

# Vázizomkisvénák vazomotortónusának intrinszik szabályozómechanizmusai

Szénási Annamária<sup>1</sup> ■ Dörnyei Gabriella dr.<sup>2</sup> ■ Rácz Anita dr.<sup>1</sup>  
 Debreczeni Béla dr.<sup>3</sup> ■ Koller Ákos dr.<sup>1, 4</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kóréletani Intézet, Budapest

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Egészségtudományi Kar, Morfológiai és Fiziológiai Tanszék, Budapest

<sup>3</sup>Magyar Honvédség Egészségügyi Központ, Honvédkórház,

II. Sebészeti Osztály, Plasztikai és Égéssebészeti Osztály, Budapest

<sup>4</sup>Testnevelési Egyetem, Természettudományi Intézet, Sportgenetikai és Sportgerontológiai Kutatócsoport, Budapest

A legtöbb fejlett országban a vénás betegségek előfordulása és az abból adódó komplikációk meghaladják az artériás betegségeket, ezért nagyon fontos, hogy a vénák fiziológiás és patofiziológiás működését és az ezeket szabályozó mechanizmusokat minél pontosabban megismerjük. A kisvénák és venuák egyik fő feladata a vénás vér szívbe történő visszaáramlásának biztosítása és a kapillárisokban történő folyadékcsere és anyagcsere kontrollja a vazomotortónusuk szabályozása révén. Az ezeket a funkciókat szabályozó lokális mechanizmusokról azonban kevés az ismeretünk. Az elmúlt évtizedben a szerzők munkacsoportja izolált patkányvázizom-kisvénákon a vazomotortónust meghatározó „intrinszik” (érfalban található) mechanizmusokat kutatta. Eredményeik szerint a kisvénák tónusát az intraluminalis nyomás és nyíróerő változásai által aktivált mechanizmusok, továbbá számos, a simaizomból és az endotheliumból felszabaduló mediátorok integráltan szabályozzák. Ezek a mechanizmusok együttesen vesznek részt a posztkapilláris ellenállás és a szív telődésének szabályozásában, és ezáltal a megfelelő szöveti vérellátás és vénás visszaáramlás, illetve következményesen a perctérfogat biztosításában. *Orv. Hetil.*, 2016, 157(21), 805–812.

**Kulcsszavak:** patkány, vázizomvenula, vazomotortónus, endothelium, hidrogén-peroxid, prosztaglandinok, nitrogén-monoxid, arachidonsav, tromboxán-A<sub>2</sub>, nyomás, nyíróerő

## Regulation of vasomotor tone of small skeletal muscle veins by intrinsic mechanisms

In many developed countries the prevalence of venous disorders and its consequences are higher than that of arterial diseases. Thus it is very important to understand the exact physiological and pathophysiological function of small veins and their control mechanisms. Small veins and venules have an important role in the regulation of capillary fluid exchange, as well as return of the venous blood into the heart. However, there is only limited knowledge available regarding the role of local mechanisms controlling the vasomotor tone and diameter of small veins. In the last decade the authors focused on the elucidation of these mechanisms in isolated skeletal muscle venules of rats. Their results suggest that the tone of small veins is controlled by the integration of several mechanisms, activated by the intraluminal pressure and flow/wall shear stress, in addition to numerous local mediators synthesized and released from the smooth muscle and endothelium. These mechanisms are involved – in a complex manner – in the control of postcapillary resistance, thus regulation of tissue blood supply, venous return and consequently in the modulation of the cardiac output, as well.

**Keawords:** rat, skeletal muscle venule, vasomotor tone, endothelium, hydrogen peroxide, prostaglandins, nitric oxide, arachidonic acid, tromboxane A<sub>2</sub>, pressure, flow/wall shear

*Szénási, A., Dörnyei, G., Rácz, A., Debreczeni, B., Koller, Á.* [Regulation of vasomotor tone of small skeletal muscle veins by intrinsic mechanisms]. *Orv. Hetil.*, 2016, 157(21), 805–812.

(Beérkezett: 2016. március 5.; elfogadva: 2016. április 7.)

## Rövidítések

AA = arachidonsav; ACh = acetyl-kolin; cGMP = ciklikus guanozin-monofoszfát; COX = ciklooxygenáz; EC = endothelsejt; EDHF = endothelialis hiperpolarizáló faktor;  $H_2O_2$  = hidrogén-peroxid; HS = hízósejt; Ht = hematokrit; INDO = indometacin; I/R = ischaemia/reperfúzió; L-NNA =  $N\omega$ -nitro-L-arginin;  $LTB_4$  = leukotrién- $B_4$ ; NADPH = nikotinamid adenin dinukleotid-foszfát; NE = noradrenalin; NG = neutrophil granulocytá; NO = nitrogén-monoxid; OH $\cdot$  = hidroxilgyök; PAF = vérlemezke-aktiváló faktor; Rho = Ras homológ fehérje; RhoA = Rho-aktivált kináz; ROS = reaktívoxigén-metabolitok; SMC = simaizomsejt; SNP = nitropruszid-Na; TNF- $\alpha$  = tumornekrózis-faktor- $\alpha$ ;  $TXA_2/PGH_2$  = tromboxán- $A_2$ /prostaglandin- $H_2$

A cardiovascularis betegségek világszerte, így hazánkban is a morbiditás és mortalitás vezető okai, ezért kiemelt jelentőségű az erek fiziológiás és kóros működésének kutatása és a háttérben álló mechanizmusok tisztázása [1]. Az elmúlt évtizedekben a cardiovascularis kutatások jelentős része az artériás erek fiziológiás és patofiziológiás működését vizsgálta. Ugyanakkor számos cardiovascularis kór állapotban az artériákban végbemenő változások mellett a vénák és venulák vazomotorfunkciójának károsodása is a szöveti vérkeringés zavarához vezet [2].

Az emberi szervezet teljes vértérfogatának ~60–80%-a az alacsony nyomású, tágulékony, ~450–500 km hosszúságú vénás rendszerben helyezkedik el, és ennek ~25–50%-a a kisvénákban és a venulákban oszlik el [1]. Ezért a cardiovascularis megbetegedések patomechanizmusának pontos megismerésében kulcsszerepet játszik a kisvénák rendszerének haemorrheológiai és funkcionális működésének részletes feltérképezése.

Korábbi eredmények rávilágítottak arra, hogy a kisvénák nemcsak passzív csövek, amelyekben centrális irányban fut a vér, hanem számos egyéb fontos élettani funkcióval is rendelkeznek [1, 2]. A kisvénás rendszer kapacitancia működése fontos a szervezet ortosztatikusan toleranciájának szabályozásában, míg a vénás mikrocirkuláció a posztkapilláris vénák – a keringési ellenállás és számos bioaktív anyag felszabadulása révén – a kapillárisokban történő folyadék- és anyagcserét, valamint a vénás visszaáramlást befolyásolják [3, 4]. Mások és mi is kimutattuk, hogy izolált erekben, ahol a szimpatikus idegrendszeri és a parenchymás szövetből eredő lokális hatások nem érvényesülnek, a vazomotorotónust elsősorban a vascularis simaizom miogén mechanizmusa állítja be, amit azonban simaizom- és endothelialis mechanizmusok tovább módosítanak. Ezeket a mechanizmusokat hívjuk intrinsziknek, mivel az erek falában helyezkednek el.

## Az intraluminalis nyomás „vazomotor” szerepe

Az artériás rendszerben az értónust meghatározó egyik fontos lokális szabályozómechanizmus a nyomásérzékeny érválasz, amelyet „miogén” válasznak hívnak, mivel

a simaizomban lévő mechanizmusok hozzák létre. A válasz lényege, hogy az intraluminalis nyomás növekedésekor az erek átmérője csökken, a nyomás csökkenésekor viszont az átmérő növekszik. A miogén vazomotorválaszt először 1902-ben Bayliss írta le kutya arteria carotisával végzett kísérletei alapján [5], amelynek meglétét később különböző állatfajok számos szerveiben, számos artériás érterületén is igazolták [6–15], és jelenlétét emberi erekben kimutatták [2–4].

Az arteriolák nyomásindukált miogén tónusának sejtszintű mechanizmusairól is számos tanulmány jelent meg a közelmúltban [9, 14–22]. Ennek ellenére továbbra sem teljesen tisztázott, hogy mi az, ami az érfalban „mechanoszenzorként” működik, és milyen intracelluláris mechanizmusok vesznek részt a „mechanotranszdukción”.

Feltételezhető, hogy a simaizomsejtek degenerin/epithelialis  $Na^+$ -csatornáinak és a tranziens receptorpotenciál-csatornáknak jelentős szerepe van a transmuralis nyomásváltozás érzékelésben [23–25]. Az artériákban egy kétfázisú kontrakciós modellt feltételeznek, ahol az első fázisban a nyomás hatására simaizomsejt-depolarizáció és a feszültségfüggő  $Ca^{2+}$ -csatornák aktiválódása alakul ki, míg a második fázisban a  $Ca^{2+}$ -érzékenység szabályozása történik, amelyben szerepe lehet a proteinkináz C, a Ras homológ fehérje/Rho-aktivált kinázok (Rho/RhoA), a szfingozinkinázok aktiválódásának, valamint reaktívoxigén-szabadgyökök felszabadulásának [26].

Az artériás erekhez képest a kisvénák intrinszik miogén mechanizmusairól kevés adat található az irodalomban. A mechanizmus jelenlétét denevér szárny-, több faj portális, tengerimalac mesenterialis, kutya, humán és patkány saphena-, valamint sertéscoronaria kisvénáiban igazolták [27–32]. *In vivo* és *in vitro* kísérletekben kimutatták, hogy patkány vena saphenáiban akut nyomásterhelés hatására jelentősen megnőtt a vénák miogén válaszképessége, tónusa. Ezek a kísérletek igazolták, hogy az intraluminalis nyomás emelkedésére fokozódott az aktív mechanikai feszültség a vénák falában [27]. Feltételezik, hogy a nyomásindukált miogén mechanizmus a teljes vénás kapacitás ~30%-át képes szabályozni. Ugyancsak patkány vena saphenájában a krónikus vénás nyomásterhelés megduplázta a vénák akut nyomásindukált miogén válaszait a kontrollállatokéhoz képest [1, 4]. Ez a folyamat része lehet a hosszú távú nyomásterhelés során kialakult adaptációnak, amelyben a vénák funkcionális és strukturális „remodellingje” alakul ki.

Ugyanakkor, a kisvénák miogén válaszainak sejtszintű folyamatairól ezen erek sérülékenysége (igen vékony érfal), valamint a funkcionális vizsgálatok számos technikai nehézsége miatt, kevés adat található az irodalomban [33]. Izolált humán vena saphenában kimutatták, hogy a  $Ca^{2+}$ - és feszültségfüggő  $K^+$ -csatornáknak fontos szerepe van a nyomásindukált miogén érválasz kialakulásában [31]. Nyúl vena facialisában a miogén kontrakció feltehetően a RhoA/Rho kináz és a p38 mitogénaktivált proteinkináz aktiválódásához kötött [34].

## Az endothelialis vazomotormechanizmusok moduláló szerepe

A különböző méretű vénás erek másik fontos aktív rétege az endothelium. Mindezek miatt újabban nagy figyelem fordult a vénás mikroerek endotheliumából felszabaduló vazóaktív anyagok élettani szerepére, többek között a kisvénák tónusának szabályozásában [7, 35]. A vascularis endothelium számos vazóaktív anyag szintézisére képes, melyek a környezetükben lévő sejtekre hatnak: a nitrogén-monoxid, az arachidonsav-metabolizmus molekulái, és oxigéntartalmú szabad gyökök mind dilatációt, mind konstriktiót létrehozhatnak koncentrációtól, kölcsönhatásoktól és értípustól függően [36–39]. Továbbá ismert az endotheliumból származó úgynevezett hiperpolarizációs faktor (EDHF) is, amely az egyes feltételezések szerint a membránpotenciál megváltozását okozó  $Ca^{2+}$ -függő ioncsatornákon terjedő elektromos jelenség, míg más elképzelés szerint egy diffúzibilis faktor, amely hatásában felmerült a  $K^+$  ion és AA-származékok közvetítő szerepe is.

Számos, már korábban is ismert vazóaktív anyagról kiderült, hogy hatásukat a cardiovascularis rendszer különböző érszakaszain, az endothelium stimulálása révén, az általa termelt faktorok felszabadításán keresztül fejtik ki. Különböző mechanikai stimulusok (például nyomás, nyírófeszültség) hatására is növekedhet az endothelialis anyagok szintézise és felszabadulása [40, 41]. Az irodalomban ellentmondásos adatok találhatóak azzal kapcsolatban, hogy az endothelialis faktorok befolyásolják-e, illetve szükségesek-e a nyomásindukált miogén tónushoz. Korai állatkísérletes modellekben úgy észlelték, hogy a funkcionálisan ép endothelium szükséges a nyomásindukált érválasz létrejöttéhez, illetve bizonyos esetekben modulálja azt [8–10, 20]. Az eredmények alapján feltételezték, hogy az endothelium olyan nyomásérzékelőként képes működni, amely transzformálja a mechanikai erőket a vascularis simaizom felé, és tónusnövekedést hoz létre a vazodilatátor faktor(ok) termelésének csökkentése révén [6]. Ez az elképzelés azonban újabban nem kapott megerősítést. Ezért ma úgy gondoljuk, hogy a nyomásindukált érválaszokban az endothelium nem játszik „obligatory”, azaz nélkülözhetetlen szerepet, hanem a különböző endothelialis konstriktor és dilatátor faktorok felszabadulása révén módosítja a miogén vascularis tónust [7, 33, 42, 43].

Érdekes, hogy nemi különbségek is megfigyelhetők a miogén vascularis reaktivitás tekintetében. Például, hím patkányokból származó gracilis arteriolákban az endothelium jelenlétében a nyomásindukált miogén konstriktió mértéke nagyobb volt, mint a nőstény állatokból származó erekben [44]. Feltételezhető, hogy a nőstény állatokban a keringő  $17\text{-}\beta$ -ösztadiol hormon fokozza az endothelsejtek NO-termelését (amelyet számos kísérletben kimutattak), ami csökkenti az erek miogén tónusát. Az endothelium szerepét a vénás mikroerek vazomotor-tónusának szabályozásában csak nagyon kevesen vizsgál-

ták. Sertés-coronariavenulákban az endothelium eltávolítása nem változtatta meg az erek miogén válaszképességét az ép endotheliummal rendelkező kontrollerekhez képest [42]. A különböző AA-metabolitok kisvénákban kifejtett vazóaktív hatásai régió- és fajfüggő különbségeket mutattak, például humán vena saphenában a prosztaciklin kontrakciót, míg kézvényekben relaxációt okozott [45]. Továbbá számos vazóaktív anyagról és mechanikai faktorról igazolták, hogy befolyásolják az érfalban történő prosztaglandinok termelését, ezáltal szabályozva a kisvénák vazomotor-tónusát [46, 47]. Feltételezhető, hogy a különböző lokális humorális és biomechanikai tényezők egymás hatását is módosítva, együttesen határozzák meg a vascularis endothelialis faktorok termelését és ezáltal szabályozzák a kisvénák tónusát.

## Az intraluminalis áramlás vazomotorhatása

Korábban saját és más munkacsoportok is igazolták, hogy kisartériákban, arteriolákban a megnövekedett véráramlás fokozza az érfalra érintőlegesen ható nyíróerőt, amely aktiválja az endotheliumot, ami dilatátor faktorok termeléséhez és felszabadulásához vezet [1, 6, 17]. A mechanikai jel szubcelluláris továbbításában az endothelialis felszíni réteg, a glikokalix kiemelten fontos lehet [25]. A nyíróerőre adott érválaszt elsősorban dilatátor prosztaglandinok és NO közvetítik, de leírtak más faktorokat is. A kisvénák, venulák áramlásindukált érválaszairól csak nagyon kevés adat található az irodalomban [48, 49], holott ennek fontos szerepe lehet járáskor és futáskor, amikor az izompumpa meggyorsítja a véráramlást a különböző méretű vénákban. Izolált sertés-coronariavenulák és jugularisvénák az arteriolákhoz hasonlóan az áramlásnövekedés hatására dilatálnak [6]. Kutya-venajugularisban az áramlásindukált dilatációt NO közvetíti [49]. Denevérszárny-venulák spontán kontrakcióinak mind a frekvenciáját, mind az amplitúdóját csökkentette az intravascularis áramlás növelése [48], az áramlásindukált válasz az endothelium eltávolítása után megszűnt, ugyanakkor NO, prosztaglandinok és reaktívoxigén-metabolitok nem vettek részt az érválasz közvetítésében.

## Reaktívoxigén-metabolitok (ROS), a $H_2O_2$

Egyre több bizonyíték van arra, hogy a reaktívoxigén-metabolitok módosítják az akut érválaszokat: szerepük van a miogén tónus mechanizmusában, hatnak az erek permeabilitására, valamint hosszú távon befolyásolják az érhalózatok strukturális átépülését is. Az elmúlt években jelentős figyelem irányult a ROS hatásmechanizmusainak vizsgálatára, és számos állapotban és betegségben – mint például öregedés, elhízás, ischaemiás szívbetegségek, stroke, hipertensio, diabetes mellitus, atherosclerosis, krónikus vesebetegségek – mutatták ki a szerepüket [50]. Ezért a reaktívoxigén-metabolitok különböző érterületeken, így a vénás mikroereken kifejtett hatásának pontos megismerésének fontos klinikai jelentősége van.

Humán coronariaarteriolákban kimutatták, hogy az áramlás növekedése az endotheliumban  $H_2O_2$  termelődést indukál, amely a vascularis simaizomsejtek hiperpolarizációját, majd következményes dilatációját okozza [51]. *In vivo* fiziológiai körülmények között a szöveti oxidatív mechanizmus egyik terméke a szuperoxid anion, amely szuperoxid dizmutáz enzim hatására átalakul hidrogén-peroxiddá [50].  $H_2O_2$ -t a vascularis endothel és a simaizomsejtek, valamint az aktivált leukocyták és vérlemezkék is termelnek. Mikroerek környezetében a fiziológiai  $H_2O_2$ -koncentráció  $\sim 10^{-6}$  M, ugyanakkor nagy koncentrációban a belőle képződő hidroxilgyök ( $OH\cdot$ ) révén citotoxikus hatása is lehet. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy a pontos koncentráció, amellyel a  $H_2O_2$  a hatását kifejti, nehezen becsülhető meg. Az érfalban jelen levő kataláz enzim gyorsan elbonthatja a  $H_2O_2$ -t; továbbá az endothelsejtek is folyamatosan termelnek  $H_2O_2$ -t – aminek aránya szabja meg a lokális koncentrációt.

A  $H_2O_2$  szerepéről az artériák vazomotortónusának szabályozásában a vizsgált fajtól, az erek típusától és a vizsgálati protokolltól függően ellentmondó adatok találhatók az irodalomban. Kutatócsoportunk korábbi eredményei szerint vázizom-arteriolákban exogén  $H_2O_2$  bifázisos érválaszt hozott létre, az alacsonyabb koncentrációk konstriktiót, míg a magasabb koncentrációk dilatációt okoztak [52]. A konstriktiót ciklooxygenáz (COX) enzim által termelt konstriktor prosztoglandinok ( $PGH_2/TXA_2$ ), míg a dilatációt részben NO, részben  $K^+$ -csatornák aktiválása közvetíti. Ugyanakkor, a  $H_2O_2$  szerepe a kisvénák, venulák vazomotortónusának szabályozásában alig ismert.

Fentiek alapján látható, hogy csak kevés ismeretünk van a kisvénák vazomotor tónusát/átmérőjét szabályozó mechanizmusokról, ezért az elmúlt években munkacsoportunk vizsgálta a vázizomkiszvénák vazomotortónusát meghatározó mechanizmusait. Az alábbi részben azon jelentősebb eredményeket foglaltuk össze, amelyeket munkacsoportunk végzett a kisvénák tónusát szabályozó endotheliumfüggő és -független mechanizmusokkal kapcsolatban.

### Vazoaktív anyagok hatása a vénás mikroerekre

Patkány gracilis izomból izolált venulákban kimutattuk, hogy acetyl-kolin (ACh) alacsony koncentrációban dilatációt, míg magasabb koncentrációban konstriktiót okozott, továbbá az ACh-indukált válaszok endotheliumfüggőek [42]. Az ACh-indukált érválaszok közvetítésében részt vevő endothelialis faktorok azonosítására specifikus blokkolók hatását vizsgáltuk. Az NO-szintáz-blokkoló  $N\omega$ -nitro-L-arginin (L-NNA) szignifikánsan csökkentette az ACh-indukált dilatációt, ami arra utal, hogy a NO-nak szerepe van az átmérőnövekedésben. A ciklooxygenáz- (COX-) gátló indometacin (INDO), továbbá a  $TXA_2/PGH_2$  receptorantagonista SQ 29,548 jelenlé-

tében az ACh által indukált dilatáció csökkent, illetve a konstriktió helyett jelentős érátmérő-növekedést tapasztaltunk, ami arra utal, hogy az ACh vazokonstriktor prosztanoid, feltehetően  $PGH_2$  felszabadulását is kiváltja az endotheliumból.

A NO-donor nitropruszid-Na (SNP) átmérőnövekedést okozott, amit nem befolyásolt a NO-szintáz-gátló L-NNA jelenléte, azaz a simaizomsejtek a ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) rendszerére közvetlenül hatnak. A venulák bazális átmérőjének szignifikáns csökkenése L-NNA, illetve növekedése INDO és SQ 29,548 jelenlétében arra utal, hogy a NO és a  $PGH_2$  nyugalmi körülmények között is termelődik a venulák endotheliumában és részt vesz a venulák átmérőjének a szabályozásában. Ugyanakkor az endothelium károsítása után a venulák bazális átmérője nem változott meg, feltehetően az endothelialis vazodilatátor és vazokonstriktor faktorok hatásának együttes kiesése miatt [33, 41, 42].

Az arachidonsav (AA) koncentrációfüggő átmérőcsökkenést hozott létre, amelyet indometacin és SQ 29,548 szignifikáns mértékben gátolt. Ez az eredmény arra enged következtetni, hogy az AA-ból az érfalban lévő enzimek nagyobb mennyiségben termelnek konstriktor- ( $TXA_2/PGH_2$ ), mint dilatátor prosztanoidokat. A bazális értónushoz képest mindkét gátlószer jelenlétében jelentős vazodilatáció alakult ki, ami a konstriktor faktorok gátlása után a dilatátor faktorok túlsúlyára utal. Az eredmények alapján arra következtetünk, hogy az AA metabolitok vazokonstriktív hatását a konstriktor prosztoglandinok, elsősorban a  $TXA_2/PGH_2$  közvetítik [52].

A  $H_2O_2$  az AA-hoz hasonlóan hat a kisvénák átmérőjére, az érátmérő koncentrációfüggően csökken a  $H_2O_2$  emelkedő dózisainak hatására. A mechanizmust az endothelialis és simaizomfüggő  $TXA_2/PGH_2$  közvetíti, mivel a COX-gátlás (indometacin, ami az aszpirinhez hasonló hatású) és a  $TXA_2/PGH_2$  (TP) receptor blokkolása (SQ 29,548) szignifikáns mértékben csökkentette a  $H_2O_2$  okozta érválaszt [52].

### A kisvénák nyomásindukált miogén válasza

Korábban az irodalmi adatok nem írták le egyértelműen, hogy arteriolákhoz hasonlóan vajon a kisvénákban is működik-e a nyomás indukálta miogén mechanizmus. Kísérleteinkben azt találtuk, hogy patkány gracilis izomból izolált kisvénákban mintegy fél óra alatt, „nyugalmi körülmények között”, jelentős spontán miogén válasz alakult ki [33, 52]. Az intraluminális nyomás emelésére miogén konstriktió alakul ki a gracilis venulákban, aminek a maximuma a 6–10 Hgmm-es nyomástartományban mérhető, mely egyben jelezheti az *in vivo* jelen levő intravénás vérnyomásértéket is. A miogén tónus kialakulása megközelítőleg 30%-kal csökkenti az érátmérőt [33, 52]. A miogén válasz jelenléte vénákban a keringési rendszer működése szempontjából meghatározó lehet. A posztkapilláris ellenállás szabályozásával a venulák tónusa nagymértékben befolyásolja a mikrocirkulációban

uralkodó hidrosztatikai nyomásviszonyokat és így a folyadék és anyagkicserélődés mértékét, továbbá a miogén válasz meghatározza a lokális vénás keringést is.

A miogén válasz indukálta véráramlási viszonyok megváltozása számos reológiai, hemodinamikai és egyéb speciális funkciókat, például a fehérvérsejtek extravasatióját befolyásolhatja a kisvénákban. Továbbá a vázizomvenulák tónusa befolyásolja a vénás kapacitancia funkció működését is, amely a „preload” szabályozásán keresztül hat a szívkamrák funkciójára is. Ez a funkció krónikus szívbetegekben kiemelt jelentőségű lehet.

Noradrenalin (NE) jelenlétében csökkent a venulák átmérője (maximum 62%-kal), a perfúziós nyomás-átmérő görbe szignifikánsan lefelé tolódott, és szignifikánsan nőtt a nyomás-átmérő görbe meredeksége is. A meredekség értéke negatívvá vált, ami azt jelzi, hogy NE jelenlétében szignifikánsan fokozódott a venulák miogén válasza. Feltételezhető, hogy a NE hatására megváltozott az intracelluláris  $Ca^{2+}$ -ion-koncentráció, amelynek szerepe van a miogén válasz növekedésében. Alacsony nyomástartományban az endothelium eltávolítása után a venulák átmérője szignifikánsan csökkent kontrollállapotban és NE jelenlétében is. Ez azt jelzi, hogy a venulák nyomásindukált tónusát az endotheliumból folyamatosan felszabaduló vazodilatátor faktor(ok) módosítani képes(ek) [33].

Kísérleteink során vizsgáltuk, hogy mely faktorok felelősek a kisvénákban létrejövő miogén válasz kialakulásáért. A COX enzim gátlása, illetve a  $TXA_2$ /PGH<sub>2</sub>-receptor gátlása csökkentette a nyomás indukálta miogén válasz mértékét. Ez arra utal, hogy az izolált kisvénákban kialakuló nyomásérzékeny válaszáért a COX enzim által termelt konstriktor prosztaglandinok, a  $TXA_2$  és PGH<sub>2</sub> felelősek. A COX-eredetű konstriktor faktorok forrása ugyanakkor a mikroerekben egyaránt lehet az endothelium és az érfali simaizom is.

A katalázenzim szintén csökkentette a miogén tónus mértékét, ami arra utal, hogy a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-nek fontos szerepe van a vénák miogén tónusának kialakulásában. Eredményeink azt mutatják, hogy izolált vázizomvénákban a reaktív oxigénmolekulák is részt vesznek a miogén tónus szabályozásban.

### A kisvénák áramlás indukálta vazomotorválasza

Kísérleteink során az izolált venulák révén olyan állapotot teremtettünk meg, amelyben a neuralis, humorális és metabolikus tényezők elhanyagolhatónak tekinthetők. Az áramlás lépcsőzetes növelése dilatációt okozott a vázizomvenulákban (maximum ~22%). Endothelium hiányában az áramlás indukálta dilatáció megszűnt [41]. Vizsgálataink során azt találtuk, hogy tromboxán-A<sub>2</sub> dilatátor prosztaglandinok és a nitrogén-monoxid együttesen felelősek az intraluminalis áramlás indukálta átmérváltozások kialakulásáért. A dilatátor prosztaglandinok a COX-1, a konstriktor prosztaglandinok a COX-2 útvo-

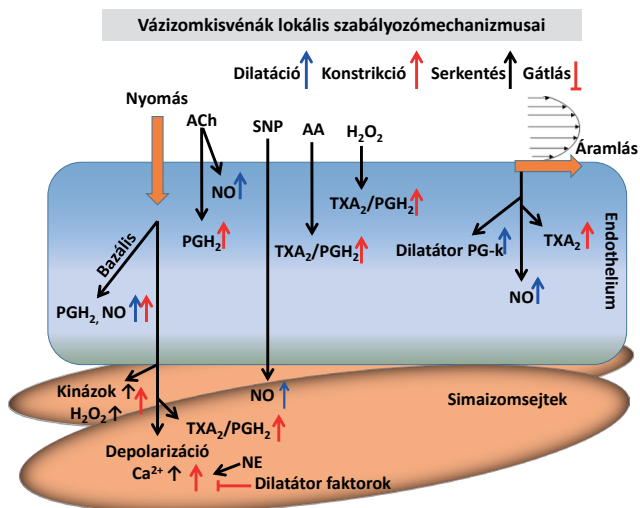
nalon termelődnek. Valószínűleg az AA-kaszád enzimeinek kolokalizálódása, mint például a COX-1/PGH<sub>2</sub>-szintáz és a COX-2/ $TXA_2$ -szintáz, felelős azért, hogy a COX-1 főleg dilatátor, míg a COX-2 konstriktor faktorok termelését okozza az áramlás/nyíróerő emelésének hatására. Feltételezhető, hogy a különböző érterületeken a COX-1 és COX-2 által termelt prosztaglandinok eltérő mértékben termelődnek. Ezen eredményeknek fontos szerepe lehet a különböző szelektivitású COX-gátlók terápiás használatát illetően. Feltételezhető, hogy az izolált vázizomvenulák összetett módon válaszolnak az intraluminalis áramlás növelésére, amely összességében dilatációt hoz létre.

A posztkapilláris venulák ezen funkciója fontos szerepet játszhat a szöveti véráramlás szabályozásában, a venulák fali nyírófeszültségének csökkentésében és a szöveti oedemák kialakulásának gátlásában; ennek különös jelentősége lehet például fizikai munka esetén, amikor az artériás oldalon jelentős vazodilatáció jön létre. Ebben az esetben a venulák átmérőjének együttes növekedése a fokozódó áramlás hatására hozzájárul a kapillárisok kiürítéséhez a vér nagyobb vénák felé való továbbítása által.

Fontos, hogy a venulákban a fali nyírófeszültség alacsony, az alacsony áramlási sebesség, és a nagy átmérő miatt, ha pedig az áramlási sebességráta alacsony, a vér viszkozitása megnő. A venulákban az áramlás hatására a dilatátor faktorok mellett konstriktor faktorok is termelődnek, amely konstriktor faktorok hatására az átmérő növekedése és ezáltal a viszkozitás emelkedése mérséklődik, a nyírófeszültség pedig csak kisebb mértékben csökken. Tehát a venulák nem csupán az átmérő változásával szabályozzák a fali nyírófeszültséget (mint az arteriolák), hanem a fali nyíróerő magasabb tartásával, ami a hematokrittal összefüggő viszkozitás változásához köthető. Izolált vázizomvenulákban tehát az intraluminalis áramlás/fali nyíróerő konstriktor  $TXA_2$ , NO és dilatátor prosztaglandin termelődéséhez vezet, összességében dilatációt eredményezve. Így amikor a véráramlás sebessége és/vagy a viszkozitás nő a venulákban, ezen faktorok jelentősen hozzájárulhatnak a fali nyírófeszültség összetett feed-back szabályozásához (1. ábra) [18, 52].

### A vénás mikroerek szerepe ischaemia/reperfúziós (I/R) károsodásban

Fentiekhez hasonlóan, az eddigi ischaemia/reperfúziós (I/R) kutatások is elsősorban az artériás erekre fókuszáltak, és kevesebb figyelem fordult az adott területeket ellátó kisvénák vazomotorműködésének változásaira. Bár az I/R-t követő események és a beavatkozások sikere nagyban függ az artériás keringés biztosításától, de a vénás kifolyás megfelelő mértékének megléte legalább olyan fontos [28]. A vénás keringés elégtelensége, az érintett érszakasz konstriktója és/vagy trombózisa vénás pangás kialakulásához és következményes szöveti nekrozisozhoz vezethet, amely az I/R sértülést súlyosbít.



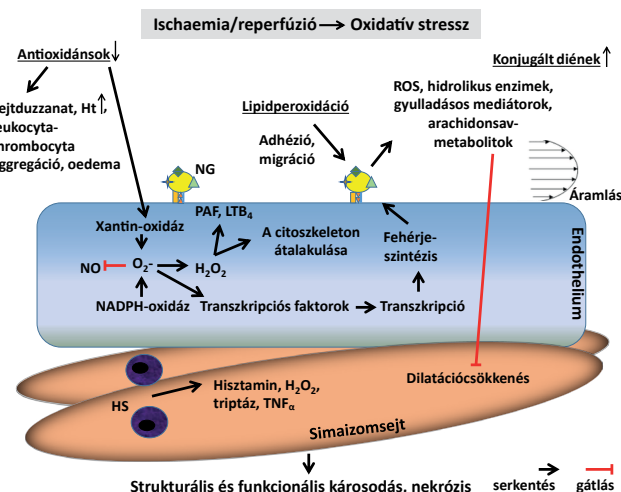
1. ábra A vázizomkiszűrésnek vazomotoros tónusának lokális szabályozómechanizmusai

AA = arachidonsav; ACh = acetil-kolin; Ca<sup>2+</sup> = kalcium; COX = ciklooxygenáz; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = hidrogén-peroxid; NE = noradrenalin; NO = nitrogén-monoxid; PG = prosztoglandin; SNP = nitropruszid-Na; TXA<sub>2</sub>/PGH<sub>2</sub> = tromboxán-A<sub>2</sub>/prosztoglandin-H<sub>2</sub>

hatja [1, 53]. Kevés ismerettel rendelkezünk azonban I/R esetében a haemorrheológiai paraméterek és az oxidatív stressz hatásairól, különösen ezen tényezők szerepéről a szövetek nutritív ellátásáért felelős vénás mikroerek működésében [54]. Az I/R vizsgálatok során az artériás rendszerben leírták a reaktívoxigén-szabadgyökök megemelkedett szöveti szintjének fontosságát [55–57] (2. ábra), míg ezen anyagok szerepéről a vénás mikroerek fiziológiás és patológiai funkcióiban kevés a tudásunk. Feltehető, hogy a vénás mikroerek esetében is a megemelkedett H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-képződés szubcelluláris jelátviteli mechanizmusokon keresztül funkcionális és morfológiai változásokat okoz az erekben.

Az I/R okozta oxidatív stressz emelkedett ROS (szuperoxid anion, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hidroxil-szabadgyök) -koncentráció és/vagy csökkent antioxidáns hatás miatt alakul ki, amiért főleg a csökkent antioxidáns enzimszintek felelősek (glutathion, E-vitamin, aszkorbinsav, glutathion-peroxidáz, szuperoxid dizmutáz, kataláz) [57, 58]. Feltételezhető, hogy az oxidatív stressz szignifikáns szerepet játszhat a vénás mikroerek diszfunkciójának kialakulásában is [55].

Ezen túlmenően, szöveti sérüléssel és/vagy gyulladásal járó patológiai állapotokban aktivált leukocyták elsősorban a posztkapilláris venulákból kerülnek az extravascularis térbe, ahol ezek a sejtek számos vasoaktív ágenszt szekretálnak (2. ábra) [28, 53]. Többek között az aktivált leukocyták oxidatív működésük következtében H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-t termelnek, amelynek az extracelluláris koncentrációja a mikrocirkuláció környezetében magas szintre emelkedhet (0,3 mM-ig) [59, 60]. A ROS keletkezése befolyásolja az endothelialis diszfunkció kialakulását, he-



2. ábra Az ischaemia/reperfúzió okozta oxidatív stressz modellje vázizom-arteriolákban

EC = endothelsejt; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = hidrogén-peroxid; HS = hízósejt; Ht = hematokrit; LTB<sub>4</sub> = leukotrién-B<sub>4</sub>; NADPH = nikotinamid adenin dinukleotid-foszfát; NG = neutrophil granulocytá; NO = nitrogén-monoxid; PAF = vérlemezke-aktiváló faktor; ROS = reaktívoxigén-metabolitok; SMC = simaizomsejt; TNF-α = tumornekrózis-faktor-α

lyi és szisztémás hemodinamikai és metabolikus változásokat okozhat, amelyek komplementválaszt és gyulladásos kórfolyamatokat aktiválnak [61]. Mindezek alapján feltehető, hogy az I/R patomechanizmusai a venulák és kisvénák diszfunkció létrehozása révén is jelentős hatással vannak a vasculáris és szöveti funkciókra és komplex patofiziológiai és morfológiai elváltozásokat okoznak.

## Következtetések

Mások és saját eredményeink alapján látható, hogy a venulák és kisvénák vazomotoros tónusa komplex módon szabályozódik. A hemodinamikai erők (intraluminalis nyomás, áramlás) változása és különböző vasoaktív anyagok átmérváltozásokat hoznak létre az endothelialis konstriktor és dilatátor faktorok szintézise révén, vagy közvetlenül a simaizomra hatva (1. ábra). A kisvénák és venulák határozzák meg a posztkapilláris ellenállást, így a kapilláris nyomást és ezen keresztül a szöveti folyadék- és anyagcsere mértékét, továbbá befolyásolják a szív felé történő vénás visszaáramlás nagyságát. Ezen paraméterek megfelelő szinten tartása nélkülözhetetlen a normális szöveti véráramlás és a perctérfogat fenntartása szempontjából. A kisvénák és venulák tónusát szabályozó mechanizmusok részleteinek és sejt szintű jelátviteli útjainak pontos megismerése fontos további kutatási feladat, mert a komplex szabályozó folyamatok egyensúlyának felborulása, például ischaemia/reperfúzió, pangás, thrombózis, nyomástúlterhelés, varicositas eseteiben, mind a microvasculáris, mind az általuk ellátott parenchymalis szövetekben súlyos patológiai állapotok okozója vagy következménye lehet.

**Támogató:** Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NFKI/OTKA-K 108444), Semmelweis Egyetem, Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola.

**Szerzői munkamegosztás:** Sz. A.: A cikk nyers változatának elkészítése. D. G.: A tanulmány korrekciója. K. Á.: A cikk szakértői korrekciója, a kutatás vezetése. R. A., D. B.: A kutatás végzése, a cikk átolvasása. A végleges változatot valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

**Anyagi érdekeltségek:** A szerzőknek nincsenek anyagi érdekeltségeik.

## Irodalom

- [1] Monos, E.: Physiology of the venous system. [A vénás rendszer élettana.] Semmelweis Kiadó, Budapest, 2010. [Hungarian]
- [2] Monos, E., Bérczi, V., Nádasy, G.: Local control of veins: biomechanical, metabolic, and humoral aspects. *Physiol. Rev.*, 1995, 75(3), 611–666.
- [3] Rothe, C. F.: Venous system: Physiology of the capacitance vessels. *Compr. Physiol.*, 2011, 397–452. Source: Handbook of Physiology. The Cardiovascular System, Peripheral Circulation and Organ Blood Flow. Originally published: 1983.
- [4] Monos, E., Lórant, M., Dörnyei, G., et al.: Long-term adaptation mechanisms in extremity veins supporting orthostatic tolerance. *News Physiol. Sci.*, 2003, 18(5), 210–214.
- [5] Bayliss, W. M.: On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J. Physiol.*, 1902, 28(3), 220–231.
- [6] Kuo, L., Arko, F., Chilian, W. M., et al.: Coronary venular responses to flow and pressure. *Circ. Res.*, 1993, 72(3), 607–615.
- [7] Kaley, G., Koller, A., Rodenburg, J., et al.: Regulation of arteriolar tone and responses via L-arginine pathway in skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, 1992, 262(4), H987–H992.
- [8] Eskinder, H., Harder, D. R., Lombard, J. H.: Role of the vascular endothelium in regulating the response of small arteries of the dog kidney to transmural pressure elevation and reduced PO<sub>2</sub>. *Circ. Res.*, 1990, 66(5), 1427–1435.
- [9] Harder, D. R.: Pressure-induced myogenic activation of cat cerebral arteries is dependent on intact endothelium. *Circ. Res.*, 1987, 60(1), 102–107.
- [10] Rubanyi, G. M.: Endothelium-dependent pressure-induced contraction of isolated canine carotid arteries. *Am. J. Physiol.*, 1988, 255(4), H783–H788.
- [11] Szekeres, M., Nádasy, G. L., Kaley, G., et al.: Nitric oxide and prostaglandins modulate pressure-induced myogenic responses of intramural coronary arterioles. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2004, 43(2), 242–249.
- [12] Sun, D., Kaley, G., Koller, A.: Characteristics and origin of myogenic response in isolated gracilis muscle arterioles. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 1994, 266(3), H1177–H1183.
- [13] Sun, D., Messina, E. J., Kaley, G., et al.: Characteristics and origin of myogenic response in isolated mesenteric arterioles. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 1992, 263(5), H1486–H1491.
- [14] Massett, M. P., Ungvari, Z., Csiszar, A., et al.: Different roles of PKC and MAP kinases in arteriolar constrictions to pressure and agonists. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2002, 283(6), H2282–H2287.
- [15] Ungvari, Z., Csiszar, A., Huang, A., et al.: High pressure induces superoxide production in isolated arteries via protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase. *Circulation*, 2003, 108(10), 1253–1258.
- [16] Koller, A., Bagi, Z.: Nitric oxide and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contribute to reactive dilation of isolated coronary arterioles. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2004, 287(6), H2461–H2467.
- [17] Koller, A., Huang, A.: Impaired nitric oxide-mediated flow-induced dilation in arterioles of spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.*, 1994, 74(3), 416–421.
- [18] Racz, A., Veresh, Z., Erdei, N., et al.: Thromboxane A<sub>2</sub> contributes to the mediation of flow-induced responses of skeletal muscle venules: role of cyclooxygenases 1 and 2. *J. Vasc. Res.*, 2009, 46(5), 397–405.
- [19] Hill, M. A., Davis, M. J., Meininger, G. A., et al.: Arteriolar myogenic signalling mechanisms: Implications for local vascular function. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2006, 34(1–2), 67–79.
- [20] Katusic, Z. S., Shepherd, J. T., Vanhoutte, P. M.: Endothelium-dependent contraction to stretch in canine basilar arteries. *Am. J. Physiol.*, 1987, 252(3), H671–H673.
- [21] Matchkov, V. V., Tarasova, O. S., Mulvany, M. J., et al.: Myogenic response of rat femoral small arteries in relation to wall structure and [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2002, 283(1), H118–H125.
- [22] Wesselman, J. P., Spaan, J. A., van der Meulen, E. T., et al.: Role of protein kinase C in myogenic calcium-contraction coupling of rat cannulated mesenteric small arteries. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2001, 28(10), 848–855.
- [23] Drummond, H. A., Gebremedhin, D., Harder, D. R.: Degenerin/epithelial Na<sup>+</sup> channel proteins: components of a vascular mechanosensor. *Hypertension*, 2004, 44(5), 643–648.
- [24] Kim, E. C., Choi, S. K., Lim, M., et al.: Role of endogenous ENaC and TRP channels in the myogenic response of rat posterior cerebral arteries. *PLoS ONE*, 2013, 8(12), e84194.
- [25] Zou, H., Ratz, P. H., Hill, M. A.: Role of myosin phosphorylation and [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> in myogenic reactivity and arteriolar tone. *Am. J. Physiol.*, 1995, 269(5), H1590–H1596.
- [26] Schubert, R., Lidington, D., Bolz, S. S.: The emerging role of Ca<sup>2+</sup> sensitivity regulation in promoting myogenic vasoconstriction. *Cardiovasc. Res.*, 2008, 77(1), 8–18.
- [27] Monos, E., Contney, S. J., Cowley, A. W. Jr., et al.: Electrical and mechanical responses of rat saphenous vein to short-term pressure load. *Am. J. Physiol.*, 1989, 256(1), H47–H55.
- [28] Johns, D. G., Ao, Z., Willette, R. N., et al.: Role of p38 MAP kinase in postcapillary venule leukocyte adhesion induced by ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol. Res.*, 2005, 51(5), 463–471.
- [29] Enouri, S., Monteith, G., Johnson, R.: Characteristics of myogenic reactivity in isolated rat mesenteric veins. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2011, 300(2), R470–R478.
- [30] Noordergraaf, A.: Blood in motion. In: The microcirculation. Springer, Philadelphia, 2011.
- [31] Szentiványi, M. Jr., Bérczi, V., Hüttl, T., et al.: Venous myogenic tone and its regulation through K<sup>+</sup> channels depends on chronic intravascular pressure. *Circ. Res.*, 1997, 81(6), 988–995.
- [32] Bérczi, V., Greene, A. S., Dörnyei, G., et al.: Venous myogenic tone: studies in human and canine vessels. *Am. J. Physiol.*, 1992, 263(2), H315–H320.
- [33] Dörnyei, G., Monos, E., Kaley, G., et al.: Myogenic responses of isolated rat skeletal muscle venules: modulation by norepinephrine and endothelium. *Am. J. Physiol.*, 1996, 271(1), H267–H272.
- [34] Dubroca, C., You, D., Lévy, B. I., et al.: Involvement of RhoA/Rho kinase pathway in myogenic tone in the rabbit facial vein. *Hypertension*, 2005, 45(5), 974–979.
- [35] Koller, A., Messina, E. J., Wolin, M. S., et al.: Endothelial impairment inhibits prostaglandin and EDRF-mediated arteriolar dilation in vivo. *Am. J. Physiol.*, 1989, 257(6), H1966–H1970.
- [36] Moncada, S., Palmer, R. M., Higgs, E. A.: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 1991, 43(2), 109–142.
- [37] Moncada, S., Vane, J. R.: Prostacyclin in the cardiovascular system. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Res.*, 1980, 6, 43–60.
- [38] Rubanyi, G. M.: Vascular effects of oxygen-derived free radicals. *Free Radic. Biol. Med.*, 1988, 4(2), 107–120.

- [39] Taylor, S. G., Weston, A. H.: Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a new endogenous inhibitor from the vascular endothelium. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1988, 9(8), 272–274.
- [40] Reffelmann, T., Kloner, R. A.: The no-reflow phenomenon: A basic mechanism of myocardial ischemia and reperfusion. *Basic Res. Cardiol.*, 2006, 101(5), 359–372.
- [41] Koller, A., Dornyei, G., Kaley, G.: Flow-induced responses in skeletal muscle venules: modulation by nitric oxide and prostaglandins. *Am. J. Physiol.*, 1998, 275(3), H831–H836.
- [42] Dornyei, G., Kaley, G., Koller, A.: Release of nitric oxide and prostaglandin H<sub>2</sub> to acetylcholine in skeletal muscle venules. *Am. J. Physiol.*, 1997, 272(6), H2541–H2546.
- [43] Falcone, J. C., Davis, M. J., Meininger, G. A.: Endothelial independence of myogenic response in isolated skeletal muscle arterioles. *Am. J. Physiol.*, 1991, 260(1), H130–H135.
- [44] Huang, A., Sun, D., Koller, A., et al.: Gender difference in myogenic tone of rat arterioles is due to estrogen-induced, enhanced release of NO. *Am. J. Physiol.*, 1997, 272(4), H1804–H1809.
- [45] Sinzinger, H., Fitscha, P.: Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) contracts normal and varicose human saphenous veins. *Vasa*, 1984, 13(3), 228–230.
- [46] Aksoy, M. O., Harakal, C., Smith, J. B., et al.: Mediation of bradykinin-induced contraction in canine veins via thromboxane/prostaglandin endoperoxide receptor activation. *Br. J. Pharmacol.*, 1990, 99(3), 461–466.
- [47] Brunkwall, J. S., Stanley, J. C., Graham, L. M., et al.: Influence of pressure, flow rate, and pulsatility on release of 6-keto-PGF<sub>1α</sub> and thromboxane B<sub>2</sub> in ex vivo-perfused canine veins. *J. Vasc. Surg.*, 1988, 7(1), 99–107.
- [48] Davis, M. J.: Spontaneous contractions of isolated bat wing venules are inhibited by luminal flow. *Am. J. Physiol.*, 1993, 264(4), H1174–H1186.
- [49] Fukaya, Y., Ohhashi, T.: Acetylcholine- and flow-induced production and release of nitric oxide in arterial and venous endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 1996, 270(1), H99–H106.
- [50] Staiculescu, M. C., Foote, C., Meininger, G. A., et al.: The role of reactive oxygen species in microvascular remodeling. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, 15(12), 23792–23835.
- [51] Miura, H., Bosnjak, J. J., Ning, G., et al.: Role for hydrogen peroxide in flow-induced dilation of human coronary arterioles. *Circ. Res.*, 2003, 92(2), e31–e40.
- [52] Debreczeni, B., Veresh, Z., Gara, E., et al.: Hydrogen peroxide via thromboxane A<sub>2</sub> receptors mediates myogenic response of small skeletal muscle veins in rats. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2013, 54(4), 393–407.
- [53] Voisin, M. B., Pröbstl, D., Nourshargh, S.: Venular basement membranes ubiquitously express matrix protein low-expression regions: characterization in multiple tissues and remodeling during inflammation. *Am. J. Pathol.*, 2010, 176(1), 482–495.
- [54] Tamas, R., Nemeth, N., Brath, E., et al.: Hemorheological, morphological, and oxidative changes during ischemia-reperfusion of latissimus dorsi muscle flaps in a canine model. *Microsurgery*, 2010, 30(4), 282–288.
- [55] Starkebaum, G., Harlan, J. M.: Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J. Clin. Invest.*, 1986, 77(4), 1370–1376.
- [56] Haskins, K., Bradley, B., Powers, K., et al.: Oxidative stress in type 1 diabetes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2003, 1005, 43–54.
- [57] Sonta, T., Inoguchi, T., Tsubouchi, H., et al.: Evidence for contribution of vascular NAD(P)H oxidase to increased oxidative stress in animal models of diabetes and obesity. *Free Radic. Biol. Med.*, 2004, 37(1), 115–123.
- [58] Perkins, K. A., Pershad, S., Chen, Q., et al.: The effects of modulating eNOS activity and coupling in ischemia/reperfusion (I/R). *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 2012, 385(1), 27–38.
- [59] Root, R. K., Metcalf, J. A.: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release from human granulocytes during phagocytosis. Relationship to superoxide anion formation and cellular catabolism of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: studies with normal and cytochalasin B-treated cells. *J. Clin. Invest.*, 1977, 60(6), 1266–1279.
- [60] Zweier, J. L., Kuppusamy, P., Thompson-Gorman, S., et al.: Measurement and characterization of free radical generation in reoxygenated human endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 1994, 266(3), C700–C708.
- [61] Rácz, I. B., Illyés, G., Sarkadi, L., et al.: The functional and morphological damage of ischemic reperfused skeletal muscle. *Eur. Surg. Res.*, 1997, 29(4), 254–263.

(Szénási Annamária,  
Budapest, Nagyvárud tér 4., 1089  
e-mail: szenasi.an@gmail.com)