és az IPA megszűnése is gyors ($\tau = 5,49$ óra). Az orálisan alkalmazott ASA esetén a felszívódás miatt a hatás kialakulásának időadatai is nagyságrenddel nagyobbak bizonyultak ($\sigma = 0,50$ óra) és a hatás lecsengése is jelentősen lassabb ($\tau = 158,31$ óra). Kombinált terápia esetén a függvény paraméterei ($\sigma = 0,03$ óra, $\tau = 11,21$ óra) jelentősen közelebb álltak a MET csoporthoz (23. ábra).



23. ábra: Az IPA időfüggése logaritmusos skálán ábrázolva. A: intravénás MET adás után, B: szájon át adott ASA esetén, C: a két gyógyszer együttes adásakor.

4. Diszkusszió

In vitro vizsgálataink első részében igazoltuk, hogy a MET hatékonyan gátolja a trombocita aggregációt, ahogyan ezt már mások is megfigyelték [81]. Előzetes vizsgálatainkban magasabb, analgetikus dózisokban is összehasonlítottuk az ASA és MET trombocita aggregáció gátló hatását, melyben különbséget nem találtunk (az adatokat nem tüntettük fel), akárcsak a 25 és 12 µg/ml-es koncentrációknál. Habár 6 µg/ml ASA hatékonyabb gátlást biztosított, az adrenalin-indukálta trombocita aggregáció mindkét esetben komplett gátlást mutatott.

A fiziológias trombocita aktivációért és aggregációért két fő szignáltranszdukciós út felelős: (1) a COX-1 enzim aktivációja adrenallinnal és/vagy egyéb más induktorokkal (arachidonsav, kollagén), melyet az ASA és más NSAID-ok gátolnak; (2) a P2Y₁₂ receptorokon keresztüli aktiváció, melyet receptoriális szinten a tienopiridinek blokkolnak [57]. Az aktivált trombociták degranulációja során mindkét jelátviteli út induktori felszabadulnak és a trombocita aggregáció és aktiváció amplifikációját okozzák. *In vivo* mindkét útvonal fontos szerepet játszik. Az *ex vivo* trombocita aggregációs méréseknél azonban az egyik induktort szupernormális koncentrációban alkalmazzuk, így az egyik útvonal domináns lesz a másik felett. Ezen szignáltranszdukciós út inhibitora esetén a gátlás kifejezettebb lesz. A másik amplifikációs folyamat kisebb mértékű aggregációhoz vezet, így a másik útvonal gátlása egy kisebb, de még detektálható aggregáció változást okoz. Nem meglepő tehát, hogy kísérleteink során az ADP-indukálta trombocita aggregáció (melyet a tienopiridinek hatásának monitorozására használunk) szintén gátlást mutatott.

In vitro vizsgálataink második részében a két hatóanyag közti interakciókat vizsgáltuk, hatékony ASA és hatástalan MET koncentrációkat használva, 3 lépésben: (1) ha a MET-t az ASA előtt adtuk a vérhez, az akadályozta az ASA trombocita aggregáció gátló hatásának a kialakulását, mely gátló hatás teljesen kialakult, (2) amikor nagyobb koncentrációjú ASA-t használtunk, (3) vagy amikor az ASA-t adtuk előbb a vérhez. Kísérleteink a két gyógyszer között kompetitív interakciót sejtetnek.

Eredményeinkkel megegyezően Hohfeld és munkatársai megmutatták, hogy a MAA és a MET más metabolitjai nagyon alacsony koncentrációkban alkalmazva, koncentrációfüggően gátolják vagy teljesen megakadályozzák az ASA trombocita aggregáció gátló hatásának a kifejlődését. A jelenséget molekuláris szinten az alábbival magyarázták: a MAA a COX-1 enzim 3 aminosavával kötést létesít, ezáltal elfoglalja az ASA kötőhelyét és

megakadályozza, hogy az irreverzibilisen acetilálja a COX-1 enzim 530-as szerin aminosavát [87].

In vivo vizsgálataink eredményei alapján 1 g/2 ml intravénásan adott MET hatékonyan gátolja a trombocita aggregációt. Az aggregáció gátlást már mások is megfigyelték különböző betegcsoportoknál, mint például subarachnoideális vérzés vagy menisectomia után [82,83]. A hatás kialakulása gyors volt, az intravénás adásnak köszönhetően. Az adrenalin-indukálta trombocita aggregáció maximális gátlása már 7 perc után kialakult és megegyező volt az ASA által elért maximális gátlás mértékével, mely csak 4 óra után volt látható. Más szerzők kimutatták, hogy a MET és metabolitjai gátolják a COX-1 enzimet és ezzel akadályozzák a trombociták TXA₂ termelését és aggregációját [60,78,81]. A hatás reverzibilis, melyet az IPA hatás gyors megszűnése és a 24. órára megszűnő gátlás támaszt alá. Az ASA csoportban az orális adagolás miatt a hatás kezdete egy nagyságrenddel nagyobb volt, akárcsak a hatás lecsengése az irreverzibilis gátlás miatt.

A két gyógyszer kombinált adásakor az IPA időfüggése a MET csoporthoz volt hasonló, mert a MET intravénás adásmódja miatt gyorsan kialakul a COX-1 enzim reverzibilis gátlása. Mivel az ASA felezési ideje rövid (kb. 20-30 perc) [88], már a 4. órára lényegében teljesen elbomlik a szer. Az ASA aggregáció gátló hatása tehát annak a függvénye, hogy a keringésbe való bejutás utáni korai szakaszban milyen mértékben tudja acetilálni a COX-1 enzimet. Feltehetően ezért kaptunk a 30 perces, 1 és 4 órás mintáknál szignifikánsan alacsonyabb adrenalin-indukálta trombocita aggregáció gátlást a kombinált terápiát kapóknál, mint a MET csoportban. 24 óra után a kombinált gyógyszert kapó csoportban nem láttunk aggregáció gátlást. Feltehetően a metamizol gyorsabb hatásbeállása miatt elfoglalta a COX-1 enzimet a vérlemezékben, emiatt az ASA hatását jelentősen legyengítette. Ez azonban csak a késői fázisban válik nyilvánvalóvá, amikor a MET saját aggregációgátló hatása már elmúlt. A MET tehát kettős hatást produkál: saját aggregációgátló hatás + ASA-val kompetitív hatás. Elméleti megfontolás alapján minden időpontban e kettő eredője szabja meg a kombináció aggregációgátló hatását.

A trombocita aggregáció gátló gyógyszeres kezelésnek központi szerepe van az akut kardiovaszkuláris események kezelésében. Az akut koronária szindróma egy gyakori, életet veszélyeztető állapot, a kezelés során azonnali ASA adásra van szükség, mely csökkenti a betegség mortalitását [89]. Akut koronária szindrómában az ASA ajánlott dózisa 150-325 mg, gyorsan felszívódó formában, összerágva és lenyelve, mely növeli az abszorpció gyorsaságát [90]. Az ASA adásának kontraindikációi lehetnek, mint pl. a hiperszenzitivitás, aktív gasztrointesztinális vérzés, ismert véralvadási zavar vagy súlyos májbetegség. Bizonyos

esetekben az ASA nem adható szájon át (pl. eszméletlenség, hányás, aspiráció veszély), és az aszpirin rezisztencia kérdésével is számolnunk kell. Feltételezésünk szerint azokban az esetekben, ahol akut koronária szindrómában ASA szájon keresztül nem adható, szóba jöhet intravénás MET adása.

A NANSOID-ok széleskörben, gyakran használt fájdalomcsillapító, lázcsillapító és gyulladáscsökkentő gyógyszerek, melyeket sok ASA-t szedő beteg is használ, ezért számos *in vivo* és *in vitro* kutatás történt a köztük lévő interakciók felderítésére. Habár a klinikai vizsgálatok eredményei ellentmondásosak [73,76,91], az ASA és egyéb NSAID-ok együttes adásakor körültekintéssel kell eljárunk [65]. Az ASA és a MET együttes használatának tanulmányozására nagy klinikai vizsgálatot még nem végeztek. *In vitro* kísérleteink alapján a MET csökkenteni tudja az ASA hatását, ha alacsony, hatástalan dózisban adjuk. *In vivo* vizsgálatainkban ez az interakció csak 24 óra után volt látható. További tanulmányok szükségesek azonban a hosszú-távú ASA kezelés és a MET közti klinikailag jelentős lehetséges interakciók tisztázására.

5. Összefoglalás

A metamizol szignifikánsan csökkenti a trombocita aggregációt. A gátlás reverzibilis és a hatás megszűnése gyors, ezért hosszú távú trombocita aggregáció gátlásra nem alkalmazható. Intravénás alkalmazás esetén a teljes gátlás gyorsan kialakul, ami előny lehet az akut kardiovaszkuláris események kezelésénél. *In vivo* vizsgálatunk alapján az intravénásan adott MET terápiás alternatívaként megfontolható akut koronária szindrómában, amikor az ASA orális adása nem lehetséges. Az ACS revaszkularizációs terápiájában a „golden hour” szerepe széles körben ismert. Mivel a MET intravénás alkalmazásakor prompt trombocita aggregáció gátlás alakul ki, szemben az ASA-val, ezért a MET növelheti a revaszkularizáció sikerességét. A két szer együttes adása ACS-ban szintén megfontolható, de további vizsgálatok szükségesek a köztük lévő interakciók részletesebb vizsgálatára. Természetesen a hipotézisünk klinikai jelentőségének igazolásához randomizált klinikai vizsgálatokra van szükség.

VII. Új eredmények

Tanulmányaink az alábbi új eredményekre vezettek:

1. A CABG műtétek alatt a hemoreológiai paraméterek jelentősen változnak.
2. Megmutattuk, hogy az on-pump műtétek 20. és 40. percében vett mintáknál szignifikánsan alacsonyabbak a hematokrit, plazma és teljes vér viszkozitás és vörösvérsejt aggregációs értékek, a vörösvérsejt filterabilitás pedig szignifikánsan romlik az off-pump műtétekhez képest.
3. A scanning elektronmikroszkópos képek, vvs deformabilitás és aggregációs eredmények alapján igazoltuk a kardiopulmonális bypass mechanikai károsító hatását a vvs-ekre.
4. Trombocita aggregációs eredményeink azt mutatják, hogy a CPB a trombociták mechanikai károsodását is okozza.
5. Megmutattuk, hogy a két műtétípus között a hosszútávú uánkövetés során a hemoreológiai paraméterekben lévő különbségek eltűnnek.
6. A metamizol és acetilszalicilsav trombocita aggregáció gátló hatásának *in vitro* vizsgálata során bemutattuk, hogy a metamizol trombocita aggregáció gátló hatása nagyban nem tér el az acetilszalicilsav gátló hatásától.
7. Megmutattuk, hogy az alacsony, hatástalan dózisban alkalmazott MET akadályozza az ASA trombocita aggregáció gátló hatásának kifejlődését. Igazoltuk az interakció kompetitív voltát.
8. *In vivo* vizsgálatainkban igazoltuk, hogy az intravénásan adott MET-nak gyorsan kialakuló, teljes trombocita aggregáció gátló hatása van, mely terápiás alternatívaként megfontolható akut koronária szindrómában, amikor ASA adása kontraindikált.
9. Intravénás MET és per os ASA adása után a két szer között jelentős interakciót csak 24 óra után tapasztaltunk.

VIII. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Tóth Kálmánnak, program- és témavezetőmnek, valamint Dr. Mezősi Emese társtémavezetőmnek, iránymutatásukért és támogatásukért a kutatómunkámban.

Köszönöm a PTE KK Szívgyógyászati Klinika munkatársainak, Dr. Kiss Rudolfnak, Dr. Korontai Ritának, Dr. Lénárd Lászlónak és a klinika igazgatójának, Dr. Szabados Sándornak a munkámban nyújtott segítséget.

Köszönettel tartozom a PTE ÁOK Kóréletani és Gerontológiai Intézet Ph.D. hallgatóinak, Dr. Vámos Zoltánnak, Dr. Cséplő Péternek és az intézet vezetőjének, Prof. Dr. Koller Ákosnak, hasznos ötleteikért és megvalósításukban nyújtott segítségükért.

Köszönöm Dolgos Bélának, Lórándné Mисley Juditnak és Prof. Dr. Seress Lászlónak az elektronmikroszkópos képek elkészítésében nyújtott segítséget.

Köszönöm munkatársaimnak, Dr. Juricskay Istvánnak, Dr. Késmárky Gábornak, Dr. Sándor Barbarának, Dr. Rábai Miklósnak, Dr. Kenyeres Péternek, Dr. Tóth Andrásnak és Tapasztóné Fazekas Kornéliának a sok hasznos ötletet, segítséget és az együtt töltött felejthetetlen, vidám perceket.

Végezetül köszönettel tartozom a családomnak a kifogyhatatlan szeretetükért és támogatásukért.

A kutatási témákat a TÁMOP 4.2.1.B-10/21/KONV-2010-0002 támogatta.

IX. Irodalomjegyzék

- [1] Kannel WB, D'Agostino RB, Belanger AJ: Fibrinogen, cigarette smoking, and risk of cardiovascular disease: insights from the Framingham study. *Am Heart J*, 113, 1006-1010, 1987.
- [2] Lowe GDO, Smith WCS, Tunstall-Pedoe HD, Crombie IK, Lennie SE, Anderson J: Cardiovascular risk and haemorheology - Results from the Scottish Heart Health Study and the MONICA Project, Glasgow. *Clin Hemorheol*, 8, 517-524, 1988.
- [3] Yarnell JW, Baker IA, Sweetnam PM, Bainton D, O'Brien JR, Whitehead PJ: Fibrinogen, viscosity, and white cell count are major risk factors for ischemic heart disease. The Caerphilly and Speedwell collaborative heart disease studies. *Circulation*, 83, 836-844, 1991.
- [4] Kesmarky G, Toth K, Habon L, Vajda G, Juricskay I: Hemorheological parameters in coronary artery disease. *Clin Hemorheol Microcirc*, 18, 245-251, 1998.
- [5] Toth K, Kesmarky G: Clinical Significance of Hemorheological Alterations. In: Handbook of Hemorheology and Hemodynamics. Eds.: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ. *IOS Press*, 392-432, 2007.
- [6] Kensey KR: The mechanistic relationships between hemorheological characteristics and cardiovascular disease. *Curr Med Res Opin*, 19, 587-596, 2003.
- [7] Cabel M, Meiselman HJ, Popel AS, Johnson PC: Contribution of red blood cell aggregation to venous vascular resistance in skeletal muscle. *Am J Physiol*, 41, 1020-1032, 1997.
- [8] Marton Zs, Horvath B, Alexy T, Kesmarky G, Gyevnar Zs, Czopf L, Habon T, Kovacs L, Papp E, Mezey B, Roth E, Juricskay I, Toth K: Follow-up of hemorheological parameters and platelet aggregation in patients with acute coronary syndromes. *Clin Hemorheol Microcirc*, 29, 81-94, 2003.
- [9] Szapary L, Horvath B, Marton Z, Alexy T, Demeter N, Szots M, Klabuzai A, Kesmarky G, Juricskay I, Gaal V, Czopf J, Toth K: Hemorheological disturbances in patients with chronic cerebrovascular diseases. *Clin Hemorheol Microcirc*, 31, 1-9, 2004.

- [10] Chong-Martinez B, Buchanan TA, Wenby R, Meiselman HJ: Decreased red blood cell aggregation subsequent to improved glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Med*, 20, 301-306, 2003.
- [11] Baskurt OK: Mechanisms of blood rheology alterations. In: Handbook of Hemorheology and Hemodynamics. Eds.: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ. *IOS Press*, 170-190, 2007.
- [12] Yusuf S, Zucker D, Peduzzi P, Fisher LD, Takaro T, Kennedy JW, Davis K, Killip T, Passamani E, Norris R, et al.: Effect of coronary artery bypass graft surgery on survival: overview of 10-year results from randomised trials by the Coronary Artery Bypass Graft Surgery Trialists Collaboration. *Lancet*, 27, 563-570, 1994.
- [13] Wijns W, Kolh P, Danchin N, Di Mario C, Falk V, Folliguet T, Garg S, Huber K, James S, Knuuti J et al.: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*, 31, 2501–2555, 2010.
- [14] Sabik JF III, Blackstone EH, Gillinov AM, Banbury MK, Smedira NG, Lytle BW: Influence of patient characteristics and arterial grafts on freedom from coronary reoperation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 131, 90–98, 2006.
- [15] Sergeant P, Blackstone E, Meyns B, Stockman B, Jashari R: First cardiological or cardiosurgical reintervention for ischemic heart disease after primary coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg*, 14, 480–487, 1998.
- [16] Sixth National Adult Cardiac Surgical Database Report 2008. Dendrite Clinical Systems, Henley-on-Thames, Oxfordshire, UK, 2008.
- [17] Haslam PL, Townsend PJ, Branthwaite MA: Complement activation during cardiopulmonary bypass. *Anaesthesia*, 35, 22-26, 1980.
- [18] Raja SG, Dreyfus GD: Current status of off-pump coronary artery bypass surgery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*, 16, 164-178, 2008.
- [19] Clark RE, Brillman J, Davis DA, Lovell MR, Price TR, Magovern GJ: Microemboli during coronary artery bypass grafting. Genesis and effect on outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 109, 249–257, 1995.
- [20] Kobayashi J: Current status of coronary artery bypass grafting. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 56, 260-267, 2008.

- [21] Gasz B, Benko L, Jancso G, Lantos J, Szanto Z, Alotti N, Roth E: Comparison of inflammatory response following coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Exp Clin Cardiol*, 9, 26-30, 2004.
- [22] Ascione R, Williams S, Lloyd CT, Sundaramoorthi T, Pitsis AA, Angelini GD: Reduced postoperative blood loss and transfusion requirement after beating-heart coronary operations: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 121, 689-696, 2001.
- [23] Ishida M, Kobayashi J, Tagusari O, Bando K, Niwaya K, Nakajima H, Kitamura S: Perioperative advantages of off-pump coronary artery bypass grafting, *Circ J*, 66, 795-799, 2002.
- [24] Lamy A, Devereaux PJ, Prabhakaran D, Taggart DP, Hu S, Paolasso E, Straka Z, Piegas LS, Akar AR, Jain AR, Noiseux N, Padmanabhan C, Bahamondes JC, Novick RJ, Vaijyanath P, Reddy S, Tao L, Olavegogeoascoechea PA, Airan B, Sulling TA, Whitlock RP, Ou Y, Ng J, Chrolavicius S, Yusuf S: Off-Pump or On-Pump Coronary-Artery Bypass Grafting at 30 Days. *N Engl J Med*, 366, 1489-1497, 2012.
- [25] Attaran S, Saleh HZ, Shaw M, Bond L, Pullan MD, Fabri BM: Comparing the outcome of on-pump vs. off-pump coronary artery bypass grafting in patients with preoperative atrial fibrillation. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 13, 288-292, 2011.
- [26] Filardo G, Grayburn PA, Hamilton C, Hebel Jr RF, Cooksey WB, Hamman B: Comparing long-term survival between patients undergoing off-pump and on-pump coronary artery bypass graft operations. *Ann Thorac Surg*, 92, 571-577; discussion 577-578, 2011.
- [27] Kuss O, von Salviati B, Borgemann J: Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: A systematic review and meta-analysis of propensity score analyses. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 140, 829-835, 2010.
- [28] Moller CH, Penninga L, Wetterslev J, Steinbruchel DA, Gluud C: Clinical outcomes in randomized trials of off- vs. on-pump coronary artery bypass surgery: systematic review with meta-analyses and trial sequential analyses. *Eur Heart J*, 29, 2601-2616, 2008.
- [29] Ramadan ASE, Stefanidis C, N'Gatchou W, El Oumeiri B, Jansens JL, De Smet JM, Antoine M, De Canniere D: Five years follow-up after Y-graft arterial revascularization:

- on pump versus off pump; prospective clinical trial. *Interact Cardio Vasc Thorac Surg*, 10, 423-427, 2010.
- [30] Briffa N: Off pump coronary artery bypass: a passing fad or ready for prime time? *Eur Heart J*, 11, 1346-1349, 2008.
- [31] Kerendi F, Morris CD, Puskas JD: Off-pump coronary bypass surgery for high-risk patients: only in expert centers? *Curr Opin Cardiol*, 6, 573-578, 2008.
- [32] Lemma MG, Coscioni E, Tritto FP, Centofanti P, Fondacone C, Salica A, Rossi A, De Santo T, Di Benedetto G, Piazza L, Rinaldi M, Schinosa AL, De Paulis R, Contino M, Genoni M. On-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery in high-risk patients: operative results of a prospective randomized trial (on-off study). *J Thorac Cardiovasc Surg*, 143, 625-631, 2012.
- [33] Uva MS, Cavaco S, Oliviera AG, Matias F, Silva C, Mesquita A, Aguiar P, Bau J, Pedro A, Magalhaes MP: Early graft patency after off-pump and on-pump coronary bypass surgery: a prospective randomized study. *Eur Heart J*, 31, 2492-2499, 2010.
- [34] Matrai A, Whittington RB, Ernst E: A simple method of estimating whole blood viscosity at standardized hematocrit. *Clin Hemorheol*, 7, 261-265, 1987.
- [35] Klose HJ, Volger E, Brechtelsbauer H, Heinich L, Schmid-Schonbein H: Microrheology and light transmission of blood. *Pflugers Arch*, 333, 126-139, 1972.
- [36] Vaya A, Falco C, Fernandez P, Contreras T, Valls M, Aznar J: Erythrocyte aggregation determined with the Myrenne aggregometer at two modes (M0, M1) and at two times (5 and 10 sec). *Clin Hemorheol Microcirc*, 29, 119-127, 2003.
- [37] Bauersachs RM, Wenby RB, Meiselman HJ: Determination of specific red blood cell aggregation indices via an automated system. *Clin Hemorheol*, 9, 1-25, 1989.
- [38] Donner M, Siadat M, Stoltz JF: Erythrocyte aggregation: approach by light scattering determination. *Biorheol*, 25, 367-375, 1988.
- [39] Hardeman MR, Dobbe JG, Ince C: The Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer. *Clin Hemorheol Microcirc*, 25, 1-11, 2001.
- [40] Hardeman MR, Goedhart PT, Dobbe JG, Lettinga KR: Laser-assisted Optical rotational Red Cell Analyzer (LORCA) I: A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Clin Hemorheol*, 14, 605-618, 1994.

- [41] Hardeman MR, Goedhart PT, Schut NH: Laser-assisted optical rotational cell analyser (LORCA). II: Red blood cell deformability: elongation index versus cell transit time. *Clin Hemorheol*, 14, 619-630, 1994.
- [42] Breddin HK: Can platelet aggregometry be standardized? *Platelets*, 16, 151–158, 2005.
- [43] Gu YJ, Graaff R, de Hoog E, Veeger NJGM, Panday G, Boonstra PW, van Oeveren W: Influence of hemodilution of plasma proteins on erythrocyte aggregability: An in vivo study in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Clin Hemorheol Microcirc*, 33, 95-107, 2005.
- [44] Marton Zs, Kesmarky G, Vekasi J, Cser A, Russai R, Horvath B, Toth K: Red blood cell aggregation measurements in whole blood and in fibrinogen solutions by different methods. *Clin Hemorheol Microcirc*, 24, 75-83, 2001.
- [45] Fransen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Geskes G, Buurman W: Systemic inflammation present in patients undergoing CABG without extracorporeal circulation, *Chest*, 113, 1290-1295, 1998.
- [46] Serrano Jr CV, Souza JA, Lopes NH, Fernandes JL, Nicolau LC, Blotta MH, Ramires JA, Hueb WA: Reduced expression of systemic proinflammatory and myocardial biomarkers after off-pump versus on-pump coronary artery bypass surgery: a prospective randomized study. *J Crit Care*, 25, 305-312, 2010.
- [47] Hirayama T, Yamaguchi H, Allers M, Roberts D: Evaluation of red cell damage during cardiopulmonary bypass. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg*, 19, 263-265, 1985.
- [48] Kameneva MV, Undar A, Antaki JF, Watach MJ, Calhoon JH, Borovetz HS: Decrease in red blood cell deformability caused by hypothermia, hemodilution, and mechanical stress: factors related to cardiopulmonary bypass. *ASAIO J*, 45, 307-10, 1999.
- [49] Reinhart WH, Ballmer PE, Rohner F, Ott P, Straub PW: The influence of extracorporeal circulation on erythrocytes and flow properties of blood. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 100, 538-545, 1990.
- [50] Svenmarker S, Jansson E, Stenlund H, Engström KG: Red blood cell trauma during cardiopulmonary bypass: narrow pore filterability versus free haemoglobin. *Perfusion*, 15, 33-40, 2000.

- [51] Mrowietz C, Hiebl B, Franke RP, Park JW, Jung F: Reversibility of echinocyte formation after contact of erythrocytes with various radiographic contrast media. *Clin Hemorheol Microcirc*, 39, 281-286, 2008.
- [52] Ballotta A, Saleh HZ, El Baghdady HW, Gomaa M, Belloli F, Kandil H, Balbaa Y, Bettini F, Bossone E, Menicanti L, Frigiola A, Bellucci C, Mehta RH: Comparison of early platelet activation in patients undergoing on-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 134, 132-138, 2007.
- [53] Rahe-Meyer N, Solomon C, Tokuno ML, Winterhalter M, Shrestha M, Hahn A, Tanaka K: Comparative assessment of coagulation changes induced by two different types of heart-lung machine. *Artif Organs*, 34, 3-12, 2010.
- [54] Yoshimura Y, Hiramatsu Y, Sato Y, Homma S, Enomoto Y, Kikuchi Y, Sakakibara Y: Activated neutrophils and platelet microaggregates impede blood filterability through microchannels during simulated extracorporeal circulation. *Ann Thorac Surg*, 75, 1254-1260, 2003.
- [55] Muriithi EW, Belcher PR, Rao JN, Chaudhry MA, Nicol D, Wheatley DJ: The effects of heparin and extracorporeal circulation on platelet counts and platelet microaggregation during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 120, 538-543, 2000.
- [56] Antithrombotic Trialists' Collaboration: Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*, 324, 71-86, 2002.
- [57] Jennings LK: Mechanisms of platelet activation: need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. *Thromb Haemost*, 102, 248-257, 2009.
- [58] Patrono C, Andreotti F, Arnesen H, Badimon L, Baigent C, Collet JP, De Caterina R, Gulba D, Huber K, Husted S, Kristensen SD, Morais J, Neumann FJ, Rasmussen LH, Siegbahn A, Steg PG, Storey RF, Van de Werf F, Verheugt F: Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis. *Eur Heart J*, 2011, 32, 2922-2932.
- [59] Patrono C, Collier B, FitzGerald GA, Hirsh J, Roth G: Platelet-Active Drugs: The relationships among dose, effectiveness, and side effects: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*, 126, 234S-264S, 2004.

- [60] Campos C, de Gregorio R, Garcia-Nieto R, Gago F, Ortiz P, Alemany S: Regulation of cyclooxygenase activity by metamizol. *Eur J Pharmacol*, 378, 339–347, 1999.
- [61] Moncada S, Vane JR: Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂, and prostacyclin. *Pharmacol Rev*, 30, 293-331, 1979.
- [62] Smith SC et al.: AHA/ACC Guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update: Endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circ*, 113, 2363-2372, 2006.
- [63] Garcia Rodriguez LA, Hernandez-Diaz S, De Abajo FJ: Association between aspirin and upper gastrointestinal complications: Systematic review of epidemiologic studies. *Br J Clin Pharmacol*, 52, 563-571, 2001.
- [64] Van de Werf F, Bax J, Betriu A, Blomstrom-Lundqvist C, Crea F, Falk V et al.: Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 29, 2909–2945, 2008.
- [65] Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H et al.: ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 32, 2999–3054, 2011.
- [66] Guha S, Sardar P, Guha P, Roy S, Mookerjee S, Chakrabarti P, Deb PK, Chaudhuri U, Deb S, Karmakar R, Dasgupta AK, Lahiri P: Dual antiplatelet drug resistance in patients with acute coronary syndrome. *Indian Heart J*, 61, 68-73, 2009.
- [67] Wang TH, Bhatt DL, Topol LJ: Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity. *Eur Heart J*, 27, 647-654, 2006.
- [68] Krasopoulos G, Brister SJ, Beattie WS, Buchanan MR: Aspirin “resistance” and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 336, 195-198, 2008.
- [69] Feher G, Koltai K, Papp E, Alkonyi B, Solyom A, Kenyeres P, Kesmarky G, Czopf L, Toth K: Aspirin resistance: possible roles of cardiovascular risk factors, previous

- disease history, concomitant medications and haemorrhological variables. *Drugs Aging*, 23, 559-567, 2006.
- [70] Feher G, Feher A, Pusch G, Koltai K, Tibold A, Gasztonyi B, Papp E, Szapary L, Kesmarky G, Toth K: Clinical importance of aspirin and clopidogrel resistance. *World J Cardiol*, 2, 171-186, 2010.
- [71] Garcia Rodriguez LA, Varas C, Patrono C: Differential effects of aspirin and non-aspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the primary prevention of myocardial infarction in postmenopausal women. *Epidemiology*, 11, 382–387, 2000.
- [72] Ray WA, Stein CM, Hall K, Daugherty JR, Griffin MR: Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of serious coronary heart disease: an observational cohort study. *Lancet*, 359, 118–123, 2002.
- [73] Garcia Rodriguez LA, Varas-Lorenzo C, Maguire A, Gonzalez-Perez A: Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of myocardial infarction in the general population. *Circulation*, 109, 3000–3006, 2004.
- [74] Capone ML, Sciulli MG, Tacconelli S, Grana M, Ricciotti E, Renda G, Di Gregorio P, Merciaro G, Patrignani P: Pharmacodynamic interaction of naproxen with low-dose aspirin in healthy subjects. *J Am Coll Cardiol*, 45, 1295–1301, 2005.
- [75] Ouellet M, Riendeau D, Percival MD: A high level of cyclooxygenase-2 inhibitor selectivity is associated with a reduced interference of platelet cyclooxygenase-1 inactivation by aspirin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 14583-14588, 2001.
- [76] Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN, FitzGerald GA: Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med*, 345, 1809 –1817, 2001.
- [77] Gislason GH, Jacobsen S, Rasmussen JN, Rasmussen S, Buch P, Friberg J, Schramm TK, Abildstrom SZ, Køber L, Madsen M, Torp-Pedersen C: Risk of death or reinfarction associated with the use of selective cyclooxygenase-2 inhibitors and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs after acute myocardial infarction. *Circulation*, 113, 2906-2913, 2006.
- [78] Hinz B, Cheremina O, Bachmakov J, Renner B, Zolk O, Fromm MF, Brune K: Dipyrrone elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. *FASEB J*, 21, 2343-2351, 2007.

- [79] Levy M, Zylber-Katz E, Rosenkranz B: Clinical pharmacokinetics of dipyron and its metabolites. *Clin Pharmacokinet*, 28, 216-234, 1995.
- [80] Pierre SC, Schmidt R, Brenneis C, Michaelis M, Geisslinger G, Scholich K: Inhibition of cyclooxygenases by dipyron. *Br J Pharmacol*, 151, 494-503, 2007.
- [81] Bozzo J, Escolar G, Hernandez MR, Galan AM, Ordinas A: Prohemorrhagic potential of dipyron, ibuprofen, ketorolac, and aspirin: mechanisms associated with blood flow and erythrocyte deformability, *J Cardiovasc Pharmacol*, 38, 183-190, 2001.
- [82] Parkhutik V, Lago A, Tembl JI, Rubio C, Fuset MP, Vallés J, Santos MT, Moscardo A: Influence of COX-inhibiting analgesics on the platelet function of patients with subarachnoid hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2011 May 6. [Epub ahead of print]
- [83] Graff J, Arabmotlagh M, Cheung R, Geisslinger G, Harder S: Effects of parecoxib and dipyron on platelet aggregation in patients undergoing meniscectomy: a double-blind, randomized, parallel-group study. *Clin Ther*, 29, 438-447, 2007.
- [84] Ergun H, Frattarelli ACD, Aranda VJ: Characterization of the role of physicochemical factors on the hydrolysis of dipyron. *J Pharm Biomed Anal*, 35, 479-487, 2004.
- [85] Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, Antonino MJ, Wei C, Teng R, Rasmussen L, Storey RF, Nielsen T, Eikelboom JW, Sabe-Affaki G, Husted S, Kereiakes DJ, Henderson D, Patel DV, Tantry US: Response to ticagrelor in clopidogrel nonresponders and responders and effect of switching therapies: the RESPOND study. *Circulation*, 121, 1188-1199, 2010.
- [86] Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, Tantry US, Gesheff T, Wei C, Teng R, Antonino MJ, Patil SB, Karunakaran A, Kereiakes DJ, Parris C, Purdy D, Wilson V, Ledley GS, Storey RF: Randomized double-blind assessment of the ONSET and OFFSET of the antiplatelet effects of ticagrelor versus clopidogrel in patients with stable coronary artery disease: the ONSET/OFFSET study. *Circulation*, 120, 2577-2585, 2009.
- [87] Hohlfeld T, Zimmermann N, Weber AA, Jessen G, Weber H, Schror K, Holtje HD, Ebel R: Pyrazolinone analgesics prevent the antiplatelet effect of aspirin and preserve human platelet thromboxane synthesis. *J Thromb Haemost*, 6, 166-173, 2008.
- [88] Levy G: Clinical pharmacokinetics of salicylates: a re-assessment. *Br J Clin Pharmacol*, 10, 285S-290S, 1980.

- [89] Baigent C, Collins R, Appleby P, Parish S, Sleight P, Peto R. ISIS-2: 10 year survival among patients with suspected acute myocardial infarction in randomised comparison of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither: The ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *BMJ*, 316, 1337-1343, 1998.
- [90] Nordt SP, Clark RF, Castillo EM, Guss DA: Comparison of three aspirin formulations in human volunteers. *West J Emerg Med*, 12, 381-385, 2011.
- [91] Howard PA, Delafontaine P: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*, 43, 519–525, 2004.

X. Saját közlemények

Teljes közlemények:

1. PAPP J., HABON T.: Ticagrelor – új terápiás lehetőség a trombocita-aggregáció-gátlásban. *Metabolizmus*, 3, 170-174, 2011.
2. J. PAPP, A. TOTH, B. SANDOR, R. KISS, M. RABAI, P. KENYERES, I. JURICKSKAY, G. KESMARKY, S. SZABADOS, K. TOTH: The influence of on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting on hemorheological parameters. *Clin Hemorheol Microcirc*, 49, 331-346, 2011.
Impakt faktor: 3,398
3. J. PAPP, B. SANDOR, Z. VAMOS, D. BOTOR, A. TOTH, M. RABAI, P. KENYERES, P. CSEPLO, I. JURICKSKAY, E. MEZOSI, A. KOLLER, K. TOTH: Antiplatelet effect of acetylsalicylic acid, metamizole and their combination - *in vitro* and *in vivo* comparisons. *Clin Hemorheol Microcirc*, accepted for publication.
Impakt faktor: 3,398
4. J. PAPP, P. KENYERES, K. TOTH: Clinical importance of platelet function inhibitors in cardiac diseases, *Clin Hemorheol Microcirc*, accepted for publication.
Impakt faktor: 3,398
5. A. TOTH, B. SANDOR, J. PAPP, M. RABAI, D. BOTOR, ZS. HORVATH, P. KENYERES, I. JURICKSKAY, K. TOTH: Moderate red wine consumption improves hemorheological parameters in healthy volunteers. *Clin Hemorheol Microcirc*, accepted for publication.
Impakt faktor: 3,398
6. B. SANDOR, J. PAPP, GY. MOZSIK, J. SZOLCSANYI, I. JURICKSKAY, K. TOTH, T. HABON: Capsaicin does not alter the effect of acetylsalicylic acid on platelet aggregation – a human clinical phase I study. *Clin Hemorheol Microcirc*, under publication.
Impakt faktor: 3,398

Kumulatív impakt faktor: 16.99

Előadáskivonatok, poszterek:

1. BARTIS D., PAPP J., SZABÓ M., TALABÉR G., BOLDIZSÁR F., NÉMETH P., BERKI T. A glükokortikoidhormon azonnali jelátviteli hatásainak *in vitro* vizsgálata patkány-hízósejtvonalon. *A Magyar Immunológiai Társaság XXXVI. Vándorgyűlése*, 2007. október 17-19., Hajdúszoboszló, *Magy Immunol/Hun Immunol*, 6, 13-14, 2007.
2. BARTIS D., BOLDIZSÁR F., SZABÓ M., TALABÉR G., PAPP J., NÉMETH P., BERKI T. Nem-genomikus glukokortikoid hatások T-sejteken: A ZAP-70, mint potenciális célpont az immunszuppresszív terápiában. *Immunfarmakonok és Biológiai Hatóanyagok Gyógyszertana Konferencia*, 2007. december 10., Debrecen.
3. BARTIS D., TALABÉR G., SZABÓ M., PAPP J., BOLDIZSÁR F., NÉMETH P., BERKI T. A nem-genomikus glükokortikoidhormon-hatások hasonlóságai és különbségei T-sejteken és hízósejteken. *A Magyar Immunológiai Társaság XXXVII. Vándorgyűlése*, 2008. október 29-31., Budapest, *Magy Immunol/Hun Immunol*, 7, 11-12, 2008.
4. T. BERKI, D. BARTIS, J. PAPP, M. SZABO, G. TALABER, P. NEMETH. Rapid non-genomic glucocorticoid effects on mast cells. *XXIV International Congress of Cytometry in the Age of Systems Biology*, May 17-21, 2008. Abstract: 558.
5. BARTIS D., TALABÉR G., SZABÓ M., PAPP J., BOLDIZSÁR F., NÉMETH P., BERKI T. Nem genomikus glükokortikoid hatások vizsgálata T-sejteken és hízósejteken. *38. Membrán-transzport Konferencia*, 2008. május 20-23., Sümeg, Absztrakt könyv 48.
6. D. BARTIS, G. TALABER, J. PAPP, F. BOLDIZSAR, M. SZABO, P. NEMETH, T. BERKI. Non-genomic glucocorticoid hormone signal transduction effects on mast cells. *2nd European Congress of Immunology*, September 13-16, 2009, Berlin, Germany, *Eur J Immunol*, 39, S1, S89, 2009.
7. BARTIS D., TALABÉR G., PAPP J., BOLDIZSÁR F., SZABÓ M., NÉMETH P., BERKI T. A glukokortikoid hormon nem-genomikus jelátviteli hatásainak vizsgálata hízósejteken. *39. Membrán-Transzport Konferencia*, 2009. május 19-22., Sümeg.
8. PAPP J., TÓTH A., SÁNDOR B., KISS R., RÁBAI M., KENYERES P., SZABADOS S., TÓTH K. On-pump és off-pump technikával végzett koszorúér bypass műtétek (CABG) hemoreológiai összehasonlítása. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2010. évi Tudományos Kongresszusa*, 2010. május 5-8., Balatonfüred, *Card. Hung. Suppl. G*, 40, G89, 2010.
9. SÁNDOR B., PAPP J., TÓTH A., RÁBAI M., KENYERES P., KOLLER Á., TÓTH K. Hiperhomociszteinémia hatása a vér reológiai paramétereire. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2010. évi Tudományos Kongresszusa*, 2010. május 5-8., Balatonfüred, *Card. Hung. Suppl. G*, 40, G69, 2010.

10. PAPP J., TÓTH A., SÁNDOR B., KISS R., RÁBAI M., KENYERES P., SZABADOS S., TÓTH K. Különböző technikákkal végzett koszorúér bypass műtétek (CABG) hemoreológiai összehasonlítása. *A Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyógykutató Társaság 2. Közös Kongresszusa*, 2010. június 25-26., Pécs, Abstractok, 25.
11. SÁNDOR B., PAPP J., TÓTH A., RÁBAI M., KENYERES P., KOLLER Á., TÓTH K. Hemoreológiai vizsgálatok hiperhomociszteinémiás patkány modellen. *A Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyógykutató Társaság 2. Közös Kongresszusa*, 2010. június 25-26., Pécs, Abstractok, 18.
12. J. PAPP, A. TOTH, B. SANDOR, R. KISS, P. KENYERES, S. SZABADOS, K. TOTH. The influence of on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting (CABG) on hemorheological parameters. *18th International Meeting of the Alpe Adria Association of Cardiology*, September 16-18, 2010, Vienna, *J Kardiol* 2010; 17 (Supplement A), B3-1.
13. K. KOLTAI, J. PAPP, P. KENYERES, R. HALMOSI, G. FEHER, G. KESMARKY, L. CZOPF, K. TOTH. Seasonal variations in hemorheological parameters and platelet aggregation – a possible association with meteorological factors? *18th International Meeting of the Alpe Adria Association of Cardiology*, September 16-18, 2010, Vienna, *J Kardiol* 2010; 17 (Supplement A), C2-3.
14. KISS R., PAPP J., TÓTH A., RÁBAI M., FARKASFALVI K., TÓTH K., SZABADOS S. Az off-pump és on-pump technika hatása a hemoreológiai és vérzési-transzfúziós paraméterekre. *Magyar Szívsebészeti Társaság XVII. Kongresszusa*, 2010. november 4-6., Pécs.
15. J. PAPP, B. SANDOR, A. TOTH, M. RABAI, Z. VAMOS, P. KENYERES, A. KOLLER, K. TOTH. Effects of hyperhomocysteinemia on various hemorheological parameters. *2nd International Symposium on Hypertension, Translational Medicine in Hypertension*, November 18-21, 2010, Osijek, Abstract book 32.
16. PAPP J., TÓTH A., SÁNDOR B., RÁBAI M., KENYERES P., KISS R., SZABADOS S., TÓTH K. On-pump és off-pump technikával végzett koszorúér bypass műtétek (CABG) hatása a hemoreológiai és vérzési-transzfúziós paraméterekre. *7. Magyar Mikrokeringés Kongresszus*, 2011. április 1-2., Dobogókő, *Érbetegségek* 2011/Suppl. 1., 20-21, 2011.
17. KENYERES P., PAPP J., TÓTH A., RÁBAI M., FEHÉR G., KOLTAI K., KÉSMÁRKY G., TÓTH K. Szinergizmus és kereszthatás az acetilszalicilsavval és tienopiridin származékokkal elérhető thrombocytá aggregáció gátlás esetében. *7. Magyar Mikrokeringés Kongresszus*, 2011. április 1-2., Dobogókő, *Érbetegségek* 2011/Suppl. 1., 13, 2011.
18. KENYERES P., TÓTH A., KOLTAI K., FEHÉR G., PAPP J., RÁBAI M., TÓTH K. Acetilszalicilsav és tienopiridinek trombocitá aggregáció gátlásának szinergizmusa. *A*

Magyar Kardiológusok Társasága 2011. évi Tudományos Kongresszusa, 2011. május 11-14., Balatonfüred, *Card. Hung. Suppl. F*, 41, F33, 2011.

19. PAPP J., TÓTH A., KISS R., SÁNDOR B., RÁBAI M., KENYERES P., SZABADOS S., TÓTH K. Különböző technikákkal végzett koszorúér bypass műtétek (CABG) hatása a hemoreológiai és vezési-transzfúziós paraméterekre. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2011. évi Tudományos Kongresszusa*, 2011. május 11-14, Balatonfüred, *Card. Hung. Suppl. F*, 41, F47, 2011.
20. J. PAPP, Z. VAMOS, B. SANDOR, A. TOTH, M. RABAI, P. KENYERES, P. CSEPLO, A. KOLLER, K. TOTH. In vitro comparison of platelet aggregation inhibitory effect of acetylsalicylic acid and metamizole in blood samples of healthy subjects. *FAMÉ*, 2011. június 8-11., Pécs, *Acta Phys. Suppl. 684*, 202, 91-92, 2011.
21. K. KOLTAI, J. PAPP, Z. MARTON, G. FEHER, G. KESMARKY, K. TOTH. Gender differences in hemorheological parameters and in in vitro platelet aggregation in ASA and thienopyridine treated vascular patients. *16th Conference of the European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation*, June 18-21, 2011, Munich, Germany, Abstract book 76.
22. J. PAPP, A. TOTH, B. SANDOR, M. RABAI, P. KENYERES, R. KISS, K. TOTH. The influence of various coronary artery bypass grafting (CABG) methods on hemorheological parameters. *16th Conference of the European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation*, June 18-21, 2011, Munich, Germany, Abstract book 96.
23. P. KENYERES, J. PAPP, A. TOTH, M. RABAI, G. FEHER, K. KOLTAI, K. TOTH. Synergic antiplatelet effect of acetylsalicylic acid and thienopyridines. *19th International Meeting of the Alpe Adria Association of Cardiology*, September 15-17, Budapest, Hungary, *Interventional Medicine & Applied Sciences*, 3, 148, 2011.
24. J. PAPP, K. KOLTAI, K. BÍRÓ, ZS. SZABÓ, K. TÓTH, G. KÉSMÁRKY. Raynaud-kór, az életet megkeserítő betegség haemorheológiai vonatkozásai. *Budapesti Angiológiai Napok*, 2011. október 20-22., Budapest, *Érbetegségek 2011/Suppl. 2.*, 24, 2011.
25. J. PAPP, B. SANDOR, A. TOTH, ZS. HORVATH, D. BOTOR, M. RABAI, P. KENYERES, I. JURICKAY, Z. VAMOS, P. CSEPLO, A. KOLLER, K. TOTH. In vitro and in vivo comparison of platelet aggregation inhibitory effect of acetylsalicylic acid, metamizole and their combination. *A Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyökutató Társaság 3. Közös Kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Abstractok, S2/2, 19.
26. P. KENYERES, ZS. HORVATH, M. RABAI, J. PAPP, B. SANDOR, K. TOTH, L. BOGAR. Prognostic value of hematocrit to blood viscosity ratio in acute coronary syndrome patients. *A Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyökutató Társaság 3. Közös Kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Abstractok, S2/1, 18.

27. B. SANDOR, J. PAPP, T. HABON, GY. MOZSIK, J. SZOLCSANYI, I. JURICKSKAY, K. TOTH. Capsaicin does not influence the inhibitory effect of acetylsalicylic acid on platelet aggregation – a human clinical phase I study. *A Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyógykutató Társaság 3. Közös Kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Abstractok, S2/4, 21.
28. A. TOTH, B. SANDOR, J. PAPP, D. BOTOR, ZS. HORVATH, M. RABAI, P. KENYERES, I. JURICKSKAY, K. TOTH. Red wine and hemorheology: complex results of *in vitro* and *in vivo* studies in healthy volunteers. *A Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyógykutató Társaság 3. Közös Kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Abstractok, S2/5, 22.
29. BÓTOR D., PAPP J., HORVÁTH ZS., TÓTH A., SÁNDOR B., RÁBAI M., CSERNUS Z., SZABÓ ZS., TÓTH K., KÉSMÁRKY G. Raynaud-kór: az életet megkeserítő betegség hemoreológiai vonatkozásai. *A Magyar Haemorheológiai Társaság, a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyógykutató Társaság 3. Közös Kongresszusa*, 2012. április 27-28., Balatonkenese, Abstractok, S3/7, 29.
30. PAPP J., KOLTAI K., TÓTH A., BÓTOR D., SÁNDOR B., RÁBAI M., CSERNUS Z., TÓTH K., KÉSMÁRKY G. Hemoreológiai tényezők szerepe perifériás vasospasztikus kórképekben. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2012. évi Tudományos Kongresszusa*, 2012. május 9-12, Balatonfüred, *Card. Hung. Suppl. A*, 42:A2, 2012.
31. SÁNDOR B., PAPP J., MÓZSIK GY., SZOLCSÁNYI J., JURICKSKAY I., HABON T., TÓTH K. A kapszaicin nem befolyásolja az acetilszalicilsav trombocita-aggregáció-gátló hatását – humán klinikai fázis I vizsgálat. *A Magyar Kardiológusok Társasága 2012. évi Tudományos Kongresszusa*, 2012. május 9-12, Balatonfüred, *Card. Hung. Suppl. A*, 42:A1, 2012.
32. J. PAPP, B. SANDOR, A. TOTH, ZS. HORVATH, D. BOTOR, M. RABAI, P. KENYERES, I. JURICKSKAY, Z. VAMOS, P. CSEPLO, A. KOLLER, K. TOTH. In vitro and in vivo comparison of platelet aggregation inhibitory effect of acetylsalicylic acid, metamizole and their combination. *14th International Congress of Biorheology and 7th International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol*, 49, 110, 2012.
33. A. TOTH, B. SANDOR, J. PAPP, D. BOTOR, ZS. HORVATH, M. RABAI, P. KENYERES, I. JURICKSKAY, K. TOTH. Red wine and hemorheology: complex results of in vitro and in vivo studies in healthy volunteers. *14th International Congress of Biorheology and 7th International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol*, 49, 109, 2012.
34. G. KESMARKY, J. PAPP, K. KOLTAI, A. TOTH, D. BOTOR, B. SANDOR, M. RABAI, Z. CSERNUS, K. TOTH. Raynaud's disease: hemorheological characteristics. *14th International Congress of Biorheology and 7th International*

Conference on Clinical Hemorheology, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol*, 49, 131, 2012.

35. P. KENYERES, ZS. HORVATH, M. RABAI, J. PAPP, B. SANDOR, K. TOTH, L. BOGAR. Prognostic value of hematocrit to blood viscosity ratio in acute coronary syndrome patients. *14th International Congress of Biorheology and 7th International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol*, 49, 133, 2012.
36. B. SANDOR, J. PAPP, T. HABON, GY. MOZSIK, J. SZOLCSANYI, I. JURICKSKAY, K. TOTH. Capsaicin does not influence the inhibitory effect of acetylsalicylic acid on platelet aggregation – a human clinical phase I study. *14th International Congress of Biorheology and 7th International Conference on Clinical Hemorheology*, July 4-7, 2012, Istanbul, Turkey, *Biorheol*, 49, 109, 2012.