

A megtartott ejectiós frakciójú szívelégtelenség
(HFpEF) patomechanizmusával és a hypertoniás
szívbetegség HFpEF-be történő átmenetével
kapcsolatos újabb megfigyeléseink

Doktori értekezés

Dr. Szelényi Zsuzsanna

Semmelweis Egyetem
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Vereckei András, PhD, med.habil., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Giricz Zoltán PhD, tudományos munkatárs
Dr. Sepp Róbert PhD, med.habil., egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Kempler Péter, DSc, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Madách Krisztina, PhD, egyetemi docens
Dr. Sallai László, PhD, főorvos

Budapest
2016

TARTALOMJEGYZÉK

1 RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	6.oldal
2 BEVEZETÉS	10.oldal
2.1 Nómenklatúra	10.oldal
2.2 HFpEF, HFmrEF és HFrEF	11.oldal
2.3 Epidemiológia	11.oldal
2.4 Prognózis	12.oldal
2.5 Patofiziológia	13.oldal
2.5.1 A nitrogén-monoxid (NO) - szolubilis guanilát-cikláz (sGC) - ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) - protein-kináz G (PKG) jelátviteli útvonal	14.oldal
2.5.2 Endothel dysfunctio	16.oldal
2.5.3 A myocardiális NOS szétkapcsolódás következtében felerősödő oxidatív stressz	17.oldal
2.5.4 A myocardiumban megfigyelhető eltérések	17.oldal
2.5.5 A gyulladás szerepe	18.oldal
2.5.6 A HFpEF és a társbetegségek kapcsolata	18.oldal
2.5.7 Proteotoxicitás	19.oldal
2.6 Az enyhén-mérsékeltlen csökkent systolés bal kamra funkció ellenére megtartott ejectiós frakció patomechanizmusa	20.oldal
2.7 Genetikai háttér	22.oldal
2.8 A HFpEF diagnózisa	24.oldal
2.9 Terápiás lehetőségek	25.oldal
2.9.1 Életmód	25.oldal
2.9.2 Béta-blokkolók	26.oldal
2.9.3 A renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer gátlói	26.oldal
2.9.4 Digoxin	28.oldal
2.9.5 A NOS - NO - sGC- cGMP - PKG és a nátriuretikus peptidek - NPRA/B - rGC - cGMP - PKG	

jelátviteli utakat befolyásoló szerek	28.oldal
2.9.5.1 Tetrahydrobiopterin	29.oldal
2.9.5.2 Izoszorbid-mononitrát	29.oldal
2.9.5.3 Nátrium-nitrit	30.oldal
2.9.5.4 Nitroxil	30.oldal
2.9.5.5 sGC aktivátorok és stimulátorok	30.oldal
2.9.5.6 Foszfodiészteráz 5 (PDE5) inhibitorok	31.oldal
2.9.5.7 Neprilysin inhibitorok	32.oldal
2.9.5.8 Foszfodiészteráz 9A (PDE9A) inhibitorok	32.oldal
2.9.6 Ranolazin	33.oldal
2.9.7 Statinok	33.oldal
2.9.8 Serelaxin	34.oldal
2.9.9 Resveratrol	34.oldal
2.9.10 Alagebrium	35.oldal
2.9.11 Ivabradin	36.oldal
2.9.12 Vezeték nélküli arteria pulmonalis nyomásmonitorozás	36.oldal
2.9.13 Interatrial Shunt Device (IASD) System II	36.oldal
3 CÉLKITŰZÉSEK	38.oldal
4 MÓDSZEREK	40.oldal
4.1 Biokémiai mérések	42.oldal
4.1.1 Oxidatív stresszt jellemző paraméterek	42.oldal
4.1.2 Gyulladásos paraméterek	42.oldal
4.1.3 Coagulációs paraméterek	43.oldal
4.1.4 Neuroendocrin paraméterek	43.oldal
4.2 Szívtultrahang	44.oldal
4.2.1 Szívtultrahanggal mért hagyományos paraméterek	44.oldal
4.2.2 Szöveti Doppler és speckle tracking echocardiographia	46.oldal
4.3 Pulzushullám terjedési sebesség (PWV) mérése	47.oldal
4.4 Carotis ultrahang	48.oldal
4.5 Molekuláris biológiai módszerek	48.oldal

4.5.1 A minor allél frekvencia és a genetikai pontrendszer meghatározása	49.oldal
4.6 Statisztikai értékelés	50.oldal
4.6.1 Statisztikai értékelés - biokémiai eredmények	50.oldal
4.6.2 Statisztikai értékelés - echocardiographiás paraméterek	50.oldal
4.6.3 Statisztikai értékelés - genetikai vizsgálatok	51.oldal
5 EREDMÉNYEK	53.oldal
5.1 A betegcsoportok jellemzői	53.oldal
5.2 Biokémiai mérések	55.oldal
5.2.1 Oxidatív stresszt jellemző paraméterek	56.oldal
5.2.2 Gyulladásos paraméterek	56.oldal
5.2.3 Coagulációs paraméterek	56.oldal
5.2.4 Neuroendocrin aktivációs paraméterek	56.oldal
5.3 Echocardiographiás eredmények	57.oldal
5.3.1 Bal kamra diastolés funkció	57.oldal
5.3.2 Bal kamra systolés és pitvari funkció	57.oldal
5.3.3 Bal pitvari, bal kamrai volumen és bal kamrai izomtömeg	60.oldal
5.4 A bal kamra diastolés funkció és a biokémiai paraméterek összefüggései az utánkövetés során	63.oldal
5.5 A PWV és a carotis pontrendszer	64.oldal
5.6 Releváns korrelációk a vizsgált paraméterek között	65.oldal
5.7 Az enyhe bal kamra systolés dysfunctio kimutatására alkalmas legjobb rutin echocardiographiás paraméter	67.oldal
5.8 A vizsgált individuális genetikai polimorfizmusok kapcsolata a hipertóniával és a bal kamra diastolés dysfunctióval	69.oldal
5.8.1 MAF eloszlás	69.oldal
5.8.2 GTPCH-1 haplotípus elemzés	70.oldal
5.8.3 Az oxidatív stresszel és BH ₄ metabolizmussal összefüggésben lévő SNP-k kombinált hatása a hipertóniára és a bal kamra diastolés dysfunctióra	71.oldal
6 MEGBESZÉLÉS	73.oldal

6.1 Hypertoniás normális ejectiós frakciójú betegekben a bal kamra systolés és diastolés dysfunctiónak és a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be való átmenetének elsődleges oka az oxidatív stressz és a gyulladás lehet	73.oldal
6.2 A progresszív bal kamra diastolés dysfunctióval párhuzamos fokozott atherosclerosis	74.oldal
6.3 A pitvari dysfunctio lehetséges okai hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegekben	75.oldal
6.4 Klinikai jelentőség	75.oldal
6.5 Biokémiai eredményeink korlátai	75.oldal
6.6 A MacIver-Townsend hypothesis igazolása	76.oldal
6.7 A megtartott ejectiós frakció lehetséges mechanizmusa HFpEF-ben	77.oldal
6.8 A bal kamra systolés dysfunctio kimutatásának javítása HFpEF-ben	77.oldal
6.9 A MacIver-Townsend hypothesis-sal kapcsolatos vizsgálataink korlátai	79.oldal
6.10 Genetikai vizsgálatok	80.oldal
6.11 A vizsgált génpolimorfizmusok kiválasztása	81.oldal
6.12 Genetikai vizsgálataink korlátai	82.oldal
7 KÖVETKEZTETÉSEK	83.oldal
8 ÖSSZEFOGLALÁS	85.oldal
9 SUMMARY	86.oldal
10 IRODALOMJEGYZÉK	87.oldal
11 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	113.oldal
11.1 Disszertációhoz kapcsolódó közlemények	113.oldal
11.2 A disszertációtól független közlemények	114.oldal
12 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	115.oldal

1 RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

A: transmitralis áramlás maximális késő diastolés telődési sebesség

A': mitralis annulus maximális késő diastolés telődési sebesség

a_{dur}: vena pulmonalis pitvari reverz flow időtartam

A_{dur}: A hullám időtartam

AGE: advanced glycation end-product

Ala: alanin

ANOVA: varianciaanalízis (analysis of variance)

ARB: angiotenzin II receptor blokkoló

Asp: aszpartát

ATP: adenzin-trifoszfát

AUC: görbe alatti terület (area under curve)

BH₂: dihydrobiopterin

BH₄: tetrahydrobiopterin

BMI: testtömegindex (body mass index)

BNP: B-típusú nátriuretikus peptid

BSA: testfelszín (body surface area)

Ca²⁺: kalcium

cGA: chromogranin A

cGMP: ciklikus guanozin-monofoszfát

CI: konfidencia intervallum (confidence interval)

CRP: C-reaktív protein

D: vena pulmonalis diastolés csúcsebesség

DBP: diastolés vérnyomás (diastolic blood pressure)

E: transmitralis áramlás maximális kora diastolés telődési sebesség

E': mitralis annulus maximális kora diastolés telődési sebesség

EDV: végdiastolés volumen (end diastolic volume)

EF: ejectió frakció

EF(S): Simpson módszerrel mért ejectió frakció

eGFR: becsült glomerulus filtrációs ráta (estimated glomerular filtration rate)

ELISA: enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat

eNOS: endothelialis nitrogén-monoxid-szintáz

ESV: végsystolés volumen (end systolic volume)

FAD: flavin-adenin-dinukleotid

FDA: Food and Drug Administration

GCH1: GTP ciklohidroláz-1

GFR: glomerulus filtrációs ráta

GLS: globális bal kamrai longitudinális strain (global left ventricular longitudinal strain)

Glu: glutamát

GTP: guanozin-trifoszfát

GTPCH-1: GTP ciklohidroláz-1

HDL: high density lipoprotein

HFmrEF: szívelégtelenség közepes ejeccións frakcióval (heart failure with mid-range ejection fraction)

HFnEF: normál ejeccións frakciójú szívelégtelenség (heart failure with normal ejection fraction)

HFpEF: megtartott ejeccións frakciójú szívelégtelenség (heart failure with preserved ejection fraction)

HFrEF: csökkent ejeccións frakciójú szívelégtelenség (heart failure with reduced ejection fraction)

HNO: nitroxil

HPLC: nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (high performance liquid chromatography)

HT: hypertonia

HTDD-: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül

HTDD+: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctióval

IASD: Interatrial Shunt Device

IL-6: interleukin-6

IL-8: interleukin-8
IMT: intima-média vastagság (intima media thickness)
IVA: isovolumetriás gyorsulás (isovolumic acceleration)
IVRT: isovolumetriás relaxációs idő (isovolumic relaxation time)
IVV: isovolumetriás sebesség (isovolumic velocity)
LA: bal pitvar (left atrium)
LAV: bal pitvari volumen (left atrial volume)
LDL: low density lipoprotein
LS: longitudinalis strain
LV: bal kamra (left ventricle)
LVH: bal kamra hypertrophia (left ventricular hypertrophy)
LVH-: bal kamra hypertrophia (left ventricular hypertrophy) nélkül
LVH+: bal kamra hypertrophiás (with left ventricular hypertrophy)
LVIDd: diastolés bal kamrai belső átmérő (diastolic left ventricular internal diameter)
LVIDs: systolés bal kamrai belső átmérő (systolic left ventricular internal diameter)
LVM: bal kamrai izomtömeg (left ventricular mass)
LVOT: bal kamrai kiáramlási pálya (left ventricular outflow tract)
LVOT-VTI: bal kamrai kiáramlási pálya sebesség-idő integrál (left ventricular outflow tract velocity time integral)
MAF: minor allél frekvencia
MMP-9: mátrix metalloproteináz-9
MnSOD: mangán-szuperoxid-dizmutáz
NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NO: nitrogén-monoxid
NOS: nitrogén-monoxid-szintáz
NPRA/B: nátriuretikus peptid receptor A/B
NT-proBNP: N-terminal-proBNP
NYHA: New York Heart Association
O₂^{·-}: szuperoxid gyök
ONOO⁻: peroxinitrit

OR: esélyhányados (odds ratio)
PAI-I: plazminogén aktivátor inhibitor-I
PDE5: foszfodiészteráz 5
PDE5A: foszfodiészteráz 5A
PDE9A: foszfodiészteráz 9A
PK: protein karboniláció
PKA: protein-kináz A
PKG: protein-kináz G
PV_a: vena pulmonalis pitvari reverz flow maximális sebesség
PWV: pulzushullám terjedési sebesség (pulse wave velocity)
radWT: radialis falvastagodás (radial wall thickening)
rGC: guanilát-cikláz receptor
ROC: receiver-operating characteristic curve
ROS: reaktív oxigénszármazék (reactive oxygen species)
S: strain
SBP: systolés vérnyomás (systolic blood pressure)
SD: standard deviáció
SERCA: sarcoplasmás retikulum Ca²⁺-ATP-áz
sGC: szolubilis guanilát-cikláz
SNP: single nucleotid polimorfizmus
SR: strain rate
SV: verővolumen (stroke volume)
TDI: szöveti Doppler (tissue Doppler imaging)
TGF-β: transforming growth factor β
TIMP1: tissue inhibitor of metalloproteinase-1
TNF-α: tumor necrosis factor-α
Val: valin
VCAM: vascular cell adhesion molecule
vWF:Ag: von Willebrand faktor antigén

2 BEVEZETÉS

2.1 Nómenklatúra

A szívelégtelenség korunk igen jelentős cardiovascularis megbetegedése, mely a fejlett országok felnőtt lakosságának 1-2%-át érinti. Az életkor előrehaladtával a betegség prevalenciája nő, 70 év felett már a 10%-ot is meghaladja (1).

Hagyományosan systolés és diastolés szívelégtelenség csoportra osztották a kórképet, mely elnevezés a leglényegesebbnek tartott patofiziológiai mechanizmust tükrözte. A bal kamra mechanikájának pontosabb megismerésével azonban igazolódott, hogy az utóbbi csoportban fennáll enyhe systolés dysfunctio is (2). A vizsgálatok arra is rámutattak, hogy bal kamra systolés és diastolés dysfunctio a felnőtt lakosságban szívelégtelenség klinikai tünetei nélkül is jelen lehet, illetve, hogy a systolés szívelégtelen csoportba sorolt betegeknel jelentős arányban fordul elő diastolés dysfunctio is. A fenti kutatási eredmények a nevezéktan változásához vezettek. A systolés szívelégtelenség helyett a csökkent ejectiós frakciójú szívelégtelenség (HFrEF) elnevezést javasolták, a diastolés szívelégtelenség helyett először a normál ejectiós frakciójú szívelégtelenség (HFnEF), majd pedig a megtartott ejectiós frakciójú szívelégtelenség (HFpEF) kifejezés terjedt el (3).

Az Európai Kardiológus Társaság szívelégtelenség diagnózisára és kezelésére vonatkozó, 2016-ban megjelent ajánlása vezeti be a HFmrEF (szívelégtelenség közepes ejectiós frakcióval) fogalmát 40-49% közötti EF esetén. HFrEF-ről <40%-os EF esetében beszélnek (4). A kutatásunk, illetve az eredményeink publikálása még az új ajánlás megjelenése előtt történt.

2.2 HFpEF, HFmrEF és HFrEF

Az aktuálisan rendelkezésre álló bizonyítékok egyértelműen mellett szólnak, hogy a HFpEF és a HFrEF valóban két önálló betegségcsoportot képvisel. A két kórkép számos tekintetben különbözik egymástól - eltérő a patofiziológia és etiológia, a társbetegségek, a klinikai és demográfiai jellemzők, a betegség manifesztációjáig eltelő idő, a strukturális és funkcionális remodelling, a neuroendocrin aktiváció és a biokémiai paraméterek, illetve a terápiára adott válasz (5-11). Átmenet HFpEF-ből HFrEF-be leginkább azoknál a betegeknél figyelhető meg, akik időközben myocardialis infarctust szenvednek el (12).

A HFmrEF csoportba sorolt betegeknél valószínűleg primeren enyhe systolés dysfunctio áll fenn, melyhez a diastolés dysfunctio jellemzői társulnak (4).

2.3 Epidemiológia

A megtartott ejectiós frakciójú szívelégtelenség napjainkban a szívelégtelen betegek kb. 22-73%-ában fordul elő, az irodalomban megtalálható adatok függenek az alkalmazott definíciótól, az ellátás helyszínétől, a betegek életkorától és nemétől, korábbi myocardialis infarctus előfordulásától és a publikáció évétől (4). Prevalenciáját 1,1–5,5% közöttinek becsülik a teljes populációban (13). A csökkent ejectiós frakciójú szívelégtelenséghez viszonyított prevalenciája évente 1%-kal nő, így a jövőben várhatóan a megtartott ejectiós frakciójú szívelégtelenség lehet a leggyakrabban előforduló szívelégtelenség típus (14).

A hospitalizációt igénylő szívelégtelen betegek között is nő a HFpEF aránya. A Get With The Guidelines–Heart Failure (GWTG-HF) tanulmány alapján 2005 és 2010 között 33%-ról 39%-ra nőtt a HFpEF miatt kórházba kerülő szívelégtelen betegek aránya, míg a HFrEF miatti hospitalizációk száma csökkent (15). Nemcsak önmagában a hospitalizációk, hanem a rehospitalizációk számát is érdemes figyelembe venni, a

kórházból való elbocsátást követő 60-90 napban a betegek 29%-a szorult ismét kórházi kezelésre (16), a rehospitalizációk aránya a HFrEF csoporttal megegyező (16,17).

Az epidemiológiai vizsgálatok közül többek között a Framingham Heart Study és a Rochester Epidemiology Project járult hozzá a HFpEF által érintett populáció pontosabb megismeréséhez (18). Jellemző az idősebb életkor, a női nem, a hypertonia, a koszorúér-betegség - bár kevésbé gyakori, mint HFrEF esetén-, a diabetes mellitus, az elhízás, az anaemia, a krónikus veseelégtelenség, a pitvarfibrilláció és a krónikus obstruktív tüdőbetegség gyakori előfordulása (14-16, 19, 20).

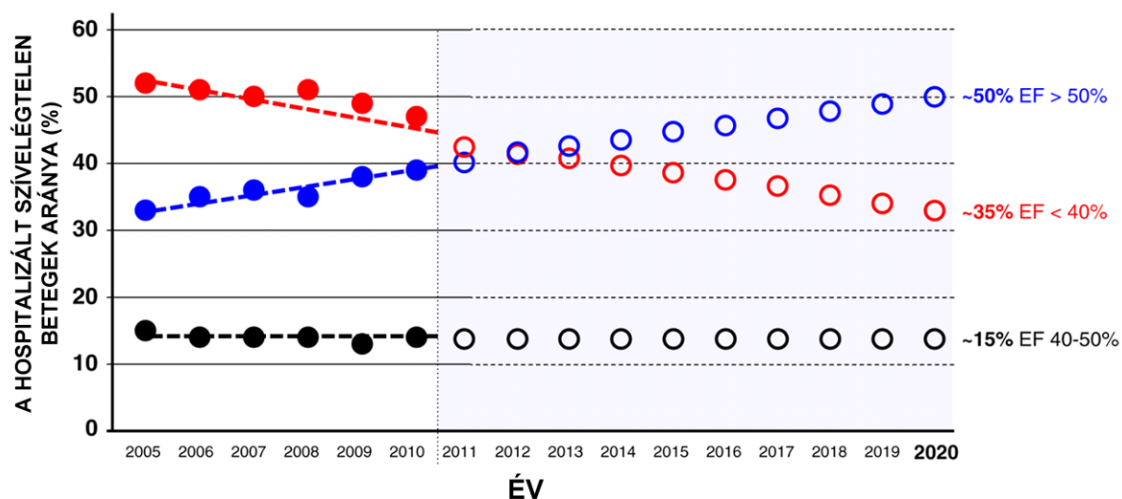
2.4 Prognózis

A HFpEF prognózisa rossz, a kórházon belüli, a rövid távú és a hosszú távú halálozási arány magas (16, 19, 21, 22), a betegek életminősége a végstádiumú vesebetegekéhez hasonlítható (15, 20, 23). Az éves halálozás 10 és 30% közé tehető (19), a szívelégtelenség miatti hospitalizáció utáni öt éves túlélés csak 35-40% (14). A betegek közel 60%-ánál cardiovascularis esemény, többnyire hirtelen szívhalál vagy szívelégtelenség a halálozás oka (24, 25).

A különböző vizsgálatok eltérő eredményekhez vezettek annak tekintetében, hogy a HFpEF betegek prognózisa hogyan viszonyul a HFrEF betegekéhez (19, 26-29). A kórházból való távozást követő időszakban a prognózis kissé kedvezőbbnek tűnik HFpEF-ben, de a hosszú távú mortalitás és az ismételt kórházi felvétel tekintetében nincs lényegi különbség a két betegcsoport között (16, 19).

Míg a csökkent ejectiós frakciójú szívelégtelenség morbiditása és mortalitása a patogenezis ismeretén alapuló hatékony terápia és megelőzés következtében csökkent (30), addig a megtartott ejectiós frakciójú szívelégtelenség prognózisa - feltehetően a hatékony terápia hiánya miatt - nem változott (14).

Amennyiben az előrevetített trendek igaznak bizonyulnak, 2020-ra a szívelégtelenség miatt hospitalizált betegek 65%-a a >40%-os ejeccións frakciójú csoportba tartozik majd. Figyelembe véve a várható élettartam növekedését, az idősödő társadalmat, a HFpEF populációban megfigyelt komorbiditások egyre gyakoribbá válását, illetve, hogy bizonyítékokon alapuló, hatékony terápia egyelőre nem áll rendelkezésre a HFpEF kezelésére, a kórkép pontosabb megismerése kiemelt jelentőségű (18).



1. ábra: A hospitalizált szívelégtelen betegek aránya

Forrás: Oktay AA, Rich JD, Shah SJ. (2013) The Emerging Epidemic of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Curr Heart Fail Rep*, 10: 401-10.

2.5 Patofiziológia

A patofiziológia áttekintéséhez érdemes összehasonlítani a HFrEF és a HFpEF patofiziológiáját: míg a HFrEF a szívizomsejtek elhalásával és a szívizomzat interstitiumának fibrosisával induló kórképnek tekinthető, mely fontos szisztémás - neurohormonális - komponenssel is rendelkezik; addig a HFpEF inkább szisztémás betegségnek tűnik, melyet a rizikótényezők és társbetegségek váltanak ki. Az arra hajlamos egyéneknél ez szívelégtelenség tüneteinek kifejlődéséhez vezet a szív és az erek compliance-ének és alkalmazkodóképességének csökkenésén keresztül (31).

Komoly vitát váltott ki az a kérdés, hogy a HFpEF valóban önálló entitás-e vagy csak a komorbiditások következményeként kialakuló eltérések kombinációja (32, 33). Mohammed és munkacsoportja azonban igazolta, hogy a HFpEF-ben megfigyelhető cardiovascularis strukturális és funkcionális eltérések kifejezettebbek annál, mint amit önmagukban a társbetegségek okozhatnának, a kórkép alapjául tehát betegségspecifikus eltérések szolgálnak (32).

A HFpEF-hez vezető társbetegségek - hypertonia, diabetes mellitus, elhízás, krónikus veseelégtelenség - közül a hypertonia áll leggyakrabban, az esetek 78-88%-ában a háttérben (31, 34, 35). A kórkép első leírói, Topol és munkacsoportja, 1985-ben mint az „idősek körében előforduló hypertensiv hypertrophiás cardiomyopathia” jellemezte a betegséget (36). A hypertoniás szívbetegségből HFpEF-be való átmenetet progresszív bal kamra hypertrophia, a bal kamra diastolés funkció és a pitvari funkció romlása jellemzi (37). A koncentrikus bal kamra hypertrophia kiváltó okaként szerepelhet a fokozott systolés falfeszülés, amely a hypertoniás betegekben az aorta impedancia emelkedés vagy az életkor előrehaladtával az arteria elaszticitás csökkenésének következménye lehet (38).

Jelenleg a HFpEF kialakulását számos patofiziológiai folyamat összetett interakciójával magyarázzák - ide tartozik a diastolés dysfunctio, a longitudinalis bal kamra systolés dysfunctio, a pulmonalis hypertonia, a kóros terhelés indukálta vasodilatatio, a kóros ventricularis-arterialis és ventricularis-atrialis coupling, a kronotróp inkompetencia és az extracardialis volumen túlterhelés (18).

2.5.1 A nitrogén-monoxid (NO) - szolubilis guanilát-cikláz (sGC) - ciklikus guanozin- monofoszfát (cGMP) - protein-kináz G (PKG) jelátviteli út vonal

A HFpEF patomechanizmusában fontos szerepet játszik az NO (nitrogén-monoxid) - szolubilis guanilát-cikláz (sGC) - ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) - protein-kináz G (PKG) jelátviteli út vonal. Az endothelből származó simaizom relaxáns NO

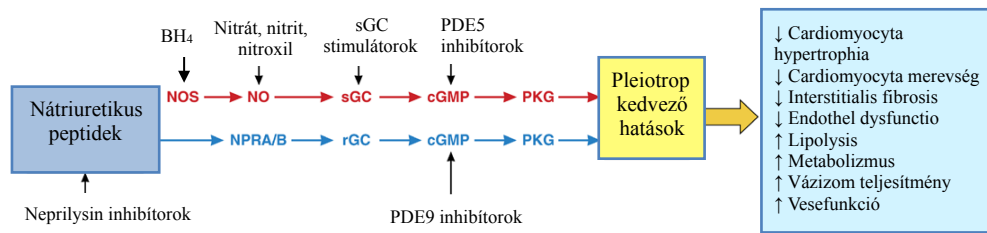
központi szerepet tölt be a cardiovascularis rendszer működésében (39). Az NO szintézise L-argininből történik a nitrogén-monoxid-szintáz (NOS) enzim segítségével. az NO szabályozza egyrészt a sarcoplasmás retikulum Ca^{2+} -ATP-áz (SERCA) aktivitásán keresztül a Ca^{2+} visszavételt a sarcoplasmás reticulumba és az inotrópiát (40), másrészt a ryanodin receptorokon keresztül a contractilitást (41).

Az NO emellett korábbi bal kamrai relaxációt idézhet elő és csökkenti a végdiastolés nyomást (42) az sGC receptorokon keresztül, melyek a guanozin-5-trifoszfát - cGMP átalakulásért felelősek (43).

A cGMP az endothel, az érfali simaizomsejtek és a cardiomyocyták működéséhez nélkülözhetetlen second messenger, mely kation csatornákon, cGMP-függő protein-kinázokon és cGMP által szabályozott foszfodiészterázokon keresztül fejti ki hatását (31, 44). A cGMP képződhet a guanilat-cikláz receptor nátriuretikus peptidek által történő stimulációján keresztül is (45).

A myocardialis cGMP jelátviteli utakat (46) a 2. ábra mutatja.

Gyulladás, illetve oxidatív stressz hatására egyrészt az NO reagál a szuperoxid gyökkel (O_2^-), ami peroxinitrit (ONOO^-) képződéséhez vezet, másrészt az endothelialis nitrogén-monoxid-szintáz (eNOS) enzim szétkapcsolódik és O_2^- termelődik (47). Az oxidatív/nitrozatív stressz és a ONOO^- hatására oxidálódik az sGC, amely a hemo csoport elvesztéséhez és így az sGC funkciójának károsodásához vezet. Az NO-ra adott válaszkészség így elveszik és gátlódik a cGMP képződése (48).



2. ábra: A myocardialis cGMP jelátviteli utak: a nitrogén-monoxid-szintáz (NOS) által termelt NO stimulálja a szolubilis guanilát-cikláz (sGC), amely ciklikus guanozin-monofoszfátot (cGMP) termel, ez aktiválja a protein-kináz G-t (PKG). A nátriuretikus peptidek kapcsolódnak a nátriuretikus peptid receptor A/B-hez (NPR A/B), ez stimulálja a guanilát-cikláz receptort (rGC) a cGMP termelésre, ami aktiválja a PKG-t.

A myocardialis cGMP jelátviteli utat befolyásoló vegyületek: a tetrahydrobiopterin (BH₄), a nitrát, a nitrit, nitroxil, az sGC stimulátorok és a foszfodiészteráz 5 (PDE5) inhibitorok a NOS - NO - sGC -cGMP - PKG jelátviteli utat, a neprilysin inhibitorok és a foszfodiészteráz 9 (PDE9) inhibitorok a nátriuretikus peptidek - NPR A/B -rGC - cGMP - PKG jelátviteli utat befolyásolják

Forrás: Shah SJ, Kitzman DW, Borlaug BA, van Heerebeek L, Zile MR, Kass DA, Paulus WJ. (2016) Phenotype-Specific Treatment of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Multiorgan Roadmap. *Circulation*, 134: 73-90. után módosítva

2.5.2 Endothel dysfunctio

A HFpEF kialakulásában oki szerepe lehet a perifériás endothel dysfunctiónak (49). Az érintett, dysfunctionális endothel közelében elhelyezkedő cardiomyocytákban a nitrozatív/oxidatív stressz következtében kialakuló alacsony NO biohasznosíthatóság csökkent cGMP termeléshez vezet. Az eredmény alacsony PKG aktivitás a myocardiumban, mely számos egyéb hatás mellett (pl. fibrosis, simaizomsejt-proliferáció, stb.) hypertrophiát és fokozott izomfal merevséget eredményez (31, 50,

51). HFpEF betegekből származó szívizom mintákban mind az alacsony cGMP tartalom, mind a csökkent PKG aktivitás igazolódott (50).

2.5.3 A myocardialis NOS szétkapcsolódás következtében felerősödő oxidatív stressz

Szintén fontos szerepet játszik a patomechanizmusban a myocardialis NOS szétkapcsolódás következtében felerősödő oxidatív stressz. A NOS szétkapcsolódás fő oka az enzim kofaktorának, a tetrahydrobiopterinnek (BH₄) az oxidatív depléciója (52). Hypertóniás HFpEF állatmodellben a BH₄ adása visszafordította a bal kamra hypertrophiát, a fibrosist és a diastolés dysfunctiót, ugyanakkor a csak vérnyomáscsökkentő hatású hydralazinnal vagy a NOS szétkapcsolódást nem befolyásoló nem specifikus antioxidáns Tempollal és tetrahydroneopterinnel nem lehetett ezt a hatást elérni. Tehát a bal kamra hypertrophia, fibrosis és diastolés dysfunctio kialakulását nem általában a magas vérnyomás vagy az oxidatív stressz okozza, hanem feltehetően a myocardialis NOS szétkapcsolódás következménye lehet (53, 54, 55). A NOS szétkapcsolódás következtében létrejövő oxidatív stressz fontos szerepet játszik a hypertóniás szívbetegségből HFpEF-be való átmenetben (53, 54, 56, 57).

2.5.4 A myocardiumban megfigyelhető eltérések

A megtartott ejectiósi frakciójú szívelégtelen vagy diastolés dysfunctióval bíró betegekből nyert szívizomszövet-minták vizsgálata során a cardiomyocyták hypertrophiája (58), interstitialis fibrosis (50, 58-60), inkomplett relaxáció (61) és fokozott cardiomyocytá merevség (50, 58, 59, 62) jelenléte került leírásra. Szintén megfigyelték a myocardiumon belüli kóros jelátvitelt, melyre az adhézións molekulákat expresszáló endothel sejtek, a profibrotikus transforming growth factor β -t (TGF- β)

szekretáló gyulladásoos sejtek (63) és a nitrotirozin tartalmat növelő nitrozatív stressz (50, 63) jelenlétéből következtek.

Az extracelluláris mátrixban bekövetkező változások nagyrészt a megnövekedett kollagén volumen frakciónak, az 1. típusú, merev kollagén relatív túlsúlyának és a kollagén keresztkötések felszaporodásának tulajdoníthatók (60, 63).

2.5.5 A gyulladás szerepe

A gyulladásoos markerek [pl. interleukin-6 (IL-6) és 8 (IL-8), tumor necrosis factor- α (TNF- α)], az endothel által termelt adhéziós molekulák (intracelluláris adhéziós molekula-1, vascularis adhéziós molekula-1) és az extracelluláris mátrix turnover markereinek [mátrix metalloproteináz-9 (MMP-9), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP1)] szintje emelkedett HFpEF-ben (64, 65). A proinflammatorikus állapot elősegíti a keringő leukocyták aktivációját, adhézióját és subendothelialis migrációját egyrészt a vascular cell adhesion molecule (VCAM) és az E-selectin expressziójának fokozása, másrészt a nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát-oxidáz (NADPH-oxidáz) aktivitásának növelése által. A következmény a kiserek endothel sejtjeiben a reaktív oxigénszármazékok fokozott termelése (31, 63, 66, 67).

2.5.6 A HFpEF és a társbetegségek kapcsolata

Paulus és munkatársai világítottak rá a társbetegségek és a HFpEF kialakulása közötti lehetséges összefüggésre. A HFpEF kialakulásában az események alábbi láncolatát feltételezik: 1) a HFpEF háttérében leggyakrabban álló társbetegségek - a hipertonia, a diabetes mellitus, az elhízás és a krónikus veseelégtelenség - szisztémás proinflammatorikus, prothrombotikus állapothoz, illetve oxidatív stresszhez vezetnek; 2) ennek következtében a koszorúér-rendszer kisereiben az endothel sejtek reaktív oxigénszármazékokat (ROS) kezdenek termelni, korlátozva az NO

biohasznosíthatóságát a környező cardiomyocyták számára; 3) a korlátozott NO biohasznosíthatóság csökkenti a PKG aktivitást a cardiomyocytákban; 4) az alacsony PKG aktivitás felszabadítja a cardiomyocyták hypertrophiájának gátlását, így koncentrikus bal kamrai remodelling-hez és a cardiomyocytá merevség fokozódásához vezet a titin hipofoszforylációján keresztül; 5) a merev cardiomyocyták és a myofibroblastok fokozott kollagén depozíciója diastolés bal kamra dysfunctióhoz vezet (31).

A myocardium merevségének meghatározásában az óriásprotein titin fontos szerepet tölt be foszforilációval vagy oxidációval járó folyamatokon keresztül (68). A titin két irányba mozgó rugóhoz hasonlóan a kora diastolés recoil-ért és a késő diastolés disztenzibilitásért felelős (69). A diastolés dysfunctio nem megfelelő bal pitvari ürüléshez és bal kamra telődéshez vezet, terheléskor nem elégséges a perctérfogat növekedés és emelkedik a kisvérköri nyomás (7). A titin foszforilációja például a protein-kináz A (PKA) által, a PKG-n keresztül vagy béta-adrenerg stimuláció útján következhet be. A PKG aktivációjához NO vagy nátriuretikus peptid szükséges (lásd 2. ábra) (48). Állatkísérletes adatok alapján a PKA és a PKG közül a PKG útvonal tűnik kiemelt jelentőségűnek HFpEF-ben (70). Ezt humán adatok is alátámasztják, van Heerebeek és munkacsoportja a bal kamrai myocardiumban csökkent PKG aktivitást és cGMP koncentrációt mutatott ki megtartott ejectió frakciójú szívelégtelen betegekben, melyet nitrozatív stresszre utaló emelkedett myocardialis nitrotirozin szint kísért (50).

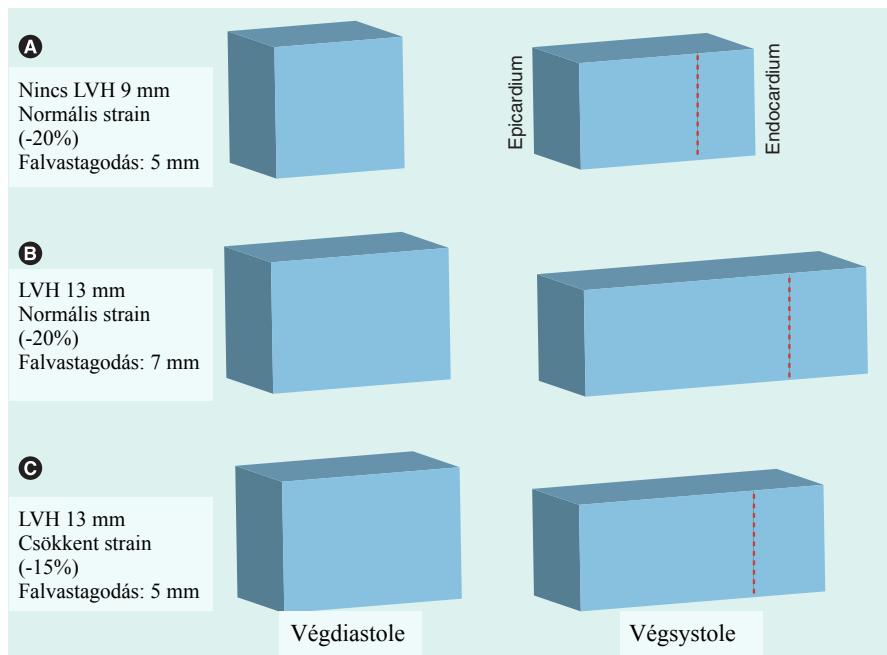
2.5.7 Proteotoxicitás

A cGMP-PKG jelátviteli útvonal mellett a legújabb vizsgálatok a proteotoxicitás jelentőségét is felvetik, mely része az öregedés folyamatának. A jelenség alapját a minőségellenőrző és/vagy hibajavító folyamatok nem megfelelő működése képezi, melyek a gyulladás és az oxidatív stressz következtében károsodott fehérjék kijavítását szolgálnák (71, 72).

2.6 Az enyhén-mérsékelt csökkenő systolés bal kamra funkció ellenére megtartott ejectiós frakció patomechanizmusa

Mind megtartott ejectiós frakciójú hypertóniás betegekben (73-75) - mely a HFpEF prekursor állapotának tekinthető -, mind HFpEF esetén leírták a bal kamra systolés funkció csökkenését (76-78). A csökkenő systolés funkció pontos mechanizmusát magyarázó elméletek azonban ellentmondásosak. A csökkenő longitudinális bal kamrai systolés strain (S), amely a szívizomrost kezdeti állapotára normalizált deformációját jelenti ($L-L_0/L_0$, ahol L_0 a szívizomrost kezdeti, L a szívizomrost deformáció utáni hosszúsága), tekintetében a különböző munkacsoportok egyetértenek (73-75, 77, 78), azonban a radialis és a circumferencialis S-t illetően eltérő álláspontokat képviselnek. Egyes szerzők a megtartott ejectiós frakciót a csökkenő longitudinális bal kamrai strain mellett a circumferencialis és/vagy radialis funkció kompenzatorikus növekedésének tulajdonítják (76, 79-81). Enyhén hypertóniás, tünetmentes betegekben fokozott radialis S-t mutattak ki, azonban a tünetek megjelenésével, a bal kamra hypertrophia progressziójával és a szívelégtelenség előrehaladtával párhuzamosan a radialis S csökken (82, 83). Hypertóniás, normál ejectiós frakciójú betegekben, akiknél már megjelent a koncentrikus bal kamra hypertrophia, leírták mind a longitudinális, mind a circumferencialis, mind pedig a radialis S csökkenését (84).

MacIver a bal kamra contractio matematikai modellje alapján feltételezte, hogy HFpEF-ben a normális EF-ért nem a csökkenő longitudinális systolés bal kamra funkciót kompenzáló fokozott radialis systolés funkció a felelős, ahogy ezt eddig gondolták, hanem a kompenzáló mechanizmusként létrejövő bal kamra hypertrophia következtében kialakuló megtartott abszolút radialis falvastagodás (3. ábra). Ez alapján MacIver és Townsend azt feltételezte, hogy a HFpEF-ben gyakran kimutatható diastolés bal kamra dysfunctio jelenléte nem elengedhetetlen tényező a HFpEF patomechanizmusában (85). A bal kamra falvastagodása függ egyrészt a myocardium rövidülésétől, másrészt pedig a végdiastolés falvastagságtól. A szívizomrostok nem komprimálhatók, így a longitudinális és a circumferencialis rövidülés mellett radialis vastagodás kell hogy jelen legyen.



3. ábra: A MacIver hypothesis magyarázata. Az ábra legfelső A paneljében normális globális longitudinális és circumferenciális strain (-20%) (a - előjel rövidülést jelent) mellett, a normális falvastagságú (9 mm) bal kamra abszolút radialis falvastagodása 5 mm. Az ábra B panelje egy hypertrophiás (13 mm-es) bal kamra megnövekedett abszolút radialis falvastagodását (7 mm) illusztrálja normális globális longitudinális és circumferenciális strain (-20%) mellett. Mivel a globális longitudinális és circumferenciális strain az A és B panelben ábrázolt szívizomban normális, és egymással megegyezik, a relatív falvastagodás, ami megfelel a radialis strainnek ($L_t - L_0 / L_0$), is normális és megegyezik a két panelben ($14 - 9 / 9 = 0,56$ közel $= 20 - 13 / 13 = 0,54$), mivel a szívizomrostok nem komprimálhatók. Az ábra alsó C panelje hypertrophiás szívet (13 mm) ábrázol csökkent globális longitudinális és circumferenciális strain (-15%) mellett, ennek megfelelően a relatív falvastagodásnak (radialis strain) is csökkennie ($18 - 13 / 13 = 0,38$) kell, de ennek ellenére az abszolút radialis falvastagodás (5 mm) az A panelben ábrázolthoz képest megtartott, változatlan marad. LVH: bal kamra hypertrophia (left ventricular hypertrophy)

Forrás: MacIver DH. (2010) Current controversies in heart failure with a preserved ejection fraction. *Future Cardiol*, 6: 97-111.

Ezért a csökkent longitudinális és circumferencialis rövidülésnek csökkent radialis falvastagodással kell együtt járnia. HFpEF esetén, ahol bal kamra hypertrophia áll fenn, a csökkent longitudinális, circumferencialis és radialis S mellett megtartott ejectió frakció paradoxonát a fokozott végdiastolés falvastagság következtében létrejövő megtartott radialis abszolút falvastagodás oldja fel (86). A korábbi vizsgálatok eredményei, melyekben myocardiális rövidülést mértek, szintén összhangban állnak MacIver és Townsend hypothesisével (73, 87).

2.7 Genetikai háttér

Mind az esszenciális hypertonia, mind a bal kamra diastolés funkció részben genetikailag sok gén által meghatározott. Az egyes gének önmagukban kismértékű hatást fejtenek ki (88, 89). A vérnyomás-ingadozások 30%-a (90), más szerzők szerint akár 30-60%-a (91) genetikai befolyás alatt áll.

Az oxidatív stresszt, a BH₄ metabolizmust és a NOS működését befolyásoló génpolimorfizmusok is ismertek. A BH₄ de novo bioszintézise guanozin-trifoszfáttól (GTP) történik, a lépés sebesség meghatározó (rate-limiting) enzime a GTP ciklohidroláz-1 (GTPCH-1), melyet a GCH1 gén kódol (92). A GTPCH-1 enzim katalizálja a GTP átalakítását dihydroneopterin-trifoszfáttá, melyet a 6-piruvóil-tetrahydropterin-szintáz és a sepiapterin-reduktáz alakít tovább BH₄-né (93). Az NO-szintázban a dihydrobiopterinné (BH₂) oxidált BH₄ visszaalakításáért a pterin-karbinolamin-dehidratáz és a quinoid-dihydropteridin-reduktáz enzim felelős (94).

A GCH1 gén igen sokféle polimorfizmusa ismert (95). Az rs841 C>T, az rs3783641 A>T, az rs10483639 C>G és az rs8007267 G>A single nucleotid polimorfizmusok (SNP) szoros kapcsolatban állnak egymással, fájdalommal szemben védő hatású haplotípusnak is nevezik őket. Az SNP-k minor alléljai, azaz a két allél közül a ritkább allélok, csökkent fájdalom iránti érzékenységgel, enyhén emelkedett vérnyomással és szívfrekvenciával járnak a csökkent BH₄ termelés következtében, mely csökkent

endothel funkcióhoz és fokozott vascularis szuperoxid anion termeléshez vezet. A fenti hatások többnyire olyan szituációkban jelentkeznek, amikor a GTPCH-1 enzim upregulációja következtében a BH₄ termelésnek fokozódnia kellene. A GTPCH-1 enzim upregulációja előfordulhat például gyulladás helyén, sérült neuronokban, emelkedett vérnyomásnak, koleszterinszintnek vagy egyéb celluláris károsító tényezőknek kitett erekben (94).

Az oxidatív stressz elleni védelemben fontos enzim az eNOS, melynek hatására L-argininből oxigén, BH₄, NADPH, flavin-adenin-dinukleotid (FAD), hem, kalcium és kalmodulin segítségével NO és L-citrullin szintetizálódik. Az eNOS gén rs1799983 G>T SNP-je a fehérje 298glutamát(Glu)/aszpartát(Asp) cseréjéhez vezet. A 298Asp variánsról leírták, hogy fogékonyabb az intracelluláris proteolitikus hasítással szemben a 298Glu variánsnál és csökkent eNOS aktivitással, illetve NO termeléssel jár (96, 97). Más szerzők azonban ezt nem erősítették meg (98). Az enzim rs1799983 G>T SNP-jének minor allél variánsa endothel dysfunctióval és a koszorúér-betegség fokozott rizikójával párosulhat (99-101).

Szintén az oxidatív stressz elleni védelem fontos eleme a mangán-szuperoxid-dizmutáz (MnSOD) enzim, melyet a SOD2 gén kódol. Az enzim a O₂⁻ átalakítását katalizálja hidrogén-peroxiddá (102). Az rs4880 T>C SNP a 16-os kodonon a valin (Val, GTT) alaninnal (Ala, GCT) való helyettesítését okozza. Az alanint tartalmazó MnSOD variáns α -helikális mitokondriális céldomaint tartalmaz, míg a valint tartalmazó variáns β -lemez konformációjú. Az alanint tartalmazó variáns mitokondriumba történő transzportja hatékonyabb, így az oxidatív stresszel szembeni védőhatása is kifejezettebb. A homozigóta Ala/Ala genotípus MnSOD aktivitása 30-40%-kal nagyobb, mint a Val/Val genotípusé (102-104). Az alanin variáns a koszorúér-betegség, a szívinfarctus és az atherosclerosis csökkent rizikójával jár együtt, míg a Val/Val genotípus a koszorúér-betegség és a vasospasticus angina független rizikótényezője (103-105).

2.8 A HFpEF diagnózisa

A HFpEF diagnózisának felállítása sokszor nem egyszerű, a kritériumok a szívelégtelenség típusos tüneteinek és jeleinek megléte, $\geq 50\%$ -os bal kamrai ejectiós frakció, emelkedett nátriuretikus peptid szintek [BNP (B-típusú nátriuretikus peptid) >35 pg/ml és/vagy NT-proBNP (N-terminal-proBNP) >125 pg/ml], valamint a szívelégtelenség háttérében álló funkcionális és strukturális eltérés (például bal kamra diastolés dysfunctio, bal kamra hypertrophia, bal pitvar megnagyobbodás) kimutatása a szívben objektív vizsgálómódszerrel, amely csökkent perctérfogathoz és/vagy emelkedett intracardialis nyomáshoz vezet nyugalomban vagy terhelés során. Nem egyértelműen felállítható diagnózis esetén terheléses vizsgálat vagy invazív bal kamrai töltőnyomás mérés jön szóba (4).

Fontos kérdés, hogy mit tekintünk megtartott ejectiós frakciónak. A különböző HFpEF vizsgálatokban széles tartományban mozgott a megtartottnak tekintett ejectiós frakció határa, a $\geq 40\%$ -tól a $\geq 55\%$ -ig (106, 107). Bár az ejectiós frakció HFrEF-ben jelentős prognosztikai tényező, 40-45% felett már a prognosztikus értéke csökken (27, 108). Az, hogy a különböző vizsgálatok eltérő EF küszöbértékei mennyiben befolyásolták az eredményeket, egyelőre nem tisztázott.

Az EF $\geq 50\%$ definíciót támasztja alá a TOPCAT (Treatment of Preserved Cardiac Function Heart Failure with an Aldosterone Antagonist) vizsgálat alsó csoport analízise is, ahol igazolódott, hogy a spironolacton leginkább az alsó EF tartományba eső betegeknél bizonyult hatékonynak, akik tulajdonképpen a meghatározás ellenére HFrEF betegeknél tekinthetők (109).

A 2016-ban megjelent, a szívelégtelenség diagnózisára és kezelésére vonatkozó, az Európai Kardiológus Társaság által kiadott irányelv az EF $\geq 50\%$ meghatározást alkalmazza (4).

2.9 Terápiás lehetőségek

A csökkent ejectiósi frakciójú szívelégtelenséggel ellentétben - melynek kezelése az elmúlt évtizedekben jelentős fejlődésen ment keresztül -, HFpEF-ben egyelőre nem ismert olyan terápia, mely egyértelműen csökkentené a morbiditást vagy mortalitást. Pangás jelenléte esetén a vízhajtók javíthatják a tüneteket. Fontos a társbetegségek megfelelő kezelése (4).

2.9.1 Életmód

Az elhízás gyulladás és oxidatív stressz kialakulásához vezethet az NO - sGC - cGMP - PKG útvonal csökkent működésével és a titin hipofoszforilációjával. Az egészséges táplálkozás és a testmozgás csökkenti a gyulladást, fokozza a mitokondriális funkciót, csökkenti a reaktív oxigénszármazékok termelését, fokozza az NO biohasznosíthatóságát és javítja a microvasculáris funkciót, így kedvező hatást fejthet ki HFpEF-ben (110). A fogyás és a testmozgás emellett az esetleges társbetegségekre - pl. hypertonia, diabetes mellitus - is kedvező hatással lehet.

Ígéretesnek tűnik az Ex-DHF (Exercise training in Diastolic Heart Failure) vizsgálat, mely során a tréningen átesett betegeknél pitvari reverz remodelling-et és a bal kamra diastolés funkciójának javulását figyelték meg a terhelési kapacitás és az életminőség fizikai paramétereinek javulásával párhuzamosan (111).

A SECRET (Study of the Effect of Caloric Restriction and Exercise Training in Patients With Heart Failure and a Normal Ejection Fraction) vizsgálatban idős, obes betegekben vizsgálták a diéta és a testmozgás hatását a terhelési kapacitásra és az életminőségre. A terhelési kapacitást jellemző maximális oxigénfogyasztás nőtt mind a diéta, mind a mozgás, mind pedig a kettő kombinációjának hatására. A vizsgálatban használt kérdőív által becsült életminőség egyik vizsgálati csoportban sem tért el szignifikánsan a kontrollcsoporttól (112).

Az OptimEx-Clin (Optimizing Exercise Training in Prevention and Treatment of Diastolic Heart Failure) vizsgálat, mely jelenleg is zajlik, a fizikai tréning legoptimálisabb módját keresi.

2.9.2 Béta-blokkolók

A béta-blokkolók a diastolés telődés idejét meghosszabbító képességük miatt kedvező terápiás lehetőségnek tűntek, azonban egyértelmű tünetjavító hatásuk nem igazolódott (4). Sinus ritmusban lévő betegek esetén felmerült, hogy a nebivolol csökkentheti a szívelégtelenség miatti hospitalizációk számát, pitvarfibrilláció esetén azonban a béta-blokkolók nem tűnnek hatékonynak. Idős szívelégtelen betegekben az ejectiós frakciótól függetlenül a nebivolol csökkentette a halál és a cardiovascularis halálozás kombinált végpontját (113-115).

2.9.3 A renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer gátlói

A renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer gátlóinak terápiás szerepe a hypertoniával, fibrosissal és folyadékgyengésséggel való kapcsolatuk miatt merült fel, a tünetjavító hatás tekintetében azonban nincsenek egyértelmű bizonyítékok, mortalitáscsökkentő hatás nem igazolódott (4). Sinus ritmusban lévő betegekben a candesartan (106) és a spironolacton (116) csökkentheti a szívelégtelenség miatti hospitalizációk számát, pitvarfibrilláció esetén az ACE-gátlók és az angiotenzin II receptor blokkolók (ARB) vonatkozásában az adatok nem egyértelműek (117, 118).

A mineralocorticoid receptorok aldoszteron általi aktivációja többek között nátrium retenció, kálium vesztés, endothel dysfunctio, az erekben fellépő gyulladás, fibrosis és hypertrophia útján járul hozzá a szívelégtelenség patofiziológiájához az ejectiós frakciótól függetlenül. Az aldoszteron-antagonisták a fentiek alapján elméletileg

ígéretes terápiás lehetőséget jelenthetnének a HFpEF kezelésében, azonban a lehetséges szerepük a kezelésben egyelőre kérdéses.

Az Aldo-DHF (Aldosterone Receptor Blockade in Diastolic Heart Failure) vizsgálatban a spironolacton hatását placebóval hasonlították össze, a spironolacton javította a bal kamra diastolés dysfunctiót, reverz remodelling-et idézett elő és javította a neuroendocrin aktivációt, azonban a maximális terhelési kapacitást, a tüneteket vagy az életminőséget nem befolyásolta (119).

A TOPCAT vizsgálat szintén a spironolacton lehetséges terápiás szerepét próbálta bizonyítani, azonban nem csökkent a cardiovascularis halálozásból, abortált szívleállásból vagy szívelégtelenség miatti hospitalizációból álló primer összetett végpont incidenciája (116). Az eredmények részletes elemzése azonban jelentős regionális különbségekre mutatott rá. Az orosz és grúz populáció jellemzői eltértek az Észak- és Dél-Amerikából bevásztott betegekétől, és míg az orosz/grúz résztvevők esetén a spironolacton nem befolyásolta egyik végpontot sem, addig az amerikai kontinensről bevásztott betegek körében a cardiovascularis halálozás és a szívelégtelenség miatti hospitalizáció szignifikánsan csökkent (120).

További érdekes adatokat szolgáltat a Solomon és munkacsoportja által készített utólagos elemzés, amelyben az ejectiós frakció befolyásoló szerepét vizsgálták a spironolacton hatékonyságára. Az ejectiós frakció függvényében lényeges különbségeket találtak a betegek jellemzői között - a magasabb EF tartományba esők idősebbek, nagyobb százalékban nők, kevesebb a myocardiális infarctust elszenvedett közöttük és több a hypertoniás, illetve diabeteses beteg. A spironolacton hatása is különbözött az EF skála eltérő tartományaiban - leginkább a tartomány alsó részén (EF <50% esetében) figyeltek meg kedvező hatást, ami azt jelenti, hogy a spironolacton kezelés valójában nem HFpEF-ben, hanem HFrEF-ben hatékony (109).

Az aldosteron-antagonisták indikációja tehát felmerül, azonban a betegkiválasztás még további kutatások tárgyát képezi.

Egy kis esetszámú vizsgálatban (RAAM-PEF: Randomized Aldosterone Antagonism in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction) az eplerenon bár a terhelési kapacitást nem növelte, a kollagén turnover markereit csökkentette és a diastolés funkciót javította (121).

Kampourides és munkacsoportja ST elevatiós myocardialis infarctuson átesett EF $\geq 40\%$ -kal bíró betegek körében vizsgálta az eplerenon hatását. A cardiovascularis halálozás, a nem fatális újabb myocardialis infarctus, az instabil angina miatti hospitalizáció, a szívelégtelenség dekompenzációja és a hyperkalaemia tekintetében nem adódott különbség az eplerenont szedők és nem szedők között. A vizsgálat kezdetén alacsony MMP-9 szinttel bíró betegek körében az eplerenon jobb prognózissal társult (122).

2.9.4 Digoxin

A digoxin kedvező hatást fejthet ki a neurohormonális aktiváció csökkentésén, a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer gátlásán és a nátrium visszaszívódás csökkentésén keresztül. Sinus ritmusban lévő betegek esetén felmerült, hogy a digoxin csökkentheti a szívelégtelenség miatti hospitalizációk számát, azonban a Digitalis Investigation Group vizsgálat során nem mutattak ki hatást a mortalitásra, a cardiovascularis vagy a bármilyen okból bekövetkező hospitalizációk számára (123).

2.9.5 A NOS - NO - sGC- cGMP - PKG és a nátriuretikus peptidek - NPRA/B - rGC - cGMP - PKG jelátviteli utakat befolyásoló szerek

A NOS - NO - sGC- cGMP - PKG és a nátriuretikus peptidek - NPRA/B - rGC - cGMP - PKG jelátviteli utakat befolyásoló szerek támadáspontjait a 2. ábra mutatja be.

2.9.5.1 Tetrahydrobiopterin

A NOS kofaktor BH₄-nel végzett állatkísérletes vizsgálatok ígéretesnek bizonyultak, a genetikai vagy farmakológiai úton történt BH₄ pótlás számos vizsgálatban javította a vascularis funkciót (124). Hypertoniás HFpEF állatmodellekben a BH₄ visszafordította a bal kamra hypertrophiát, a fibrosist és a diastolés dysfunctiót. A pusztán antihypertensív hatású hydralazin vagy a NOS szétkapcsolódásra nem ható antioxidáns Tempol és tetrahydroneopterin esetén a fenti kedvező hatások nem jelentkeztek. Az állatkísérletes eredmények elegánsan alátámasztották, hogy a HFpEF kialakulásáért specifikusan a myocardialis NOS szétkapcsolódás (amelynek fő oka a NOS kofaktor BH₄ oxidatív depléciója) és nem a hypertonia vagy általában az oxidatív stressz a felelős (53-55). A BH₄ szobahőmérsékleten instabil, ezért újabban kifejlesztették a szobahőmérsékleten stabilabb sapropterin-dihidrokloridot orális BH₄ terápia céljára, melyet a Food and Drug Administration (FDA) már fenilketonuria kezelésére engedélyezett - a BH₄ nemcsak a NOS-nak, hanem más enzimeknek is, mint például a fenilalanin-hidroxiláz-nak, tirozin-hidroxiláz-nak és triptofán-hidroxiláz-nak is kofaktora. A készítmény vérnyomáscsökkentő hatását már egy nem randomizált, nem placebo kontrollált humán vizsgálatban igazolták (52, 125).

A BH₄ esetleges humán terápias alkalmazása előtt még további ismeretekre van szükség a BH₄ és a NOS enzimek interakciójáról az NO-ROS jelátviteli úttal az endothel- és a gyulladós sejtekben (53, 54, 124).

2.9.5.2 Izoszorbid-mononitrát

Az izoszorbid mononitrát is az NO - sGC- cGMP - PKG útvonalat befolyásolja. A NEAT-HFpEF (Nitrate's Effect on Activity, Tolerance in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction) vizsgálatban növekvő dózisban adott izoszorbid-mononitrát hatását hasonlították össze placebóval. A vizsgálati szert kapó csoport egyik dózis mellett sem

volt aktívabb, tapasztalt jobb életminőséget vagy ért el jobb szubmaximális terhelési kapacitást, mint a placebo ág (126).

2.9.5.3 Nátrium-nitrit

A nátrium-nitrit NO donorként serkenti az NO - sGC- cGMP - PKG útvonalat. Az “Acute Effects of Inhaled Sodium Nitrite on Cardiovascular Hemodynamics in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction” vizsgálatban nátrium-nitrit adását követően a terhelés közbeni pulmonalis kapilláris éknyomás szignifikánsan javult, a bal kamrai töltőnyomás 37%-kal csökkent. Javult a terhelés közbeni perctérfogat rezerv, csökkentek az arteria pulmonalis nyomásértékek és javult a szisztémás vasodilatator rezerv. Terhelés alatt a bal kamrai stroke work - a bal kamra systolés és diastolés teljesítményét jellemző érték - nagyobb mértékben nőtt nátrium-nitrit terápia mellett. A biztató eredmények alapján a vegyülettel további vizsgálatok javasoltak (127).

2.9.5.4 Nitroxil

A nitroxil (HNO), az NO redukált formája, a cGMP koncentráció szabályozásában vesz részt. Stabilabb és jobban tolerálható az NO-nál. Állatkísérletes modellben a nitroxil növelte a cGMP koncentrációt és gátolta a cardiomyocyták hypertrophiáját, illetve a NADPH oxidázokat (128). HFpEF-ben biztató kezdeti eredmények láttak napvilágot, azonban a vegyület hatása HFpEF-ben még nem ismert (129).

2.9.5.5 sGC aktivátorok és stimulátorok

Bár a preklinikai vizsgálatok alapján a direkt sGC aktivátor cinaciguat ígéretes szernek bizonyult (130), a vegyülettel végzett fázis II humán vizsgálatot hypotonia

miatt idő előtt le kellett állítani. A molekula a dyspnoe és a szívindex javításában is kudarcot vallott (131).

A szájon át szedhető sGC stimulátor riociguat kedvezően befolyásolta a pulmonalis arteriás hypertóniában, illetve krónikus thromboemboliás pulmonalis hypertóniában szenvedő betegek tüneteit, terhelési kapacitását, pulmonalis vascularis rezisztenciáját és NT-proBNP szintjét (132, 133). Systolés bal kamra dysfunctio által kiváltott pulmonalis hypertóniás betegek is jól tolerálták, emellett a tüneteik, a szívindexük és a pulmonalis és szisztémás vascularis rezisztenciájuk is javult (134).

A per os szedhető sGC stimulátor vericiguat hatását a SOCRATES (SOluble guanylate Cyclase stimulator in heArT failurE Study) program SOCRATES-PRESERVED ága vizsgálja (135). A SOCRATES-REDUCED ágon, a HF_rEF betegcsoportban a vericiguat nem érte el az NT-proBNP csökkentésének primer végpontját (136).

2.9.5.6 Foszfodiészteráz 5 (PDE5) inhibitorok

A foszfodiészteráz 5 (PDE5) inhibitor sildenafil gátolja a cGMP lebontását és preklinikai vizsgálatok alapján úgy tűnt, hogy visszafordíthatja a kedvezőtlen strukturális és funkcionális remodelling-et (137). A RELAX (Phosphodiesterase-5 Inhibition to Improve Clinical Status and Exercise Capacity in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction) vizsgálatban azonban, melynek során a betegek 24 hétig kaptak sildenafilt vagy placebót, a PDE5 gátlás nem javította a terhelési kapacitást, a klinikai státuszt, az életminőséget, a diastolés funkciót jellemző paramétereket vagy a pulmonalis nyomásértékeket (138, 139). A sildenafil hatástalanságának oka valószínűleg az, hogy HF_pEF-ben inkább a cGMP termelésének csökkenése a probléma, és nem a cGMP fokozott lebomlása, melyet a sildenafil gátol. A sildenafilt kapó csoportban emelkedtek a biomarkerek szintjei, illetve a vesefunkció kifejezettebb romlását észlelték a placebót kapó csoporthoz képest. Az eltérések hátterében a sildenafil negatív inotróp hatása feltételezhető (139).

2.9.5.7 Neprilysin inhibitorok

Az elmúlt időszak jelentős sikere volt a HF_rEF kezelésében az ARB és neprilysin inhibitor kombináció LCZ696 (sacubitril/valsartan) (140). A szert először HF_pEF-ben alkalmazták, a fázis II PARAMOUNT (The Prospective comparison of ARNI with ARB on Management Of heart failUre with preserved ejection fracTion) vizsgálatban az LCZ696-ot a betegek jól tolerálták és a 12 hetes kezelési periódus alatt a valsartan-hoz képest szignifikánsan csökkent az NT-proBNP szint. 36 hét elteltével az LCZ696 ágon lévő betegek New York Heart Association (NYHA) tünetei javultak és a bal pitvari térfogatuk csökkent az ARB-vel kezelt csoporthoz képest (141).

Az, hogy az LCZ696 képes-e a betegség prognózisát is javítani, a most zajló PARAGON-HF (Prospective comparison of ARni with Arb Global Outcomes in heart failure with preserved ejection fraction) vizsgálatból fog kiderülni.

2.9.5.8 Foszfodiészteráz 9A (PDE9A) inhibitorok

Nemrég a cGMP szelektív foszfodiészteráz 9A (PDE9A) expresszióját is kimutatták humán szívben, mely hypertrophia és szívelégtelenség esetén upregulálódik. A PDE9A az NO által stimulált cGMP termelés helyett inkább a nátriuretikus peptidek által stimulált cGMP termelődést szabályozza a szívizomban és az izomsejtekben. A PDE9A gátlása védő hatást fejt ki a neurohormonokra adott patológiás válasszal és a tartós nyomás-túlterheléssel szemben. Míg a foszfodiészteráz 5A (PDE5A) gátlása során aktív NOS működés szükséges, addig a PDE9A gátlása a NOS aktivitástól függetlenül tud kedvező hatást gyakorolni a szívet érintő megbetegedésekben (142). A PDE9 gátlása mint terápiás célpont felmerül tehát szívelégtelenségben (143).

2.9.6 Ranolazin

A ranolazin a késői nátrium áramot gátolja a cardiomyocytákban. Szívelégtelenségben a késői nátrium áram fokozott, ami a nátrium felhalmozódásához vezet a cardiomyocytákban, ennek következtében megváltozik a nátrium-kalcium ioncserélő csatornán az áramlás iránya és kalcium halmozódik fel a sejtekben. A fokozott diastolés kalcium tartalom gátolja a relaxációt és diastolés dysfunctióhoz vezet. A késői nátrium áram gátlásával a cél a cardiomyocytákban a nátrium felhalmozódás elkerülése és a nátrium-kalcium ioncserélő csatornán a kalcium hatékonyabb eltávolítása (144).

A RALI-DHF (RAnoLazIne for the Treatment of Diastolic Heart Failure), egy kis esetszámú vizsgálat, a ranolazin haemodinamikai paramétereit javító hatását igazolta, a relaxációs paraméterekben azonban nem mutatott változást (145).

A RAZE (Effects of Ranolazine on Exercise Capacity in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction) vizsgálat arra a kérdésre keresi a választ, hogy a ranolazin javítja-e a terhelési kapacitást (146).

2.9.7 Statinok

A statinok számos pleiotrop hatással rendelkeznek, többek között csökkentik a reaktív oxigénszármazékok termelését, fokozzák az antioxidáns védőmechanizmusokat, javítják az endothel funkciót és növelik az NO biohasznosíthatóságot. A fentiek alapján felmerült a statinok esetleges terápiás szerepe HFpEF-ben. Liu és munkatársai a publikált megfigyeléses vizsgálatok adatai alapján metaanalízist végeztek a statinok mortalitást befolyásoló hatására vonatkozóan HFpEF-ben. Megállapították, hogy a statinok szedése javíthatja a megtartott ejectiós frakciójú szívelégtelen betegek túlélését, azonban a felvetés megerősítéséhez randomizált kontrollált vizsgálatok szükségesek (147).

2.9.8 Serelaxin

A serelaxin, egy rekombináns humán relaxin-2 vegyület, számos biológiai és haemodinamikai hatással bíró vasoaktív peptid hormon. A relaxin-2 az anyai adaptációt szabályozza terhességben (148) és több olyan hatással rendelkezik, mely az akut szívelégtelenség kezelésében kedvező lehet (149, 150). Segíti az NO termelést, a mátrix metalloproteinázok termelését és a vascularis endothelialis növekedési faktor termelést, gátolja az endothelint és az angiotenzin II-t, fokozza a perctérfogatot és a vese véráramlását (151, 152).

A RELAX-AHF (RELAXin in Acute Heart Failure) vizsgálatban akut szívelégtelenség miatt hospitalizációra kerülő betegek kaptak serelaxint vagy placebót (151). A vizsgálatban résztvevők 26%-ának megtartott ejectiós frakciójú szívelégtelensége volt. A HFpEF csoport eredményei lényegében nem különböztek a teljes betegpopuláció eredményeitől, azaz a serelaxin az ő esetükben is javította a dyspnoe-t, mérsékelte a pangás tüneteit, az akut szívelégtelenség korai romlását és a hospitalizáció hosszát. A kórházból történő hazabocsátást követő ismételt kórházi felvétel aránya nem csökkent az aktív hatóanyagot kapók között, de a 180 napos cardiovascularis és összhalálozás szignifikánsan javult, és a szert a vizsgálat résztvevői jól tolerálták. A serelaxin kedvező rövid távú hatást gyakorolt a szív-, a vese- és a májkárosodás biomarkereire, mely eredmény összefüggésben lehet a jobb túléléssel (153, 154).

A serelaxin kedvező hatásának megerősítését várják a jelenleg is zajló RELAX-AHF 2 vizsgálatától (155).

2.9.9 Resveratrol

Állatkísérletekben a resveratrol, a vörösborban, bogyókban és földimogyoróban megtalálható antioxidáns, csökkentette az erekben a gyulladással járó folyamatokat, az oxidatív stresszt és javította az endothel funkciókat (156). Az eddig rendelkezésre álló

humán adatok azonban egyelőre nem elégségesek a resveratrol adásának indikációjához (157).

2.9.10 Alagebrium

Az advanced glycation end-products (AGE) redukáló hatású cukrok (glukóz) és fehérjék, lipidek, DNS amino csoportjainak oxidatív és non-oxidatív reakciói során képződnek, amelynek során glikációs, glikooxidációs, lipooxidációs intermedier- és végtermékek jönnek létre. Ez a folyamat kisebb mértékben fiziológiásan is végbemegy, de hyperglycaemia, hyperlipidaemia, obesitas, öregedés, veseelégtelenség, oxidatív stressz jelenléte esetén fokozódik. Az AGE-k a hosszú élettartamú szöveti fehérjékben (például kollagénben) keresztkötéseket képeznek és cellularis receptoraik upregulációját, majd ezekhez kötődve ROS képződést, gyulladást, fibrosist idéznek elő. A keresztkötések létrehozásával közvetlenül fokozzák az arteriák és a kamrafal merevségét. Az AGE depositio a microvasculatura endothel sejtjeibe az ott termelődő NO befogásához vezet, ami csökkenti az NO biohasznosíthatóságát, ezáltal bal kamra hypertrophiát, fokozott bal kamra diastolés merevséget, diastolés dysfunctiót okoz. Az AGE-k a kalcium újrafelvétel késését is előidézik, ami szintén hozzájárul a bal kamra diastolés dysfunctióhoz. A plasma AGE szintek növekedése a szívelégtelenség mortalitásának, illetve a mortalitás és szívelégtelenség összetett végpontjának a független előrejelzője volt (158).

Az AGE-k által létrehozott keresztkötéseket felbontó alagebrium egy kis esetszámú fázis II vizsgálatban javulást eredményezett a bal kamrai izomtömeg (LVM = left ventricular mass) és a diastolés telődés, illetve az életminőség tekintetében (159), azonban a nagy, randomizált BENEFICIAL vizsgálatban nem mutatott kedvező hatást (160).

2.9.11 Ivabradin

HFpEF-ben a magas nyugalmi szívfrekvencia mortalitást előrejelző hatással bír (11). Az I_f inhibitor ivabradinnal végzett előzetes vizsgálatok a szer szívfrekvencia csökkentő hatását igazolták HFpEF-ben (161-163). Az ivabradin kedvezőtlenül befolyásolta a maximális oxigénfelvételt és a szubmaximális terhelési kapacitást az „A Mechanistic Study to Assess The Role of Chronotropic Incompetence in Heart Failure With Normal Ejection Fraction” vizsgálatban (164). Az EDIFY (Preserved Left Ventricular Ejection Fraction Chronic Heart Failure with Ivabradine Study) vizsgálat jelenleg is zajlik, mely az ivabradin hatását tanulmányozza HFpEF-ben.

2.9.12 Vezeték nélküli arteria pulmonalis nyomásmonitorozás

A terápia irányítására szolgáló lehetséges módszer a vezeték nélküli arteria pulmonalis nyomásmonitorozás, melynek hatását a CHAMPION (CardioMEMS Heart Sensor Allows Monitoring of Pressure to Improve Outcomes in NYHA Class III Heart Failure Patients) tanulmány vizsgálta. A betegekbe jobb szívfél katéterezés során mikroelektromechanikus nyomásérzékelőt ültettek és az aktív ágra kerülőknél a mért nyomások alapján határozták meg a terápiát. A közel 18 hónapos követési időszak alatt az aktív csoport tagjainál, beleértve a HFpEF-ben szenvedőket is, kevesebb szívelégtelenség miatti hospitalizáció fordult elő (165, 166).

2.9.13 Interatrial Shunt Device (IASD) System II

A folyamatban lévő Reduce LAP-HF (Reduce Elevated Left Atrial Pressure in Patients With Heart Failure) vizsgálat az Interatrial Shunt Device (IASD) System II biztonságosságát és teljesítményét méri fel. Az eszköz az emelkedett bal pitvari nyomás csökkentésére szolgál a pitvari septumon létrehozott kis shunt-ön keresztül (167).

Bár a vizsgálatok egy része mindenképpen biztató, egyelőre azonban még továbbra sincs egyetlen bizonyítottan hatékony terápia sem a HFpEF kezelésében.

3 CÉLKITŰZÉSEK

1. Az oxidatív stressz, a gyulladás, a procoaguláns állapot és a neuroendocrin aktiváció szerepének vizsgálata a hypertóniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetében.

Feltételeztük, hogy az oxidatív stressz és a gyulladás fontos, akár primer szerepet is játszhat a bal kamra diastolés dysfunctio és az enyhe systolés dysfunctio kialakulásában hypertóniás, megtartott ejectió frakciójú betegekben. A fenti betegcsoport a HFpEF prekursor állapotának tekinthető, akiknél a vizsgálat kezdetén nem állt fenn szívelégtelenség. Célul tűztük ki az oxidatív stressz, a gyulladás, a proinflammatorikus állapot és az endothel dysfunctio felmérését és utánkövetését, illetve korrelációjuk vizsgálatát a betegek systolés és diastolés bal kamra funkcióját jellemző paraméterekkel.

2. A MacIver-Townsend hypothesis vizsgálata hypertóniás, megtartott ejectió frakciójú betegeknél.

MacIver és Townsend a bal kamra contractio matematikai modellje alapján feltételezte, hogy HFpEF-ben a normális EF-ért nem a csökkent longitudinalis systolés bal kamra funkciót kompenzáló fokozott radialis systolés functio a felelős, ahogy ezt egyes szerzők (76, 79-81) eddig gondolták, hanem a kompenzáló mechanizmusként kialakuló bal kamra hypertrophia következtében létrejövő megtartott abszolút radialis falvastagodás (85). Bár a szerzők közleményükben hivatkoznak egyes humán vizsgálatok a hypothesis részlegesen támogató eredményeire, a fenti hypothesis humán vizsgálatban eddig még nem ellenőrizték.

Céljaink között szerepelt a HFpEF leggyakoribb prekursor állapotának megfelelő hypertóniás betegek körében a hypothesis érvényességének bizonyítása.

3. Egy rutin echocardiographia során is alkalmazható bal kamra systolés funkciós paraméter kifejlesztése, amely HFpEF-ben és prekursor állapotaiban is jól jelzi az enyhe systolés bal kamra dysfunciót.

HFpEF-ben a myocardialis deformációs paraméterek (strain, strain rate imaging) segítségével - szemben a hagyományos bal kamra systolés funkciót jellemző paraméterekkel, valamint a szöveti Dopplerrel mért mitralis annulus maximális systolés sebesség értékekkel -, enyhe systolés dysfuncio mutatható ki. A myocardialis deformációs paraméterek mérését azonban mindmáig inkább tudományos vizsgálatokban végzik, nem vált még a rutin echocardiographiás vizsgálat részévé. Olyan paramétert szerettünk volna kifejleszteni, melynek használata egyszerű, gyors, nem igényel speciális technikai háttérrel és a napi rutin vizsgálatok során is jól használható a megtartott EF ellenére jelenlévő enyhe systolés bal kamra dysfuncio kimutatására.

4. A hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegek genetikai predispozíójának vizsgálata oxidatív stresszre, és ennek a bal kamra diastolés dysfuncióval való összefüggésének megismerése.

A tetrahydrobiopterin depléciója következtében létrejött myocardialis NOS szétkapcsolódás által kiváltott myocardialis oxidatív stressz esetleges szerepét feltételezik a HFpEF patogenezisében. A hypertoniával vagy endothel dysfuncióval és oxidatív stresszel vagy BH₄ metabolizmussal kapcsolatos génpolimorfizmusok meghatározását terveztük abból a célból, hogy vizsgáljuk a hypertoniás normális ejectiós frakciójú betegek genetikai hajlamát oxidatív stresszre, és amennyiben ilyen hajlamot találunk, azt, hogy ez hogyan függ össze a bal kamra diastolés dysfuncióval.

4 MÓDSZEREK

A vizsgálatot 2007 és 2012 között folytattuk a Semmelweis Egyetem III. Belgyógyászati Klinikáján. 112 beteget vontunk be prospektív módon, akik ≥ 60 évesek és megtartott ejectiós frakciójúak (EF $>50\%$) voltak. 94 beteget soroltunk a hypertoniás csoportba, 18 korban, nemben illesztett beteget pedig a normotensiós egészséges kontrollcsoportba. Hypertoniásnak tekintettük azokat a betegeket, akiknek a systolés vérnyomása >140 Hgmm és/vagy a diastolés vérnyomása >90 Hgmm volt és/vagy hypertonia indikációval antihypertensiv gyógyszert szedtek. A vérnyomást három, standard körülmények között (10 perc nyugalmat követően ülő helyzetben) végzett mérés átlagaként határoztuk meg.

Kizárási kritériumként szerepelt a diabetes mellitus, az enyhénél súlyosabb billentyű eltérés vagy kongenitális szívbetegség, a korábban beültetett pacemaker vagy implantálható cardioverter defibrillátor, a korábbi cardiovascularis műtét, az ismert koszorúér-betegség, a pitvari tachyarrhythmia, a korábbi vagy aktuális szívelégtelenség, a malignus vagy immunológiai betegség, az anticoaguláns vagy antioxidáns kezelés, illetve bármilyen egyéb állapot, ami akut gyulladással vagy stresszel jár. Mivel a BNP meghatározások elvégzésére csak már a vizsgálat végzése közben később nyílt lehetőségünk, a szívelégtelenség jelenlétét vagy hiányát a Framingham kritériumok (168, 169) alkalmazásával állapítottuk meg (1. táblázat).

Az utánkövetési idő a betegek bevonási időpontjától függően átlagosan $23,3 \pm 12,5$ hónap volt. 44 beteget követtünk 3 éven át, a többi résztvevő ennél rövidebb időtartamon keresztül, de minimum egy éven át vett részt a vizsgálatban. A betegeket évente hívtuk vissza, fizikális vizsgálatot, EKG-t, részletes szívultrahang, carotis ultrahang, mellkasröntgen és laborvizsgálatokat, illetve pulzushullám terjedési sebesség (PWV = pulse wave velocity) mérést végeztünk.

Major kritériumok	Minor kritériumok
paroxysmalis nocturnalis dyspnoe	perifériás oedema
orthopnoe	éjszakai köhögés
emelkedett véna jugularis nyomás	effort dyspnoe
nedves szörtyzörejek	hepatomegalia
3. szívhang	pleuralis fluidum
cardiomegalia	szívfrekvencia >120/min
tüdőoedema	≥4.5 kg súlycsökkenés 5 nap alatt

1. táblázat: A Framingham kritériumok. Szívelégtelenség legalább 2 major vagy 1 major és 2 minor kritérium fennállása esetén állapítható meg

Forrás: Senni M, Tribouilloy CM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Evans JM, Bailey KR, Redfield MM. (1998) Congestive heart failure in the community: a study of all incident cases in Olmsted County, Minnesota, in 1991. *Circulation*, 98: 2282-9.

A vizsgálat a Helsinkii Nyilatkozatnak megfelelően az Etikai Bizottság jóváhagyásával történt. Minden beteg betegtájékoztató elolvasása után beleegyező nyilatkozatot írt alá.

Összesen 17 beteg esett ki a vizsgálatból, 8 nem kívánta folytatni, 9 esetben kizárási kritérium lépett fel. HFpEF összesen 2 betegnél alakult ki.

A BH₄, az összbiopterin és a BNP szintek mérése csak később került a protokollba, a biopterin és a BNP szinteket minden résztvevőnél legalább egyszer megmértük, BNP szintet a betegek 75%-ánál mértünk kétszer, néhány beteg esetén pedig háromszor, biopterin szintet néhány betegnél határoztunk meg két alkalommal.

Öt betegnél nem tudtuk elvégezni a genetikai vizsgálatot (2 kontroll személynél és 3 hypertóniás betegnél) az izolált DNS nem megfelelő minősége vagy a beleegyezés visszavonása miatt.

4.1 Biokémiai mérések

A méréseket plazmából vagy szérumból végeztük.

4.1.1 Oxidatív stresszt jellemző paraméterek

A protein karboniláció (PK) mérése Levine és munkacsoportja (170) fotometrikus módszerével történt.

A plazma BH₄ szinteket nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával (HPLC = high performance liquid chromatography) határoztuk meg Fukushima és Nixon (171) Fekkes és Voskuilen-Kooijman (172) által módosított eljárása alapján. 4 ml-es 7,2 mg kálium-EDTA-t és 0,1% (w/v) dithiothreitol tartalmazó Vacutainer csőbe vettünk vért, melyet szobahőmérsékleten, sötétben 2-3 óráig állni hagytunk, majd 2650 r/min fordulatszámom 20 percig centrifugáltunk. A plazmát leválasztottuk és azonnal -80°C-on hűtőszekrényben lefagyasztottuk a mérésig. A BH₄ mennyiségét Fukushima és Nixon (171) különböző vegyhatású közegekben végzett oxidációs módszerével határoztuk meg. A BH₄ szintet a teljes biopterin [BH₄ + BH₂ + biopterin] szint és az alkalikus közegben stabil oxidált biopterin (BH₂ + biopterin) szintek különbségeként határoztuk meg. A teljes biopterin szintet az alábbiak szerint állapítottuk meg: a BH₂ és a BH₄ savas közegben jódos oxidációval biopterinné alakul, az alkalikus közegben stabil oxidált biopterin szintet alkalikus jóddal határoztuk meg, mely csak a BH₂-t oxidálja biopterinné.

4.1.2 Gyulladásos paraméterek

A C-reaktív protein (CRP) koncentrációt a szérummintákból Cobas Integra 800 készülékben (Roche, Bazel, Svájc) ultraszenzitív részecskékkel fokozott immunturbidimetriás módszerrel mértük (high-sensitivity CRP).

Az IL-6 és a TNF- α szinteket magas szenzitivitású szendvics ELISA (enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat) módszerrel határoztuk meg a gyártó útmutatója alapján (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

4.1.3 Coagulációs paraméterek

A von Willebrand faktor antigén (vWF: Ag) szintet nyúl poliklonális anti-humán vWF antitestet használó szendvics ELISA módszerrel határoztuk meg (Dako, Glostrup, Dánia). Minden mérésnél a kalibráció kereskedelmi referencia plazmával (Diagnostica Stago, Taverny, Franciaország) történt.

A humán szöveti plazminogén aktivátor inhibitor-I (PAI-I) koncentrációjának mérése citrátos plazmából történt a kereskedelemben kapható ELISA kit használatával a gyártó utasításai szerint (Hyphen BioMed, Neuville-Sur-Oise, Franciaország).

A plazma fibrinogén szint vizsgálata ACL TOP coagulometerrel (Instrumentation Laboratory, Milánó, Olaszország) prothrombin alapú módszerrel történt a gyártó útmutatója alapján.

4.1.4 Neuroendocrin paraméterek

A chromogranin A (cGA) szinteket a kereskedelemben kapható chromogranin A assay (Cisbio Bioassays, IBA, Gif-sur-Yvette, Franciaország) használatával mértük a gyártó útmutatója szerint.

A BNP szinteket immunfluoreszcens módszerrel 250 μ l EDTA-s plazma (Triage BNP teszt, Biosite Diagnostics Incorporated, San Diego, CA, USA) felhasználásával mértük (173, 174).

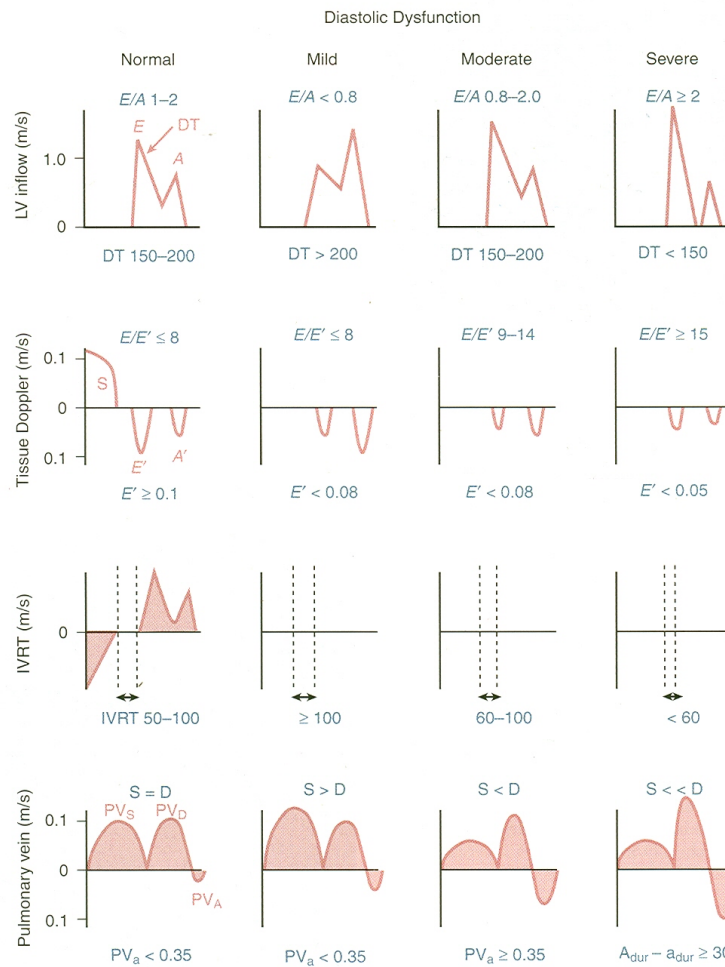
4.2 Szívvultrahang

A szívvultrahang vizsgálat során hagyományos paramétereket mértünk, illetve szöveti Doppler és speckle tracking módszert használtunk.

4.2.1 Szívvultrahanggal mért hagyományos paraméterek

A szívvultrahang vizsgálatokat S5-1 transzducerrel (sugárzott frekvencia 1,7 MHz, fogadott frekvencia 3,4 MHz) felszerelt Philips iE33 készülékkel (Philips Ultrasound, Bothell, WA, USA) végeztük. Az Amerikai Echocardiographiás Társaság ajánlása (175) alapján mértük az üregméreteket és a falvastagságokat kétdimenziós felvételekből levezetett M-mód regisztrátumok felhasználásával. A bal kamrai izomtömeget a Devereux képlet segítségével számítottuk ki (176). A bal pitvari volument biplán terület-hosszúság módszerrel becsültük. A bal kamrai végdiastolés és végsystolés volument, a verővolument és az ejectiósi frakciót a biplán Simpson módszerrel határoztuk meg.

A bal kamra diastolés funkció jellemzéséhez az alábbi paraméterek kombinációját vettük figyelembe: transmitralis Doppler beáramlási görbe, vena pulmonalis áramlási görbe, isovolumetriás relaxációs idő (IVRT = isovolumic relaxation time) és myocardialis szöveti Dopplerrel mért septális maximális kora diastolés telődési sebesség (E'). A bal kamrai diastolés funkciózavar súlyosságának leírására a Nishimura és Tajik (177) által javasolt osztályozást a The Echo Manual kézikönyvben leírt minimális módosítással (178) használtuk: 1. fokú = relaxációs zavar normális bal pitvari töltőnyomással, 1a fokú = relaxációs zavar emelkedett bal pitvari töltőnyomással, 2. fokú = pseudonormalizáció, 3. fokú = restriktív funkciózavar (4. ábra) (179).



4. ábra: A diastolés dysfunctio osztályozása. A: transmitralis áramlás maximális késő diastolés telődési sebesség, a_{dur} : vena pulmonalis pitvari reverz flow időtartam, A_{dur} : A hullám időtartam, D: vena pulmonalis diastolés csúcssebesség, E: transmitralis áramlás maximális kora diastolés telődési sebesség, E': mitralis annulus maximális kora diastolés telődési sebesség, IVRT: isovolumetriás relaxációs idő (isovolumic relaxation time), LV: bal kamra (left ventricle), PV_a : vena pulmonalis pitvari reverz flow maximális sebesség, S: vena pulmonalis systolés csúcssebesség.

Forrás: Otto CM. Clinical Echocardiography 4th Edition. Saunders-Elsevier, Edinburgh, 2009: 178.

A mitralis beáramlási görbét csúcsi négyüregi nézetből rögzítettük, a mintavevőt közvetlenül a mitralis billentyűk hegye alá helyezve. Az E/A hányadost, az E hullám

decelerációs időt, az A hullám időtartamot és az IVRT-t határoztuk meg. A vena pulmonalis áramlás mérésekor szintén a csúcsi négyüregi nézetet használtuk, a mintavevőt a jobb felső pulmonalis venába helyeztük. Az anterográd áramlás systolés és diastolés csúcssebességeit, a pitvari reverz flow időtartamot és maximális sebességet mértük.

A radialis falvastagodást (radWT = radial wall thickening) az alábbi képlet alapján számoltuk: $\text{radWT} = \text{diastolés bal kamrai belső átmérő (LVIDd)} - \text{systolés bal kamrai belső átmérő (LVIDs)}/2$.

4.2.2 Szöveti Doppler és speckle tracking echocardiographia

A szöveti Doppler (TDI = tissue Doppler imaging) módszerrel történő mérésekhez a csúcsi négyüregi, kétüregi és ötüregi nézeteket használtuk. A mitralis annulus sebességeket [systolés csúcssebesség, E' , késő diastolés csúcssebesség (A') és isovolumetriás sebesség (IVV = isovolumic velocity)] a bal kamra lateralis, septalis, inferior, anterior, posterior és anteroseptalis falán mértük. Az isovolumetriás gyorsulást (IVA = isovolumic acceleration) (m/s^2) az alábbiak szerint számoltuk: az IVV-t (cm/s) elosztottuk az IVV kezdetétől a csúcsáig terjedő időtartammal (ms), majd az így kapott értéket szoroztuk 10-zel. A szektorszélességet és a leképezés mélységét úgy állítottuk be, hogy legalább 180 frame/s frame rate-et érjünk el. A pulzusismétlődési frekvenciát a lehető legalacsonyabbra állítottuk, úgy, hogy az aliasing létrejöttét még éppen elkerüljük. A szöveti Doppler szektor a vizsgált struktúrához képest mért beesési szöge nem haladta meg a 20° -ot. Színes szöveti Doppler felvételeket is készítettünk három egymást követő szív ciklusban a hat bal kamrai falterületről, illetve a négy pitvari falról (a csúcsi négyüregi és kétüregi nézetből a középső lateralis, az inferior és az anterior bal pitvari falakról és a középső lateralis jobb pitvari falról). Keskeny szektorszélességet ($\leq 20^\circ$) és 200–300 frame/s-os frame rate-et használtunk a felvételekhez. A felvételeket offline elemeztük a QLAB 6.0 szoftver segítségével (Koninklijke, Philips Electronics N.V. 2007). Az elemzés során a maximális longitudinalis bal kamrai systolés S, a

végysystolés S, a maximális systolés, kora diastolés és késő diastolés strain rate (SR) értékeket mértük a csúcsi metszetekből a bal kamra hat falterületének basalis és középső segmentumaiban. A SR a myocardiális deformáció (strain) időbeli deriváltja: $SR = dS/dt$, ezáltal a deformáció sebességét jelzi. A csúcsi négyüregi és kétüregi nézetből a bal pitvar középső lateralis, inferior és anterior falában, illetve a jobb pitvar középső lateralis falában a maximális pitvari contractió periódus, a pitvari reservoir periódus és a pitvari conduit periódus S és SR értékeket határoztuk meg.

A myocardiális deformációt speckle tracking módszerrel is vizsgáltuk. Kétdimenziós, fekete-fehér felvételeket készítettünk 60-80 Hz-es frame rate mellett a csúcsi négyüregi, kétüregi és háromüregi nézetekből és a parasternalis rövid tengelyű metszet basalis és középső papilláris izom szintű síkjaiból. Minden nézetből három szív ciklust rögzítettünk. A fekete-fehér felvételeket offline elemeztük a QLAB 8.1 szoftver segítségével (Philips Ultrasound, Bothell, Washington, USA). A bal kamra falát 17 segmentumra osztottuk és minden egyes segmentumot külön elemeztünk. A három csúcsi nézetből mért maximális systolés longitudinális strain értékek átlagát vettük a globális bal kamrai longitudinális strain értéknek (GLS = global left ventricular longitudinal strain). A parasternalis rövid tengelyű nézeteket a következő síkokban készítettük: 1) basalis: a mitralis billentyű vitorláinak hegyénél; 2) középső papilláris izom szintű: közvetlenül a mitralis billentyű síkja alatt. A globális circumferenciális és radialis strain értékeket a parasternalis rövid tengelyű nézet 6 basalis és 6 középső papilláris izom szintű segmentumaiban mért maximális circumferenciális és radialis systolés strain értékek átlagaiként határoztuk meg.

4.3 Pulzushullám terjedési sebesség mérése

A pulzushullám terjedési sebességet validált PulsePen tonométerrel (DiaTecne, Milánó, Olaszország) mértük az irodalomban található leírás szerint (180, 181). A betegeknél fekvő pozícióban két mérésorozatot történt, melyeket átlagoltunk. A PulsePen tonométer az EKG R hulláma és az arteriális pulzushullám kezdete közötti

időkülönbséget méri. A mérést az arteria carotis és az arteria femoralis felett végeztük tíz szív ciklus eredményeinek átlagolásával. Mérőszalaggal lemértük az arteria carotis és a jugularis árok, valamint a jugularis árok és az arteria femoralis közötti távolságot. A két távolság közötti különbség adja a pulzushullám által megtett utat, aminek felhasználásával a PulsePen szoftver kiszámolta a PWV-t.

4.4 Carotis ultrahang

A betegeknél Philips iE33 típusú készülékkel (Philips Ultrasound, Bothell, WA, USA) végeztünk carotis ultrahang vizsgálatot. Mindkét oldali arteria carotis communis, interna és externa ágakban longitudinalis és transversalis síkban anterior, lateralis és posterior irányból végeztünk méréseket. Az eredményeket az alábbiak szerint osztályoztuk: 0 pont: nincs plakk, az intima-média vastagság (IMT = intima media thickness) <1mm; 1 pont: az IMT \geq 1 mm; 2 pont: <50%-os szűkületet okozó plakk; 3 pont: \geq 50%-os szűkületet okozó plakk.

4.5 Molekuláris biológiai módszerek

A GTPCH-1- a BH₄ szintézis sebesség meghatározó (rate-limiting) enzime - négy SNP-jének (rs841 C>T, rs3783641 A>T, rs10483639 C>G, rs8007267 G>A), az eNOS gén egy SNP-jének (rs1799983 G>T) és az MnSOD gén egy SNP-jének (rs4880 T>C) prevalenciáját vizsgáltuk.

A DNS meghatározás perifériás vérből történt QIAamp DNA Blood Mini Kittel (Qiagen GmbH, Hilden, Németország) és DNA Isolation Kit for Mammalian Blood (Roche, Mannheim, Németország; Indianapolis, IN, USA) segítségével. Az rs841, rs3783641, rs10483639, rs8007267, rs1799983 és rs4880 polimorfizmusok genotipizálása az alábbi előre gyártott Taqman allél diszkriminációs assay-k (C_9866639_10, C_25800745_10, C_30444867_20, C_1545138_10, C_3219460_20,

C_8709053_10) használatával történt. Az assay-eket a gyártó (Applied Biosystems, Applied Biosystems Group, 850 Lincoln Center Drive, Foster City, CA, USA) útmutatójának megfelelően 7500 Fast Real Time PCR System készüléken (Applied Biosystems) végeztük.

4.5.1 A minor allél frekvencia és a genetikai pontrendszer meghatározása

A minor allél frekvencia (MAF) egy adott populációban a második leggyakoribb allél előfordulásának frekvenciájára utal. A MAF-ot úgy számítottuk ki, hogy minden csoportban a minor allélek számát elosztottuk az összes allélek számával.

A vizsgált SNP-k MAF-jai alapján kidolgoztunk egy genetikai pontrendszert, amely a betegek oxidatív stresszre való hajlamát jellemzi. Minden vizsgált egyén genetikai pontszáma a benne kimutatható összes minor allél számán alapult.

A vizsgált négy GTPCH-1 SNP szoros kapcsoltságban öröklődik és a betegek 91%-át két haplotípus reprezentálja, ezért egy haplo4 pontszámot számoltunk a következő módon: ha a GTPCH-1 minor allélek száma 0 vagy 1 volt, akkor 0 pontot adtunk; ha a GTPCH-1 minor allélek száma ≥ 2 volt, akkor 1 pontot adtunk.

Az rs1799983 eNOS SNP esetén a minor allél jelenléte oxidatív stresszre hajlamosít, így a major allél homozigóták 0 pontot, a minor allél heterozigóták 1 pontot, a minor allél homozigóták 2 pontot kaptak.

Az rs4880 MnSOD SNP esetén a minor allél jelenléte véd az oxidatív stresszel szemben, így inverz pontrendszert használtunk - a major allél homozigóták 2 pontot kaptak, a minor allél heterozigóták 1 pontot, a minor allél homozigóták pedig 0 pontot.

A lehetséges genetikai pontszám így 0 és 5 között változott. A betegeket a genetikai pontszámuk alapján két csoportba osztottuk: az oxidatív stressz szempontjából alacsony kockázatú (0 és 1 pont) és magas kockázatú (≥ 2 pont) csoport. Az oxidatív stressz szempontjából alacsony és magas kockázatú betegek fenti definíciója önkényesnek tűnhet, azonban összevetve az oxidatív stressz rizikójának más definícióin alapuló

előzetes számításainkkal, ez a meghatározás tükrözte legjobban az oxidatív stressz genetikai rizikójában adódó különbségeket a vizsgált csoportok között.

4.6 Statisztikai értékelés

4.6.1 Statisztikai értékelés - biokémiai eredmények

A folytonos változókat, ahol más megjelölés nem szerepel, átlag \pm SD (standard deviáció) formában, a kategorikus változókat arányként közöltük. Két csoport közötti összehasonlítást kétmintás t-próbával vagy, ha a varianciák az F teszttel nem voltak egyenlők, a kétmintás t-próba Welch-féle módosításával végeztük. Több csoport egymással történő összehasonlításához egyszempontos varianciaanalízist (ANOVA) használtunk, ha ez szignifikáns különbséget jelzett, akkor az egyes csoportokat Tukey-féle post hoc (többszöri összehasonlítási) teszttel hasonlítottuk egymáshoz. Ha a Bartlett teszt a varianciák heterogenitását jelezte, akkor non-parametrikus Kruskal–Wallis egyszempontos ANOVA tesztet végeztünk. Ha ez a vizsgálat a csoportok között szignifikáns különbséget mutatott, akkor az egyes csoportokat a Welch-féle módosított kétmintás t-próbával hasonlítottuk össze. Az idősorozatokat kétszempontos ismétléses ANOVA teszttel és Bonferroni post hoc (utó) teszttel hasonlítottuk össze. A lineáris korrelációs koefficiensek meghatározásához Pearson-féle korrelációt számítottunk.

Minden tesztnél 5%-os kétoldalú szignifikancia szinteket alkalmaztunk. A statisztikai analízist a GraphPad Prism5 szoftverrel (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) végeztük.

4.6.2 Statisztikai értékelés - echocardiographiás paraméterek

A folytonos változókat átlag \pm SD formában adtuk meg. A kategorikus változók arányként szerepeltek. A mért paramétereket egyszempontos ANOVA teszttel

hasonlítottuk össze. Ha az ANOVA szignifikáns különbséget jelzett a csoportok között, akkor az egyes csoportokat Tukey-féle utótesztel hasonlítottuk egymáshoz.

Ha a Bartlett teszt a varianciák heterogenitását jelezte, akkor non-parametrikus Kruskal–Wallis egyszempontos ANOVA tesztet végeztünk. Ha ez a vizsgálat a csoportok között szignifikáns különbséget mutatott, akkor az egyes csoportokat a Welch-féle módosított kétmintás t-próbával hasonlítottuk össze. A szignifikancia szint határát $p < 0,05$ értéknél határoztuk meg.

ROC (receiver-operating characteristic curve) analízist végeztünk a bal kamra systolés dysfunctio kimutatására legalkalmasabbnak látszó paraméter kiválasztása és e paraméter bal kamra systolés dysfunctiót és normális bal kamra funkciót legnagyobb sensitivitással és specificitással elkülönítő cutoff pontjának meghatározása céljából.

Többszörös lineáris regressziós analízist végeztünk korra, nemre, testtömegindexre (BMI = body mass index), bal kamra diastolés dysfunctióra és bal kamrai izomtömeg/testfelszín (BSA = body surface area) hányadosra mint önálló változókra vonatkozóan.

A statisztikai elemzéseket a GraphPad Prism5 szoftverrel (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) végeztük.

4.6.3 Statisztikai értékelés - genetikai vizsgálatok

Minden változót átlag \pm SD formában közöltünk. A betegek klinikai jellemzőinek, az oxidatív stressz és az LVM paraméterek összehasonlítására egyszempontos ANOVA tesztet használtunk, amelyet a Tukey-féle többszöri összehasonlítási utóteszt alkalmazása követett.

Ha a Bartlett teszt a varianciák heterogenitását jelezte, akkor non-parametrikus Kruskal–Wallis egyszempontos ANOVA tesztet végeztünk. Ha ez a vizsgálat a csoportok között szignifikáns különbséget mutatott, akkor az egyes csoportokat a Welch-féle módosított kétmintás t-próbával hasonlítottuk össze. Minden teszt kétoldali volt. A szignifikancia szint határát $p < 0,05$ értéknél határoztuk meg.

Az allélfrekvenciák csoportok közötti összehasonlítására, illetve annak megállapítására, hogy az allélfrekvenciák eltérnek-e a Hardy-Weinberg egyensúlytól, a χ^2 tesztet alkalmaztuk.

A vizsgált SNP-k MAF-ján alapuló oxidatív stressz mértékét jelző számított genetikai pontszám összefüggését a bal kamra diastolés dysfunctio jelenlétével a betegség esélyhányados (OR = odds ratio) 95%-os konfidencia intervallumának (CI) meghatározásával vizsgáltuk Bland és Altman (2000) módszere szerint (182).

Többváltozós logisztikus regressziós analízist végeztünk korra, nemre, dohányzási szokásokra, obesitasra ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$), HDL (high density lipoprotein) koleszterin-, LDL (low density lipoprotein) koleszterinszintekre és glomeruláris filtrációs rátára (GFR) történt illesztéssel.

A páronkénti kapcsoltság statisztikai elemzése az Arlequin szoftvercsomaggal történt (183). Ilymódon az egymástól független előfordulású SNP párok kizárásra kerültek. A páronkénti kapcsoltság egyensúlytalansági (linkage disequilibrium) statisztikáját, mely a Lewontin koefficiens [D^0] és az r^2 által kvantifikált, az Arlequin szoftvercsomaggal kimutatott kapcsoltság értékek standard módszerrel történő elemzésével vizsgáltuk (184). Az eredményeket a HapMap adatbázis általános kaukázusi populációra vonatkozó legfrissebb adataival hasonlítottuk össze.

A statisztikai elemzéseket a GraphPad Prism5 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA), a Statistica (11-es verzió; StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) és a Statistical Package for the Social Sciences (22-es verzió Windows operációs rendszerre; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) szoftverekkel végeztük.

5 EREDMÉNYEK

5.1 A betegcsoportok jellemzői

A hypertoniás betegek közül 38/94 betegnek (40%) nem volt bal kamra diastolés dysfunctiója (HTDD- csoport), 56/94 betegnek (60%) volt bal kamra diastolés dysfunctiója (HTDD+ csoport). Ez alapján a vizsgálatban résztvevőket három csoportra osztottuk: 1) kontrollcsoportra (n = 18), 2) hypertoniás diastolés dysfunctio nélküli csoportra (HTDD- csoport) (n = 38) és 3) hypertoniás diastolés dysfunctiót mutató csoportra (HTDD+ csoport) (n = 56).

A kontrollcsoportban és a két hypertoniás csoportban (HTDD- és HTDD+) a nemek aránya, a testmagasság, a testtömeg, a testfelszín, a diastolés vérnyomás, a szívfrekvencia, a GFR, a HDL koleszterin és a haemoglobin koncentráció nem mutatott különbséget (2. táblázat). A PWV mérés közben rögzített szívfrekvencia ($67 \pm 8/\text{min}$ a kontrollcsoport esetén, $66 \pm 9/\text{min}$ a HTDD- csoport esetén és $65 \pm 7/\text{min}$ a HTDD+ csoport esetén) alacsonyabb volt, mint a reguláris kórházi vizitek alkalmával mért értékek. A csoportok között ekkor sem találtunk különbséget. A hypertoniás betegek által szedett gyógyszerek tekintetében sem adódott szignifikáns eltérés (2. táblázat).

A kontrollcsoport életkorát az összes hypertoniás betegéhez viszonyítva ($66,1 \pm 4,4$ év vs. $69,4 \pm 7,7$ év), illetve a HTDD- csoporthoz viszonyítva nem volt különbség. A HTDD+ csoport betegek azonban kissé idősebbek voltak a kontroll- ($p < 0,05$) és a HTDD- csoport ($p < 0,01$) betegeinél. A BMI mindkét hypertoniás csoportban magasabb volt a kontrollcsoporténál ($p < 0,05$ a HTDD- csoport, $p < 0,01$ a HTDD+ csoport esetén). A szérum kreatinin szint a HTDD+ csoportban meghaladta a kontrollcsoportét ($p < 0,05$). Mindkét hypertoniás csoportban magasabb systolés vérnyomásértékeket mértünk, mint a kontrollcsoportban ($p < 0,01$ a HTDD- csoport és $p < 0,001$ a HTDD+ csoport esetén) (2. táblázat).

2. táblázat: A betegcsoportok jellemzői

	Kontroll (n = 18)	HTDD- (n = 38)	HTDD+ (n = 56)
Kor (év)	66,1 ± 4,4	66,1 ± 5,6	76,1 ± 8,1 ^{*,##}
Nem (nő/férfi)	12/6	29/9	33/23
HT időtartama (év)	0	11,5 ± 11,6	14,4 ± 12,2
Testmagasság (cm)	169 ± 8	164 ± 8	165 ± 9
Testtömeg (kg)	70,1 ± 13,2	74,3 ± 18,0	80,2 ± 25,0
BMI (kg/m ²)	24,6 ± 3,7	27,6 ± 5,8 [*]	28,0 ± 4,0 ^{**,#}
BSA (m ²)	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,3
Szérum kreatinin (μmol/l)	71,6 ± 14,8	70,3 ± 14,8	82,8 ± 25,2 [#]
eGFR (ml/min)	82,6 ± 19,9	88,4 ± 26,6	75,4 ± 27,1
HDL koleszterin (mmol/l)	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,8
LDL koleszterin (mmol/l)	3,4 ± 0,7	3,0 ± 0,8	2,8 ± 1,1 [*]
SBP (Hgmm)	130 ± 17	147 ± 16 ^{**}	149 ± 18 ^{**}
DBP (Hgmm)	84 ± 9	86 ± 11	89 ± 11
Szívfrekvencia (1/min)	71,1 ± 8,3	74,9 ± 9,3	72,2 ± 8,0
Haemoglobin koncentráció (g/l)	140,9 ± 12,6	137,2 ± 13,1	138,9 ± 14,8
Gyógyszerek (betegek száma)			
Béta-blokkoló	1	22	30
ACE-gátló	0	19	35
ARB	0	9	13
Kalcium csatorna blokkoló	0	15	27
Diuretikum	0	22	35
Aldoszteon-antagonista	0	0	0
Thrombocytá aggregáció gátló	0	14	24
Statin	3	13	29
Proton pumpa gátló	2	10	8
* p < 0,05, **p < 0,01 a kontrollhoz képest, #p < 0,05, ##p < 0,01 a HTDD- csoporthoz képest. ARB: angiotenzin II receptor blokkoló, BMI: testtömegindex (body mass index), BSA: testfelszín (body surface area), DBP: diastolés vérnyomás (diastolic blood pressure), eGFR: becsült glomerulus filtrációs ráta (estimated glomerular filtration rate), HDL: high density lipoprotein, HT: hypertonia, HTDD-: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctióval, LDL: low density lipoprotein, SBP: systolés vérnyomás (systolic blood pressure)			

Az LDL koleszterinszint alacsonyabb trendet mutatott a HTDD- csoportban ($p = 0,0558$) és szignifikánsan alacsonyabb volt a HTDD+ csoportban, melyet a hypertóniás betegek gyakoribb statin szedése magyarázhatott.

5.2 Biokémiai mérések

A biokémiai mérések eredményeit az 3. táblázat mutatja be. A vizsgált paraméterekben nem találtunk szignifikáns különbséget a HTDD+ és HTDD- csoport között, ezért az alábbiakban ismertetett eredmények a kontrollcsoport vonatkozó eredményeihez hasonlítva értendők.

3. táblázat: Biokémiai eredmények

Paraméter	Kontroll (n = 18)	HTDD- (n = 38)	HTDD+ (n = 56)
PK ($\mu\text{mol/g}$)	0,19 \pm 0,13	0,31 \pm 0,21*	0,29 \pm 0,25*
Plazma BH ₄ ($\mu\text{mol/ml}$)	0,92 \pm 0,35	1,98 \pm 2,10**	2,04 \pm 1,99**
Összbioppterin ($\mu\text{mol/ml}$)	2,01 \pm 0,86	3,05 \pm 2,80	2,98 \pm 2,46*
CRP (mg/l)	1,97 \pm 1,67	2,91 \pm 2,63	4,17 \pm 4,21**
IL-6 (pg/ml)	1,88 \pm 1,04	2,40 \pm 2,91	3,00 \pm 4,49
TNF- α (pg/ml)	0,85 \pm 0,78	1,75 \pm 2,19*	2,26 \pm 4,62*
Fibrinogén (g/l)	4,03 \pm 0,61	4,46 \pm 0,93	4,56 \pm 0,95
PAI-I (ng/ml)	11,62 \pm 5,44	21,11 \pm 11,21**	21,23 \pm 16,16**
vWF:Ag (%)	168,03 \pm 57,59	148,27 \pm 39,15	156,58 \pm 48,93
cGA (ng/ml)	75,85 \pm 17,30	136,04 \pm 162,71	148,16 \pm 166,34**
BNP (pg/ml)	15,89 \pm 9,24	29,80 \pm 32,30*	43,49 \pm 69,41**

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ a kontrollhoz képest. BH₄: tetrahydrobiopterin, BNP: B-típusú nátriuretikus peptid, cGA: chromogranin A, CRP: C-reaktív protein, HTDD-: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctióval, IL-6: interleukin-6, PAI-I: plazminogén aktivátor inhibitor-I, PK: protein karboniláció, TNF- α : tumor necrosis factor- α , vWF:Ag: von Willebrand faktor antigén

5.2.1 Oxidatív stresszt jellemző paraméterek

A protein karboniláció (PK) ($p < 0,05$ mindkét hypertóniás betegcsoportra vonatkozóan) és a plazma BH_4 szintek ($p < 0,01$ mindkét hypertóniás betegcsoportra vonatkozóan) emelkedtek mindkét betegcsoportban. A plazma teljes biopterin szint ($BH_4 + BH_2 +$ biopterin) a HTDD+ csoportban magasabb volt ($p < 0,05$).

5.2.2 Gyulladásos paraméterek

Az IL-6 szint nem szignifikáns módon emelkedett a betegcsoportokban. A $TNF-\alpha$ szint mindkét betegcsoportban magasabb volt ($p < 0,05$ mindkét betegcsoportra vonatkozóan), a CRP szint a HTDD+ csoportban bizonyult magasabbnak ($p < 0,01$).

5.2.3 Coagulációs paraméterek

A fibrinogén és VWF: Ag szintekben nem találtunk szignifikáns különbséget. Mindkét betegcsoportban magasabb PAI-I szinteket ($p < 0,001$) mértünk.

5.2.4 Neuroendocrin aktivációs paraméterek

A BNP szint mindkét betegcsoportban emelkedettnek bizonyult ($p < 0,05$ a HTDD-csoportra vonatkozóan és $p < 0,01$ a HTDD+ csoportra vonatkozóan). A cGA szint csak a HTDD+ csoportban emelkedett szignifikáns mértékben ($p < 0,01$), a HTDD-csoportban nem szignifikáns emelkedő trendet figyeltünk meg.

5.3 Echocardiographiás eredmények

A hagyományos echocardiographiás adatokat és a szöveti Dopplerrel mért myocardialis deformációs paramétereket a 4. táblázat mutatja be.

5.3.1 Bal kamra diastolés funkció

A vizsgálat kezdetén a hypertóniás betegek 40%-ánál (38/94 beteg) a normál EF mellett nem találtunk diastolés dysfunctiót (HTDD- csoport), 60%-ánál (56/94 beteg) enyhe, 1. fokú (54 beteg) vagy 1a fokú (2 beteg) bal kamra diastolés dysfunctio (HTDD+ csoport) igazolódott.

5.3.2 Bal kamra systolés és pitvari funkció

Sem a hagyományos bal kamra systolés funkciós paraméterekben {2D-vezérelt M-móddal történő EF mérés az $(LVIDd^2 - LVIDs^2) / LVIDd^2 \times 100$ képlettel (LVIDd: diastolés bal kamrai belső átmérő = diastolic left ventricular internal dimension; LVIDs: systolés bal kamrai belső átmérő = systolic left ventricular internal dimension), EF Simpson[EF(S)], stroke volumen (SV), bal kamrai kiáramlási pálya sebesség-idő integrál (LVOT-VTI = left ventricular outflow tract velocity time integral), mitralis annulus M-mód kitérés}, sem a szöveti Dopplerrel történő myocardialis sebesség mérésen alapuló bal kamra systolés funkciós paraméterekben (pl. mitralis annulus systolés csúcssebesség, IVV, IVA) nem találtunk különbséget a csoportok között. Az SV tekintetében a HTDD+ csoportban alacsonyabb trendet figyeltünk meg.

4. táblázat: Echocardiographiás adatok szöveti Dopplerrel mért myocardialis deformációs paraméterekkel

Paraméter	Kontroll (n = 18)	HTDD- (n = 38)	HTDD+ (n = 56)
M-mód EF (%)	65,9 ± 8,0	66,2 ± 6,0	68,7 ± 8,2
EF Simpson (%)	67,6 ± 5,6	66,5 ± 4,8	64,5 ± 7,0
Verővolumen (ml)	71,40 ± 2	68,80 ± 17,90	63,70 ± 18,80
ESV (ml)	34,80 ± 12,40	34,70 ± 12,00	36,90 ± 14,60
EDV (ml)	106,20 ± 30,20	103,60 ± 28,20	101,70 ± 27,30
LVOT-VTI (cm)	23,75 ± 3,98	23,55 ± 2,91	23,55 ± 4,88
Mitralis annulus M-mód kitérés (mm)	15,30 ± 2,30	15,05 ± 2,26	15,00 ± 2,11
Mitralis annulus systolés csúcssebesség (cm/s)	8,44 ± 1,04	7,96 ± 1,06	8,12 ± 1,40
LVM (g)	166,20 ± 38,00	196,90 ± 77,60	226,40 ± 66,20 ^{***,#}
LVM/BSA (g/m ²)	91,60 ± 14,90	106,56 ± 35,90*	122,70 ± 31,00 ^{***,#}
LVM/BMI (g x m ² /kg)	6,78 ± 1,28	7,26 ± 2,61	8,25 ± 2,29 ^{**}
LAV (ml)	59,30 ± 18,20	63,50 ± 21,20	65,00 ± 21,00
LAV/BSA (g/m ²)	32,70 ± 8,50	33,70 ± 9,50	35,50 ± 10,40
LAV/BMI (ml x m ² /kg)	2,45 ± 0,79	2,32 ± 0,69	2,41 ± 0,83
Isovolumetriás sebesség (cm/s)	7,59 ± 1,46	6,58 ± 1,09	6,82 ± 1,82
Isovolumetriás gyorsulás (m/s ²)	1,91 ± 0,30	1,75 ± 0,27	1,83 ± 0,66
Átlagos maximális longitudinális bal kamrai systolés S (%)	-16,5 ± 3,0	-14,7 ± 2,7*	-14,5 ± 2,0*
Átlagos maximális longitudinális bal kamrai systolés SR (1/s)	-0,90 ± 0,14	-0,76 ± 0,16 ^{**}	-0,81 ± 0,12 ^{**,#}
Átlagos maximális longitudinális bal kamrai kora diastolés SR (1/s)	1,12 ± 0,22	0,97 ± 0,20 ^{*,###}	0,84 ± 0,16 ^{**}
Átlagos pitvari contractiós periódus SR (1/s)	-2,89 ± 0,65	-2,40 ± 0,59*	-2,45 ± 0,54*
Átlagos pitvari reservoir periódus SR (1/s)	1,95 ± 0,39	1,53 ± 0,42 ^{**}	1,55 ± 0,35 ^{**}

* p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 a kontrollhoz képest, #p < 0,05, ###p < 0,01 a HTDD- csoporthoz képest. BMI: testtömegindex (body mass index), BSA: testfelszín (body surface area), EDV: végdiastolés volumen (end diastolic volume), EF: ejectiós frakció, ESV: végsystolés volumen (end systolic volume), HTDD-: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctióval, LAV: bal pitvari volumen (left atrial volume), LVM: bal kamrai izomtömeg (left ventricular mass), LVOT-VTI: bal kamrai kiáramlási pálya sebesség-ido integrál (left ventricular outflow tract velocity time integral), S: strain. SR: strain rate

Az érzékenyebb myocardiális deformációs paraméterekkel (S, SR) azonban bal kamra systolés dysfunctiót igazoltunk a hypertóniás, normál ejectiós frakciójú betegekben. A kontrollcsoporthoz képest az alábbi paraméterek abszolút értékei mindkét hypertóniás betegcsoportban alacsonyabbak lettek: átlagos maximális longitudinalis bal kamrai systolés S ($p < 0,05$ mindkét hypertóniás betegcsoport esetén), systolés ($p < 0,001$ mindkét hypertóniás betegcsoport esetén) és kora diastolés SR ($p < 0,05$ a HTDD- és $p < 0,001$ a HTDD+ csoportra vonatkozóan). A HTDD+ csoportban az átlagos maximális longitudinalis systolés SR abszolút értéke nagyobb volt ($p < 0,05$), a longitudinalis bal kamrai kora diastolés SR csökkent ($p < 0,01$) a HTDD- csoporthoz képest.

Az átlagos maximális pitvari contractiós periódus ($p < 0,05$ mindkét hypertóniás betegcsoportra vonatkozóan) és reservoir periódus ($p < 0,001$ mindkét hypertóniás betegcsoportra vonatkozóan) SR abszolút értékei mindkét hypertóniás betegcsoportban alacsonyabbak voltak a kontrollcsoporthoz képest (4. táblázat).

A speckle tracking módszerrel mért GLS mindkét betegcsoportban csökkent ($p < 0,05$ a HTDD-, $p < 0,01$ a HTDD+ csoport esetén) a kontrollhoz képest. A circumferencialis és radialis bal kamrai maximális systolés strain értékek tekintetében nem találtunk a csoportok között különbséget. A BMI-re vonatkoztatott GLS (GLS/BMI) mindkét betegcsoportban csökkent ($p < 0,01$ a HTDD-, $p < 0,001$ a HTDD+ csoportra vonatkozóan) a kontrollhoz viszonyítva (5. táblázat).

5. táblázat: Radialis falvastagodás és speckle tracking echocardiographiával mért myocardialis deformációs paraméterek

Paraméter	Kontroll (n = 18)	HTDD- (n = 38)	HTDD+ (n = 56)
Globális maximális bal kamrai longitudinális systolés S (%)	-17,3 ± 2,2	-15,7 ± 1,8*	-15,4 ± 1,9**
Globális maximális bal kamrai longitudinális systolés S/BMI (m ² /kg)	-0,72 ± 0,14	-0,59 ± 0,14**	-0,55 ± 0,10***
Átlagos maximális bal kamrai circumferencialis systolés S (%)	-20,3 ± 3,2	-21,1 ± 4,2	-20,4 ± 4,1
Átlagos maximális bal kamrai radialis systolés S (%)	29,0 ± 3,3	28,5 ± 5,9	27,1 ± 5,4
Radialis falvastagodás (mm)	9,8 ± 1,9	10,0 ± 1,9	10,8 ± 1,9
* p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 a kontrollhoz képest. BMI: testtömegindex (body mass index), HTDD-: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctióval, S: strain			

5.3.3 Bal pitvari, bal kamrai volumen és bal kamrai izomtömeg

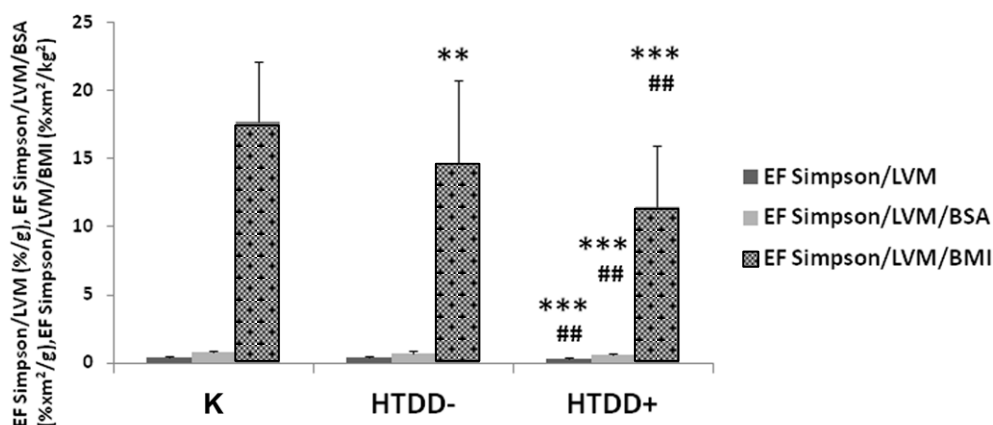
A bal pitvari volumen (LAV = left atrial volume), a testfelszínre vonatkoztatott LAV (LAV/BSA), illetve a BMI-re vonatkoztatott LAV (LAV/BMI) tekintetében nem találtunk a csoportok között különbséget (4. táblázat).

Nem volt különbség a bal kamrai volumenértékek (ESV = bal kamrai végsystolés volumen = left ventricular end systolic volume, EDV = bal kamrai végdiastolés volumen = left ventricular end diastolic volume) tekintetében sem (4. táblázat).

Az LVM nőtt a HTDD+ csoportban a kontrollhoz képest (p < 0,001) és a HTDD- csoporthoz képest is (p < 0,05), míg a HTDD- és a kontrollcsoport LVM értékei nem különböztek egymástól. Az LVM/BSA magasabb volt mindkét hypertóniás betegcsoportban (p < 0,05 a HTDD- csoport esetén, p < 0,001 a HTDD+ csoport esetén)

a kontrollhoz képest, és a HTDD+ csoportban a HTDD- csoporthoz képest ($p < 0,05$). Az LVM/BMI nőtt ($p < 0,01$) a HTDD+ csoportban a kontrollhoz képest és magasabb tendenciát észleltünk ($p = 0,063$) a HTDD- csoporthoz képest (4. táblázat).

A Simpson módszerrel mért ejectiós frakcióval [EF(S)] szemben az LVM-re, illetve az LVM-re és BSA-ra normalizált ejectiós frakció [EF(S)/LVM, illetve EF(S)/LVM/BSA] alacsonyabb volt a HTDD+ csoportban a kontrollhoz és a HTDD- csoporthoz képest. A BMI-re normalizált EF(S) [EF(S)/BMI] a HTDD+ csoportban, illetve az LVM-re és BMI-re normalizált EF(S) [EF(S)/LVM/BMI] mindkét hipertóniás csoportban csökkent a kontrollhoz képest, az EF(S)/LVM/BMI pedig a HTDD+ csoportban még alacsonyabb lett, mint a HTDD- csoportban (5. ábra). Az LVM testmagasság^{2,7}-re ajánlott (185) normalizálásakor hasonló eredményeket kaptunk, mint az LVM BSA-ra normalizálása során.



5. ábra: Bal kamra systolés funkciót leíró, különböző paraméterekre normalizált EF paraméterek összehasonlítása a csoportokban. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ a kontrollhoz képest, # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$ a HTDD- csoporthoz képest. BMI: testtömegindex (body mass index), BSA: testfelszín (body surface area), EF(S): Simpson módszerrel mért ejectiós frakció, HTDD-: hipertóniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hipertóniás bal kamra diastolés dysfunctióval, LVM: bal kamrai izomtömeg (left ventricular mass), K: kontroll

A hypertóniás betegcsoportot bal kamra hypertrophia (LVM = left ventricular hypertrophy) nélküli (hypertóniás LVH-) és bal kamra hypertrophiás (hypertóniás LVH+) alcsoportokra osztottuk az LVM/BSA értékeik alapján. LVH-t állapítottunk meg LVM/BSA >96 g/m² értéknél nők esetében és >116 g/m² értéknél férfiaknál. A hypertóniás LVH+ csoportot tovább osztottuk enyhe (hypertóniás enyhe LVH: 96–108 g/m² nőknél és 116–131 g/m² férfiaknál), közepes (hypertóniás közepes fokú LVH: 109–121 g/m² nőknél és 132–148 g/m² férfiaknál) és súlyos fokú (hypertóniás súlyos LVH: ≥ 122 g/m² nőknél és ≥ 149 g/m² férfiaknál) LVH-ás alcsoportokra (175). A GLS és a GLS/BMI abszolút értékei, valamint az EF(S)/LVM/BMI az LVH jelenlétével és mértékével párhuzamosan szignifikánsan vagy trendszerűen csökkentek. Szintén alacsonyabb értékeket kaptunk a hypertóniás LVH- csoportban a kontrollhoz képest (6. táblázat).

6. táblázat: A myocardiális deformációs paraméterek és az EF(S)/LVM/BMI kapcsolata a bal kamra hypertrophiával

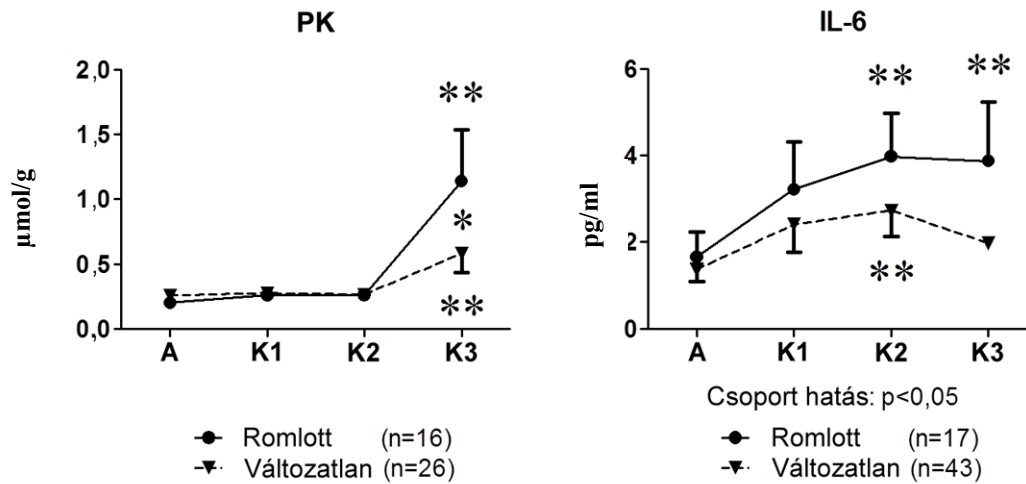
Paraméter	Kontroll (n = 18)	HT LVH- (n = 34)	HT LVH+ (n = 60)	HT LVH+		
				HT enyhe LVH (n = 23)	HT közepes LVH (n = 15)	HT súlyos LVH (n = 22)
GLS (%)	-17,3 ± 2,2	-15,5 ± 1,8*	-15,4 ± 1,9*	-15,5 ± 1,9	-15,3 ± 1,9	-15,1 ± 2,0*
GLS/BMI (m ² /kg)	-0,72 ± 0,14	-0,59 ± 0,13**	-0,55 ± 0,12***	-0,52 ± 0,11***	-0,54 ± 0,08**	-0,56 ± 0,15**
Circumferencialis S (%)	-20,3 ± 3,2	-20,9 ± 4,0	-20,5 ± 4,4	-19,8 ± 4,0	-22,4 ± 3,8	-19,4 ± 4,5
Radialis S (%)	29,0 ± 3,3	27,5 ± 5,3	28,0 ± 5,9	27,3 ± 5,7	28,5 ± 4,8	27,0 ± 6,5
EF(S)/LVM/BMI (m ² /kg ²)	17,65 ± 4,34	16,65 ± 5,11	10,54 ± 3,57***,###	12,23 ± 3,76**,#	11,26 ± 3,54**,#	8,70 ± 3,72***,###,§

* p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 a kontrollhoz képest, #p < 0,05, ###p < 0,01, ####p < 0,001 a HT LVH- csoporthoz képest,
 § p < 0,05 a HT enyhe LVH alcsoporthoz képest. BMI: testtömegindex (body mass index), circumferencialis strain: átlagos maximális circumferencialis bal kamrai systolés strain, EF(S): Simpson módszerrel mért ejectiósi frakció, GLS: globális bal kamrai longitudinális strain (global left ventricular longitudinal strain), HT: hypertónia, LVH: bal kamra hypertrophia (left ventricular hypertrophy), LVM: bal kamrai izomtömeg (left ventricular mass), radialis strain: átlagos maximális radialis bal kamrai systolés strain, S: strain

Többszörös logisztikus regressziós analízis során, ahol az életkort, a nemet és a bal kamra diastolés dysfunctiót tekintettük független változónak, a férfi nem [OR (95% CI): 3,42 (1,02 – 11,5), $p < 0,05$] és a bal kamra diastolés dysfunctio [OR (95% CI) 4,29 (1,42 – 13,0), $p < 0,05$] bizonyult az EF(S)/LVM/BMI-vel kifejezett bal kamra systolés dysfunctio független prediktorának. A hypertoniás betegekben a bal kamra diastolés dysfunctio lett a GLS/BMI-vel kifejezett bal kamra systolés dysfunctio független prediktora [OR (95% CI) 3,26 (1,09 – 9,1), $p < 0,05$].

5.4 A bal kamra diastolés funkció és a biokémiai paraméterek összefüggései az utánkövetés során

Az utánkövetés alatt 89 betegnél nem változott a minimálisan módosított Nishimura és Tajik osztályozás (178) szerint a bal kamra diastolés funkció. 19 betegnél a bal kamra diastolés funkció romlott, 4 betegnél pedig javult. Mivel igen kevés betegnél figyeltünk meg javulást, statisztikai elemzést az ő esetükben nem tudtunk végezni. Azoknál a betegeknél azonban, akiknek a bal kamra diastolés funkciója romlott, emelkedett PK és IL-6 szinteket találtunk mind a betegek saját kiindulási értékeihez viszonyítva ($p < 0,01$ a PK és az IL-6 esetében is), mind pedig a változatlan bal kamra diastolés funkciójú betegek értékeihez képest ($p < 0,05$ az IL-6-ra vonatkozóan, és a harmadik utánkövetés során $p < 0,05$ a PK-ra vonatkozóan) (6. ábra). Az egyéb biokémiai paraméterek tekintetében nem mutattunk ki különbséget az utánkövetés során a változatlan és a romló bal kamra diastolés funkciójú betegek között.

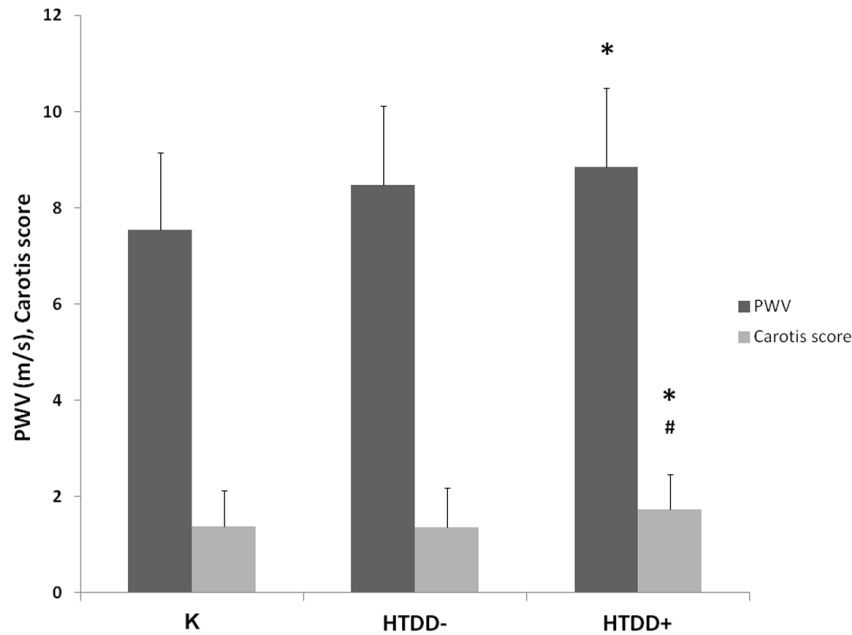


6. ábra: A protein karboniláció és az IL-6 szintek összehasonlítása az utánkövetés során azokban a betegekben, akiknél a bal kamra diastolés funkció változatlan maradt vagy romlott. *p < 0,05, **p < 0,01. A: alap (első) vizsgálat, IL-6: interleukin-6, K1: első követés, K2: második követés, K3: harmadik követés, PK: protein karboniláció

5.5 A PWV és a carotis pontrendszer

A PWV a HTDD+ csoportban magasabb volt, mint a kontrollcsoportban (p < 0,05), amely a nagy arteriák atherosclerosisát jelzi (7. ábra). A PWV a két betegcsoportban együttesen nagyobb volt a kontrollcsoporthoz képest (p < 0,05).

A carotis pontrendszer alapján megállapított pontérték magasabb volt a HTDD+ csoportban mind a kontroll-, mind pedig a HTDD- csoporthoz képest (p < 0,05 mindkét csoportra vonatkozóan (7. ábra).



7. ábra: PWV és carotis score értékek a vizsgálati csoportokban. * $p < 0,05$ a kontrollhoz képest, # $p < 0,05$ a HTDD- csoporthoz képest. HTDD-: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hypertóniás bal kamra diastolés dysfunctióval, K: kontroll, PWV: pulzushullám terjedési sebesség = pulse wave velocity

5.6 Releváns korrelációk a vizsgált paraméterek között

A 7. táblázat a legfontosabb korrelációkat tartalmazza.

A BH_4 és a PAI-I szintek inverz korrelációt mutattak a longitudinális bal kamra systolés és kora diastolés myocardialis deformációs paraméterek abszolút értékeivel.

A $TNF-\alpha$ és az IL-6 szintek szintén inverz korrelációban álltak a longitudinális bal kamra systolés myocardialis deformációs paraméterek abszolút értékeivel.

Az IL-6 szintek inverz korrelációt mutattak a longitudinális bal kamra kora diastolés myocardialis deformációs paraméterek (SR) abszolút értékeivel.

A cGA szintek és a carotis pontérték, valamint a pitvari átvezetési idő, amelyet a [(P hullám-bal pitvari contractio) - (P hullám-jobb pitvari contractio)] időtartammal becsültünk meg, között pozitív korrelációt találtunk.

7. táblázat: Releváns korrelációk a vizsgált paraméterek között

Korrelációk a paraméterek között	P	r
BH ₄ és átlagos maximális longitudinalis bal kamrai S	0,020	0,251
átlagos maximális longitudinalis bal kamrai systolés SR	0,002	0,329
átlagos maximális longitudinalis bal kamrai kora diastolés SR	0,008	-0,285
PAI-I és átlagos maximális longitudinalis bal kamrai S	0,014	0,232
átlagos maximális longitudinalis bal kamrai kora diastolés SR	0,009	-0,246
IL-6 és átlagos maximális longitudinalis bal kamrai S	0,008	0,249
átlagos maximális longitudinalis bal kamrai kora diastolés SR	0,009	-0,285
TNF- α és átlagos maximális longitudinalis bal kamrai S	0,025	0,213
cGA és (P hullám-bal pitvari contractio)-(P hullám-jobb pitvari contractio)	0,026	0,220
carotis score	0,018	0,254
BNP és átlagos maximális pitvari contractió periódus SR	0,004	0,274
átlagos maximális bal pitvari reservoir periódus S	0,016	-0,230
átlagos maximális bal pitvari reservoir periódus SR	0,004	-0,272
átlagos maximális mitralis annulus M-mód kitérés	0,036	-0,210
átlagos maximális mitralis annulus systolés sebesség	< 0,001	-0,352
átlagos E'	0,001	-0,301
átlagos E/E'	0,022	0,218
LVM/BSA	0,028	0,257
EF(S)/LVM	0,030	-0,207
EF(S)/LVM/BSA	0,013	-0,243
LAV	0,001	0,309
LAV/BSA	< 0,001	0,350
PWV és BNP	0,035	0,239
LVM	0,041	0,230
EF(S)	0,009	-0,294
ESV	0,010	0,293
átlagos maximális longitudinalis bal kamrai S	< 0,001	0,535
átlagos maximális longitudinalis bal kamrai systolés SR	< 0,001	0,510
átlagos maximális longitudinalis bal kamrai kora diastolés SR	< 0,001	-0,496
átlagos maximális pitvari reservoir periódus S	0,012	-0,282
átlagos maximális pitvari reservoir periódus SR	< 0,001	-0,389

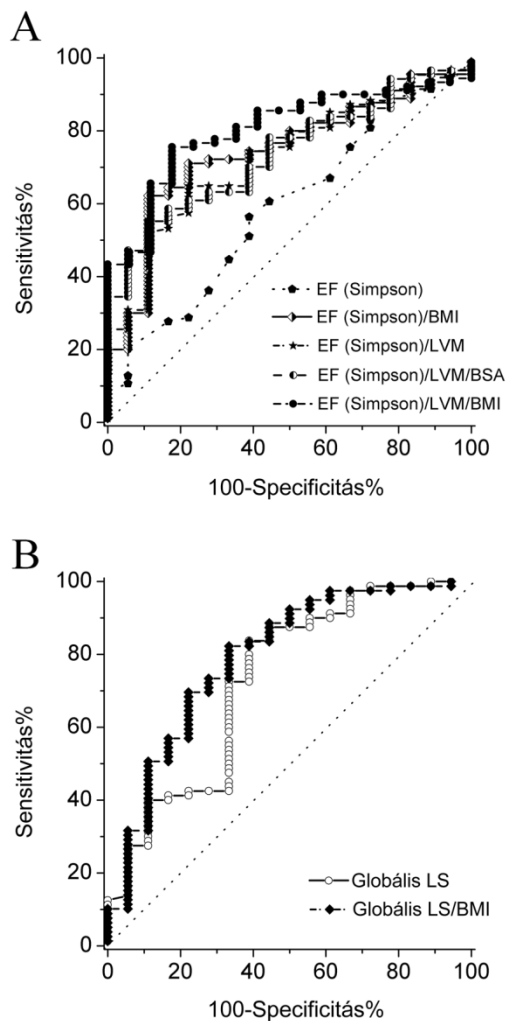
BH₄: tetrahydrobiopterin, BNP: B-típusú nátriuretikus peptid, BSA: testfelszín (body surface area), cGA: chromogranin A, E: transmitralis áramlás maximális kora diastolés telődési sebesség, E': mitralis annulus maximális kora diastolés telődési sebesség, EF: ejectió frakció, EF(S): Simpson módszerrel mért ejectió frakció, ESV: végsystolés volumen (end systolic volume), IL-6: interleukin-6, LA: bal pitvar (left atrium), LAV: bal pitvari volumen (left atrial volume), LVM: bal kamrai izomtömeg (left ventricular mass), PAI-I: plazminogén aktivátor inhibitor-I, PWV: pulzushullám terjedési sebesség (pulse wave velocity), S: strain, SR: strain rate, TNF- α : tumor necrosis factor- α

A plazma BNP szintek negatív korrelációt mutattak a pitvari deformációs paraméterek abszolút értékeivel és néhány hagyományosabb bal kamra systolés és diastolés funkciót jellemző paraméterrel, mint a mitralis annulus M-mód kitérés, mitralis annulus maximális systolés sebesség, E' átlag. A plazma BNP szint és az EF(S)/LVM, illetve az EF(S)/LVM/BSA - a bal kamra systolés dysfunctio jellemzésére újabban javasolt paraméterek (86) - között szintén negatív korrelációt találtunk. A plazma BNP szint pozitívan korrelált a LAV, a LAV/BSA, az LVM/BSA és az átlagos E/E' értékekkel.

A PWV erős inverz korrelációt mutatott a bal kamra systolés és kora diastolés deformációs paraméterek abszolút értékeivel és a Simpson módszerrel meghatározott ejectió frakcióval. A PWV és az átlagos pitvari reservoir periódus maximális S, valamint SR között negatív korrelációt, a PWV és az ESV, LVM, valamint BNP között pozitív korrelációt találtunk.

5.7 Az enyhe bal kamra systolés dysfunctio kimutatására alkalmas legjobb rutin echocardiographiás paraméter

A 8. ábra A része az LVM-re, BMI-re és/vagy BSA-ra normalizált EF(S) ROC görbéit mutatja [EF(S)/LVM, EF(S)/BMI, EF(S)/LVM/BSA, EF(S)/LVM/BMI], melyek a kontrollhoz képest vagy a HTDD+ csoportban vagy mindkét hypertoniás betegcsoportban csökkentek. Az EF(S)/LVM/BMI bizonyult a legjobb paraméternek a bal kamra systolés dysfunctio kimutatásában, és egyedül ez a paraméter korrelált a GLS értékkel ($p = 0,016$). Az EF/LVM/BMI legjobb cutoff értéke $<15,73 \text{ m}^2/\text{kg}^2$ (AUC: görbe alatti terület = area under curve: 0,804, $p < 0,001$, sensitivitás: 75,6%, specificitás: 82,4%) lett.



8. ábra: LVM-re, BMI-re és/vagy BSA-ra normalizált EF(S) ROC görbék és GLS, valamint BMI-re normalizált GLS ROC görbék. A: Az EF(S) és a különböző paraméterekre normalizált EF(S) paraméterek közül az EF(S)/LVM/BMI bizonyult a bal kamra systolés dysfunctiót legjobban jelző paraméternek. B: a GLS és a GLS/BMI ROC görbéi alapján a GLS/BMI jobban jelzi a bal kamra systolés dysfunctiót, mint a GLS. BMI: testtömegindex (body mass index), BSA: testfelszín (body surface area), EF: ejectiósi frakció, LS: longitudinális strain, LVM: bal kamrai izomtömeg (left ventricular mass)

A többi vizsgált paraméter AUC és p értékei a következők voltak: EF(S): AUC: 0,594, $p = 0,21$; EF(S)/LVM: AUC: 0,726, $p < 0,01$; EF(S)/BMI: AUC: 0,743, $p < 0,01$; EF(S)/LVM/BSA: AUC: 0,738, $p < 0,01$.

A ROC analízis alapján a deformációs paraméterek közül a GLS/BMI jobbnak bizonyult a bal kamra systolés dysfunctio jelzésében, mint a GLS (AUC: 0,79 vs. 0,73, $p < 0,001$ vs. $p < 0,01$, sensitivitás: 73,4% vs. 72,5%, specificitás: 72,2% vs. 66,7%; a GLS/BMI legjobb cutoff értéke $>-0,646 \text{ m}^2/\text{kg}$, a GLS esetén a legjobb cutoff érték $>-16,4\%$) (8. ábra B rész).

Eredményeink megerősítették, hogy az EF(S)/LVM/BMI ugyanolyan pontossággal jelzi az enyhe bal kamra systolés dysfunctiót, mint a jóval bonyolultabb módszerrel mérhető legjobb bal kamra systolés myocardiális deformációs paraméter, a GLS/BMI.

5.8 A vizsgált individuális genetikai polimorfizmusok kapcsolata a hypertoniával és a bal kamra diastolés dysfunctióval

5.8.1 MAF eloszlás

Vizsgálataink megerősítették, hogy mind a hat SNP alléljainak megoszlása megfelelt a Hardy–Weinberg egyensúlynak. A vizsgált individuális SNP-k a MAF-ok tekintetében nem különböztek egymástól. Referencia MAF-nak az általános kaukázusi populációra vonatkozó, a legfrissebb HapMap adatbázisban közölt minor allél frekvenciákat tekintettük (8. táblázat).

8. táblázat: Az individuális SNP-k minor allél frekvenciái

Gén	SNP	Referencia MAF	Kontroll MAF	HTDD- MAF	HTDD+ MAF	p	HW p
GTPCH	rs841	0,23	0,13	0,11	0,16	0,580	0,702
GTPCH	rs8007267	0,48	0,13	0,12	0,14	0,907	0,927
GTPCH	rs3783641	0,25	0,16	0,14	0,15	0,939	0,914
GTPCH	rs10483639	0,23	0,13	0,11	0,16	0,580	0,702
eNOS	rs1799983	0,34	0,19	0,27	0,29	0,485	0,727
MnSOD	rs4880	0,46	0,69	0,57	0,50	0,161	0,792

GTPCH: guanozin-trifoszfát-ciklohidroláz, HTDD-: hipertóniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hipertóniás bal kamra diastolés dysfunctióval, HW p: p érték, mely azt jelzi, hogy a különböző SNP-k MAF-jai szignifikánsan eltérnek-e a Hardy-Weinberg egyensúlytól, MAF: minor allél frekvencia, MnSOD: mangán-szuperoxid-dizmutáz, referencia MAF: az általános kaukázusi populációra vonatkozó, a legfrissebb HapMap adatbázisban közölt minor allél frekvenciák, NOS: nitrogén-monoxid-szintáz, SNP: single nucleotid polimorfizmus

5.8.2 GTPCH-1 haplotípus elemzés

Az általunk elvégzett kapcsoltsági egyensúlytalansági analízis (az adatokat nem mutatjuk be részletesen) erős kapcsoltságot mutatott a négy vizsgált GTPCH SNP között a Doehring és munkacsoportja által publikált adatoknak (94) és a HapMap adatbázisnak megfelelően.

5.8.3 Az oxidatív stresszel és BH₄ metabolizmussal összefüggésben lévő SNP-k kombinált hatása a hipertoniára és a bal kamra diastolés dysfunctióra

A várakozásoknak megfelelően egyik vizsgált individuális SNP MAF-jai sem mutattak szignifikáns eltérést a kontrollcsoportétól, illetve nem voltak szignifikáns összefüggésben a hipertoniával vagy a bal kamra diastolés dysfunctióval sem.

Ezért egy, a vizsgált SNP-k minor alléleinek teljes számán alapuló genetikai pontrendszert hoztunk létre, amely jelzi a vizsgált egyén predispozícióját oxidatív stresszre. A különböző csoportok genetikai pontszámait a 9. táblázat mutatja.

9. táblázat: A különböző csoportok genetikai pontszámai

Genetikai pontszám	Kontroll (n = 16)	HTDD- (n = 37)	HTDD+ (n = 54)
0	3	3	8
1	8	18	11
Oxidatív stressz szempontjából alacsony rizikó	11/16 (68,7%)	21/37 (56,8%)	19/54 (35,2%)
2	3	8	21
3	2	5	7
4	0	3	7
5	0	0	0
Oxidatív stressz szempontjából magas rizikó	5/16 (31,3%)	16/37 (43,2%)	35/54 (64,8%)
HTDD-: hipertoniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hipertoniás bal kamra diastolés dysfunctióval			

A hipertonia és a bal kamra diastolés dysfunctio jelenlétével párhuzamosan az oxidatív stressz szempontjából alacsony rizikójú betegek aránya csökkent, míg a magas rizikójú betegek aránya nőtt. A magas genetikai pontszámú betegek - amely fokozott predispozíciót jelez oxidatív stresszre - szignifikánsan nagyobb kockázattal tartoztak a HTDD+ csoportba (azaz volt bal kamra diastolés dysfunctiójuk) [OR (95% CI): 4,05

(1,23–13,40); $p = 0,023$) az életkorra, nemre, dohányzási státuszra, obesitasra, HDL és LDL koleszterinszintre és a GFR-re történt illesztés után is [illesztett OR (95% CI): 4,79 (1,12–20,54); $p = 0,035$]. A magas genetikai pontszámú betegek rizikójának emelkedése a bal kamra diastolés dysfunctio nélkül előforduló hypertoniára csak trendszerű volt (10. táblázat).

10. táblázat: Az oxidatív stressz genetikai kockázatának kapcsolata a bal kamra diastolés dysfunctióval

Betegcsoport	Alacsony rizikó (%)	Magas rizikó (%)	OR (95% CI)	p	Illesztett OR (95% CI)*	p
Kontroll (n = 16)	11 (68,7)	5 (31,3)			1	
HTDD- (n = 37)	21 (56,8)	16 (43,2)	1,68 (0,48-5,80)	0,544	1,66 (0,38-7,16)	0,498
HTDD+ (n = 54)	19 (35,2)	35 (64,8)	4,05 (1,23-13,40)	0,023	4,79 (1,12-20,54)	0,035

CI: konfidencia intervallum (confidence interval), HTDD-: hypertoniás bal kamra diastolés dysfunctio nélkül, HTDD+: hypertoniás bal kamra diastolés dysfunctióval, OR: esélyhányados (odds ratio), vastagon szedett p érték: szignifikáns különbség, *: életkorra, nemre, dohányzási státuszra, obesitasra, HDL és LDL koleszterinszintre és a GFR-re történt illesztés után

6 MEGBESZÉLÉS

6.1 Hypertoniás normális ejectiós frakciójú betegekben a bal kamra systolés és diastolés dysfunctiónak és a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetének elsődleges oka az oxidatív stressz és a gyulladás lehet

A hypertoniás betegcsoportokban a kontrollhoz képest emelkedett PK és plazma BH₄ szintek oxidatív stressz jelenlétére utalnak hypertoniás normális ejectiós frakciójú betegekben. A hypertoniás betegcsoportokban észlelt jelentősen emelkedett PAI-I szintek szintén az oxidatív stressz jelenlétét támasztják alá, mivel a PAI-I szint az oxidatív stresszel párhuzamosan emelkedik (186, 187).

A hypertoniás betegcsoportokban észlelt, a kontrollcsoportéhoz képest emelkedett TNF- α és a HTDD+ csoportban az emelkedett CRP szint megerősíti a gyulladás jelenlétét.

A hypertonia a HFpEF leggyakoribb okának és prekursor állapotának tekinthető betegség. A hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenete progresszív bal kamra hypertrophiával és a bal kamra diastolés és a pitvari funkció romlásával jellemezhető (37). Eredményeink alapján azoknál a betegeknél, akiknél az utánkövetés során a bal kamra diastolés funkció romlott, magasabb PK és IL-6 szinteket észleltünk mind a saját kiindulási értékeikhez, mind pedig azon betegek értékeihez képest, akiknek a bal kamra diastolés funkciója változatlan maradt az utánkövetés során. Az LVM a progresszív bal kamra diastolés dysfunctióval párhuzamosan nőtt.

Irodalmi adatok szólnak amellett, hogy az emelkedett plazma BH₄ szintek csökkent endothelialis és potenciálisan csökkent szöveti BH₄ szintekkel járnak együtt, amely a NOS enzim szétkapcsolódásához és következményes oxidatív stresszhez vezet (56, 57). Ezért valószínű, hogy a betegeinkben észlelt emelkedett plazma BH₄ szintek csökkent myocardialis BH₄ szintekkel járnak együtt. Ez a myocardialis NOS szétkapcsolódásához és myocardialis oxidatív stresszhez vezet. Hypertoniás HFpEF

egérmodellekben elegánsan bizonyították, hogy a HFpEF-ért a myocardialis NOS szétkapcsolás következtében létrejövő oxidatív stressz a felelős, nem pedig általában véve az oxidatív stressz vagy önmagában a hypertonia (53, 54). Eredményeink igazolják, hogy a gyulladás, az oxidatív stressz és a csökkent szöveti BH₄ szintek - főleg a myocardialis NOS szétkapcsolódás következtében kialakuló myocardialis oxidatív stressz - olyan kedvezőtlen változásokat idéznek elő, melyek felgyorsíthatják a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetét.

A plazma BH₄, PAI-I, TNF- α és IL-6 szintek inverz korrelációt mutattak a longitudinális systolés és - a TNF- α kivételével - a longitudinális kora diastolés myocardialis deformációs paraméterek abszolút értékeivel. Ez is alátámasztja azt a hypothesisit, hogy a fokozott oxidatív stressz és a gyulladás nemcsak a bal kamra diastolés funkció romlásában kiemelt jelentőségű, hanem potenciális patogenetikai szerepe lehet a bal kamra systolés dysfunctio kialakulásában is.

6.2 A progresszív bal kamra diastolés dysfunctióval párhuzamos fokozott atherosclerosis

A kontroll- és a HTDD- csoporthoz képest a HTDD+ csoportban megfigyelt magasabb PWV és carotis score a bal kamra diastolés funkció romlásával párhuzamosan megjelenő előrehaladott atherosclerosisra utal a nagy arteriákban. Az oxidatív stressz és a gyulladás patogenetikai szerepe az atherosclerosisban bizonyított (188, 189), így feltételezhető, hogy a fokozott oxidatív stressz és a gyulladás hozzájárulhat a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be való átmenetéhez és a bal kamra systolés és diastolés dysfunctióhoz a hypertoniás betegekben, miközben a nagy arteriákban fokozott atherosclerosisához vezet.

6.3 A pitvari dysfunctio lehetséges okai hypertoniás, megtartott ejectió frakciójú betegekben

A HTDD+ csoportban kimutatott a kontrollhoz képest emelkedett cGA szint, a cGA szint pozitív korrelációja a pitvari vezetési idővel, a pitvari myocardialis deformációs paraméterek abszolút értékeivel kimutatott inverz korrelációja, valamint pozitív korrelációja a bal pitvari volumennel és a LAV/BSA-val arra utal, hogy a bal kamra systolés és diastolés dysfunctio következményeként fellépő neuroendocrin aktiváció jelentősen hozzájárulhat a pitvari dysfunctio kialakulásához a hypertoniás betegekben.

A pitvari dysfunctio fontos meghatározója lehet a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetének (37). A BNP szintek fordítottan arányosak néhány hagyományos bal kamra systolés és diastolés dysfunctiót jelző markerrel, utalva arra, hogy a neuroendocrin aktiváció hozzájárulhat a bal kamra systolés és diastolés funkció romlásához.

6.4 Klinikai jelentőség

Bár több klinikai vizsgálat is zajlik HFpEF-ben, jelenleg még nincs bizonyítékokon alapuló hatékony terápia. Más szerzők munkájával összhangban (54-56, 170) eredményeink alapján a BH₄ adása, mely megakadályozhatja a myocardialis NOS enzim szétkapcsolódását, gátolhatja a HFpEF kialakulását, esetlegesen pedig vissza is fordíthatja a kórképet, ígéretes lehet a HFpEF kezelésére.

6.5 Biokémiai eredményeink korlátai

Biokémiai vizsgálatunk fontos korlátja, hogy etikai okokból nem tudtunk myocardialis mintákból biokémiai méréseket végezni. A myocardialis BH₄ szinteket így

nem mérhettük meg, közvetlenül tehát nem tudtuk bizonyítani a myocardialis NOS szétkapcsolódást.

A vizsgálat kezdetén egyetlen betegünk sem volt szívelégtelen, azonban az utánkövetés során két betegnél alakult ki HFpEF. Hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegeinknél tehát azt tudtuk igazolni, hogy az oxidatív stressz és a gyulladás kapcsolatban állhat a bal kamra diastolés funkció romlásával, a pitvari dysfunctióval és a bal kamra hypertrophia progressziójával. A fentiek mind a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be való átmenetének fontos meghatározói.

A kórházi környezetben kevés ≥ 60 éves egészséges személy fordul meg, aki megfelel a beválasztási kritériumoknak, így a kontrollcsoportba viszonylag kisszámú személy került beválasztásra.

6.6 A MacIver-Townsend hypothesis igazolása

Vizsgálatunkban megerősítettük a MacIver – Townsend hypothesis-t hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegekben. MacIver és Townsend a bal kamrai contractio matematikai modelljének használata alapján azt feltételezte, hogy HFpEF-ben a normális ejectiós frakció a fokozott bal kamra hypertrophia következtében létrejött megtartott abszolút radialis falvastagodás következménye, nem pedig a fokozott radialis vagy circumferencialis systolés funkció okozza.

A HFpEF-fel kapcsolatosan közölt irodalmi adatokhoz hasonlóan, a HFpEF leggyakoribb prekursor állapotának és előidéző okának tekinthető hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegeink körében is kimutattunk enyhén csökkent bal kamra systolés funkciót a myocardialis deformációs paraméterek segítségével, amelyet a rutin szívultrahang vizsgálat során nem tudtunk volna felismerni. Kidolgoztunk egy új rutin echocardiographia során is használható bal kamra systolés funkciót jellemző paramétert - az EF(S)/LVM/BMI-t -, amely az ejectiós frakcióval szemben, a jóval bonyolultabb és rutinszerűen még nem alkalmazott myocardialis deformációs paraméterekhez hasonló pontossággal jelzi az enyhe bal kamra systolés dysfunctiót.

A bal kamra diastolés dysfunctio mértékével párhuzamos LVM növekedés, a bal kamra hypertrophia és a bal kamra diastolés dysfunctio mértékével párhuzamos EF(S)/LVM/BMI csökkenés és GLS abszolút érték trendszerű csökkenése azt jelzik, hogy a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenete alatt az LVM növekedése (37) és a bal kamra systolés funkciójának enyhe progresszív romlása következhet be. Többszörös logisztikus regressziós analízis során, ahol az életkort, a nemet és a bal kamra diastolés dysfunctiót tekintettük független változónak, a férfi nem és a bal kamra diastolés dysfunctio bizonyult a bal kamra systolés dysfunctio független prediktorának.

6.7 A megtartott ejectiós frakció lehetséges mechanizmusa HFpEF-ben

A HFpEF háttérében álló tényezők (pl. hypertonia, diabetes mellitus, obesitas, stb.) először a legsérülékenyebb, longitudinálisan elhelyezkedő subendocardialis szívmizomrostokat károsítják, amely csökkent longitudinális bal kamra systolés funkcióhoz és csökkent verővolumenhez vezet. Ugyanezen tényezők bal kamra hypertrophiát is okoznak a fokozott oxidatív stresszen és/vagy afterload-on keresztül, amely csökkent EDV-t eredményez. Az ejectiós frakció az SV/EDV hányadossal számolható. Ha mind az EDV, mind az SV kb. azonos mértékben csökken, az EF változatlan marad. Ez a lehetséges mechanizmus összhangban áll az eredményeinkkel és a MacIver – Townsend hypothesis-sal is. A HTDD+ csoportban csak trendszerű csökkenést találtunk az SV és az EDV értékekben.

6.8 A bal kamra systolés dysfunctio kimutatásának javítása HFpEF-ben

Más szerzőkkel ellentétben (190) a hypertoniás betegekben mért systolés mitralis annulus sebességek nem csökkentek a kontrollcsoporthoz képest. A mitralis annulus kitérés és az IVV sem csökkent a hypertoniás betegekben.

Az ejectiós frakcióval ellentétben - amely nem képes kimutatni az enyhe – mérsékelt fokú longitudinalis bal kamra systolés funkció csökkenést - az EF(S)/LVM/BMI csökkent a hypertoniás betegeinkben. A ROC analízis alapján az EF(S)/LVM/BMI bizonyult a legjobb rutin echocardiographiás paraméternek a bal kamra systolés dysfunctio kimutatására.

Bár korábbi humán vizsgálatok (73, 77, 78, 87) a MacIver–Townsend hypothesis bizonyos elemeivel összhangban lévő eredményeket hoztak, legjobb tudomásunk szerint mi végeztünk először humán vizsgálatot közvetlenül a hypothesis tesztelése céljából, elősegítve ezzel a HFpEF patogenezisének jobb megismerését. Az eredményeink fontosak, mivel alátámasztják azt az elterjedőben lévő nézetet, hogy a HFpEF kialakulásában nemcsak a diastolés dysfunctio az egyetlen patofiziológiai tényező, hanem a systolés funkció zavara is fontos szerepet tölt be (191). A hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegeinkben, akiknek csak egy részénél mutattunk ki enyhe diastolés dysfunctiót, a kóros folyamatokban feltehetően csak a longitudinalis elhelyezkedésű subendocardialis rostok érintettek, csökkent longitudinalis bal kamra systolés funkciót eredményezve. A középső rostok, melyek főleg a circumferencialis és radialis deformációért felelősek, relatíve intaktak maradnak, megtartott ejectiós frakcióhoz vezetve. Korábbi publikációk alapján a középső falterület frakcionális rövidülése megbízható jelzője a bal kamra systolés dysfunctiójának (73-75), prognosztikai értéke bizonyított (192). A középső falterület frakcionális rövidülése helyett mi a myocardialis deformációs paramétereket használtuk, mivel ezzel a módszerrel közvetlenül kimutatható a bal kamra systolés dysfunctio, míg a középső falterület frakcionális rövidülésének becslése matematikai feltevéseken alapul. Szignifikáns lineáris összefüggés mutatható ki az átlagos circumferencialis S és középső falterületi frakcionális rövidülés között (193), illetve a circumferencialis S hasonlóan kiváló prognosztikai értékkel bír, mint a középső falterületi frakcionális rövidülés (194).

6.9 A MacIver-Townsend hypothesis-sal kapcsolatos vizsgálataink korlátai

A felvetésünket, hogy az ejectiósi frakcióval szemben az EF(S)/LVM/BMI alkalmazható lehet mint egyszerű, rutin diagnosztikai paraméter az enyhe systolés bal kamra dysfunctio kimutatására, nagyszámú betegen kellene igazolni.

A myocardialis deformációs paramétereket befolyásolja a preload és az afterload, vizsgálatunkban azonban a myocardialis deformáció preload-tól és afterload-tól való függését nem elemeztük. A résztvevők vagy egészséges kontrollszemélyek, vagy komplikációmentes hypertoniás betegek voltak enyhe diastolés dysfunctióval vagy anélkül, akiknél szívelégtelenség nem állt fenn. Mind az emelkedett, mind az alacsony preload előfordulása valószínűtlen volt, mivel csak két betegnél észleltünk 1a fokú diastolés dysfunctiót, amely emelkedett bal pitvari töltőnyomásra utalhat, valamint nem találtunk a csoportok között különbséget az EDV, a bal pitvari volumenek, az LVOT sebességek és az LVOT-VTI tekintetében. Más szerzők egybehangzóan igazolták, hogy a longitudinális és a circumferencialis végsystolés falfeszülés alacsonyabb a bal kamra hypertrophiás hypertoniás betegekben, mint a kontrollcsoportban, ami csökkent afterload-ra utal az előbbi csoportban. A csökkent bal kamra longitudinális és circumferencialis systolés funkció így nem lehet a fokozott afterload következménye a bal kamra hypertrophiás hypertoniás betegekben (73, 74, 190). Irodalmi adatok alapján a systolés falfeszülés szignifikáns mértékben vagy trendszerűen csökkent, de semmiképpen sem nőtt a bal kamra hypertrophia nélküli hypertoniás betegcsoportban (74), illetve egy másik hypertoniás populációban, ahol a betegek csak 25%-ának volt bal kamra hypertrophiája (190) a kontrollcsoportéhoz viszonyítva. A longitudinális frakcionális rövidülés nem mutatott szoros kapcsolatot a longitudinális falfeszüléssel (73), ami azt valószínűsítette, hogy az afterload helyett egyéb tényezők befolyásolják jelentős mértékben a longitudinális frakcionális rövidülést. Összefoglalva tehát, bár vizsgálatunk fontos korlátja hogy nem vizsgáltuk a myocardialis deformációs paraméterekkel párhuzamosan a systolés falfeszülést, mégis valószínűtlen, hogy a normálistól eltérő preload vagy afterload értékek jelenléte betegeinkben érdemben befolyásolta volna a vizsgálatunk eredményeit.

További korlátja vizsgálatunknak, hogy az intraventricularis vezetési zavar EKG jeleit mutató betegeket nem zártuk ki. Azonban a hypertoniás betegek kis részénél találtunk csak intraventricularis vezetési zavart (10,5%-nál a HTDD- csoportban és 10,7%-nál a HTDD+ csoportban). A speckle tracking módszerrel mért S értékek e betegek statisztikai analízisből történő kivétele után is ugyanolyanok maradtak, így kizárható volt az a lehetőség, hogy a néhány betegnél észlelt intraventricularis vezetési zavar megváltoztatta volna az eredményeket.

Nagyon kevés cardiovascularis esemény lépett fel a komplikációmentes, jó állapotú hypertoniás betegeink között, így ebben a betegcsoportban nem tudtuk az EF(S)/LVM/BMI prognosztikai jelentőségét vizsgálni a cardiovascularis események tekintetében.

A betegek a tervezettnél lassúbb bevonása és kisebb száma is limitálta az eredményeinket.

6.10 Genetikai vizsgálatok

Igazoltuk a hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegek genetikai hajlamát oxidatív stresszre, amely többszörös logisztikus regressziós analízissel vizsgálva a bal kamra diastolés dysfunctio jelenlétével párhuzamosan fokozódott, az életkorra, nemre, dohányzási státuszra, obesitasra, HDL és LDL koleszterinszintre és a GFR-re történő illesztés után is. Az LVM önmagában vagy BSA-ra vagy BMI-re normalizálva szintén a bal kamra diastolés dysfunctio jelenlétével párhuzamosan nőtt. Mivel a bal kamra diastolés dysfunctio és a hypertrophia fontos markerei a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetének (37), az eredményeink arra utalnak, hogy minél több oxidatív stresszre hajlamosító allél fordul elő egy hypertoniás betegben, annál nagyobb az esély a hypertoniás szívbetegségből a HFpEF kialakulására.

A hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegeinkben az emelkedett PK és emelkedett plazma BH₄ és teljes biopterin szintek alapján kimutattuk az oxidatív stressz jelenlétét. Az emelkedett plazma BH₄ és teljes biopterin szint alapján feltételezhető,

hogy az oxidatív stressz a myocardiális NOS szétkapcsolódás következtében jön létre, mivel irodalmi adatok szerint az emelkedett plazma BH₄ szint csökkent vascularis és valószínűleg csökkent szöveti BH₄ szinttel jár együtt (56, 57), ami NOS szétkapcsolódáshoz vezet. Állatkísérletes HFpEF modellekben bizonyított, hogy a myocardiális NOS szétkapcsolódás az oxidatív stressz legvalószínűbb oka (53, 54). Legjobb tudásunk szerint hypertoniás betegekben eddig csak az oxidatív stresszel összefüggésben lévő enzimeket kódoló egyes individuális gének SNP-it vizsgálták, vizsgálatunk az első, amely a hypertoniás betegek oxidatív stresszre való genetikai predispozíóját mérte fel.

6.11 A vizsgált génpolimorfizmusok kiválasztása

Az általunk vizsgált génpolimorfizmusok közös tulajdonsága, hogy kapcsolatban állnak mind az endothel dysfunctióval vagy a hypertoniával, mind pedig az oxidatív stresszel, és, hogy a gének által kódolt enzimek funkciója egymáshoz kapcsolódik az oxidatív stressz elleni sejtszintű védelemben. Feltételeztük, hogy a fokozott oxidatív stresszel, endothel dysfunctióval és hypertoniával összefüggésben álló minor allélek prevalenciája nagyobb lesz a HTDD- csoportban, mint a kontrollszemélyekben, és még nagyobb a HTDD+ csoportban, mint a HTDD- csoportban. A munkahypothesisünk összhangban áll azzal a feltételezéssel, hogy a bal kamra diastolés dysfunctio megjelenése fontos eleme és jelzője a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetének, és, hogy ez az átalakulás legalább részben genetikailag meghatározott. Eredményeink megerősítették ezt a feltevést, mivel a vizsgált individuális SNP-k minor allél frekvenciáin alapuló oxidatív stresszre történő predispozíciót jelző genetikai pontszám a bal kamra diastolés dysfunctio jelenlétével párhuzamosan nőtt. Minden több gén által meghatározott betegség esetében nehéz meghatározni az egyes genetikai variánsok hatását a fenotípusra. Genetikai pontszámunk egyszerű modellje lehet a jellegek mennyiségi öröklődésének. Modellünk jól jellemzi a társuló fenotípust és

hasznos markere lehet a bal kamra diastolés dysfunctio progressziójának és a hypertoniás szívbetegség átalakulásának HFpEF-be.

6.12 Genetikai vizsgálataink korlátai

Mindössze 6, az oxidatív stresszel összefüggésben lévő SNP-t vizsgáltunk, a redox metabolizmus szabályozása, a szabadgyökök termelése és eliminációja a sejtekben jóval összetettebb folyamat, melyben számos enzim és gén vesz részt. Igazoltuk a hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegeknél a genetikai predisposíciót oxidatív stresszre, amely a diastolés bal kamra dysfunctio jelenlétével párhuzamosan nőtt, azonban a pontos patofiziológiai mechanizmus tisztázása és annak vizsgálata, hogy a fokozott genetikai predispositio oxidatív stresszre valóban szerepet játszik-e a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átalakulásában további vizsgálatokat igényel. Egyes gyógyszerek, például a statinok, a renin-angiotenzin rendszer inhibitorai és a béta-blokkolók antioxidáns hatásuk révén csökkenthetik a hypertoniás betegekben az oxidatív stresszt (195, 196).

Mivel a vizsgált személyek száma, különösen a kontrollcsoportban, kicsi volt, és nem tudtuk az eredményeket egy hitelesítést szolgáló kohorsz adataival összevetni, így az előzetes eredményeink nagyobb populációban és hitelesítő kohorsszal még további vizsgálatokra szorulnak.

7 KÖVETKEZTETÉSEK

A HFpEF prekursor állapotának tekinthető hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegeken - normotensiós kontroll személyekkel történő összehasonlítással - végzett, a HFpEF patomechanizmusát és a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetét kutató vizsgálatunk során az alábbi új megállapítások születtek:

1. Az oxidatív stressz - különösen a myocardiális NOS szétkapcsolódás következtében létrejövő myocardiális oxidatív stressz - és a gyulladás patogenetikai szerepet játszhat a hypertoniás betegekben a megtartott ejectiós frakció ellenére is kimutatható enyhe systolés bal kamra dysfunctio kialakulásában és a diastolés dysfunctio létrejöttében, valamint progressziójában. Az oxidatív stressz és a gyulladás emellett hozzájárulhat a nagy arteriákban fellépő atherosclerosis progressziójához is. Az enyhe systolés bal kamra dysfunctio és a diastolés funkció romlása progresszív bal kamra hypertrophiával, neuroendocrin aktivációval és pitvari dysfunctióval társulnak, melyek a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be való átmenetének fontos meghatározói. Ezért az oxidatív stressz és a gyulladás fontos szerepet játszhat a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetében is (197).
2. Bár korábbi humán vizsgálatokban is közöltek HFpEF-ben az enyhén-mérsékelten csökkent systolés bal kamra funkció ellenére megtartott ejectiós frakció mechanizmusát magyarázó, a MacIver-Townsend hypothesis egyes megállapításait részben támogató eredményeket, mi végeztünk először szisztematikus humán vizsgálatot a MacIver-Townsend hypothesis érvényességének tesztelése céljából. Eredményeink bizonyították a bal kamra contractio matematikai modelljén alapuló MacIver-Townsend hypothesis helyességét hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegekben, amely szerint az enyhén csökkent longitudinalis bal kamra systolés funkció ellenére megtartott ejectiós frakció nem a radialis és circumferencialis bal

kamra systolés funkció kompenzatorikus növekedésének eredménye, hanem a bal kamra hypertrophia következtében megtartott abszolút radialis falvastagodásé (198).

3. Szemben az ejectiós frakcióval, a vizsgálatunkban alkalmazott, rutin echocardiographia során mérhető EF(S)/LVM/BMI a megtartott ejectiós frakciójú hypertoniás betegekben képes volt kimutatni az enyhe – mérsékelt fokú longitudinalis bal kamra systolés funkció csökkenést ugyanolyan pontossággal, mint a bonyolultabb, echocardiographiás vizsgálatban rutinszerűen még nem alkalmazott, de a systolés bal kamra funkció noninvazív becslésére legpontosabbnak tartott myocardialis deformációs paraméterek (strain, strain rate). Ezáltal, amennyiben a jövőben nagyobb számú betegen végzett, HFpEF betegcsoportot is tartalmazó vizsgálatok szintén igazolják eredményeinket, egy új, egyszerű, rutin echocardiographiás paramétert fejlesztettünk ki, amely HFpEF-ben és prekursor állapotaiban is alkalmazható lehet a systolés bal kamra funkció vizsgálatára (198).
4. Vizsgálataink alapján valószínű, hogy a HFpEF prekursor állapotának tekinthető normális ejectiós frakciójú, hypertoniás betegekben kimutatható fokozott oxidatív stressz legalább részben genetikai faktorok által meghatározott. A genetikai hajlam oxidatív stresszre a bal kamra diastolés dysfunctio mértékével párhuzamosan nő. Az általunk kidolgozott genetikai pontrendszer, mely az oxidatív stresszel, BH₄ metabolizmussal és NOS funkcióval összefüggésben álló enzimeket kódoló 6 gén SNP-inek MAF-jain alapul, a bal kamra diastolés dysfunctio és a pitvar dysfunctio markereivel, valamint a bal kamrai izomtömeggel együttesen hasznos lehet a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetének jelzésében (199).

8 ÖSSZEFOGLALÁS

A HFpEF prevalenciája emelkedik, patogenezise feltáratlan, egyértelműen bizonyított, hatékony terápiája nincs. A HFpEF-hez vezető társbetegségek közül leggyakrabban a hypertonia áll a háttérben, így a HFpEF prekursor állapotának tekinthető.

Megtartott ejectiós frakciójú, ≥ 60 éves hypertoniás betegek és normotensiós kontrollok részvételével vizsgáltuk 1) az oxidatív stressz, a gyulladás, a procoaguláns állapot és a neuroendocrin aktiváció szerepét a hypertoniás szívbetegségből HFpEF-be történő átmenetben; 2) HFpEF-ben az enyhén-mérsékeltlen csökkent systolés bal kamra funkció ellenére megtartott EF mechanizmusát magyarázó, a bal kamra contractio matematikai modelljén alapuló MacIver-Townsend hypothesis érvényességét humán vizsgálatban; 3) rutin echocardiographia során is használható bal kamra systolés funkciós paraméter alkalmazásának lehetőségét, amely HFpEF-ben és prekursor állapotaiban is jól jelzi az enyhe systolés bal kamra dysfunctiót és 4) a hypertoniás, megtartott ejectiós frakciójú betegek genetikai predisposícióját oxidatív stresszre.

A hypertoniás betegek 40%-ánál nem volt (HTDD- csoport), 60%-ánál volt bal kamra diastolés dysfunctio (HTDD+ csoport). A hypertoniás betegcsoportokban a kontrollhoz képest emelkedett PK, plazma BH₄ és PAI-I szintek oxidatív stressz jelenlétére utaltak. A hypertoniás betegcsoportokban a kontrollcsoportéhoz képest emelkedett TNF- α és a HTDD+ csoportban az emelkedett CRP szintek megerősítették a gyulladás jelenlétét.

Eredményeink alátámasztották a MacIver – Townsend hypothesis, mely szerint HFpEF-ben a normális ejectiós frakció a bal kamra hypertrophia következtében létrejött megtartott abszolút radialis falvastagodás következménye.

Kidolgoztunk egy új, rutin echocardiographia során is használható bal kamra systolés funkciót jellemző paramétert, az EF(S)/LVM/BMI-t, amely az ejectiós frakcióval szemben a myocardialis deformációs paraméterekhez hasonló pontossággal jelzi az enyhe bal kamra systolés dysfunctiót.

Igazoltuk a hypertoniás, megtartott EF-ű betegek genetikai hajlamát oxidatív stresszre, minél több oxidatív stresszre hajlamosító allél fordul elő egy hypertoniás betegben, annál nagyobb az esély a hypertoniás szívbetegség HFpEF-be történő átmenetére.

9 SUMMARY

The prevalence of HFpEF is increasing, its pathogenesis is unclear and evidence based efficient therapy is lacking. Amongst the diseases leading to HFpEF, hypertension is the most common, thus it can be considered as a precursor condition of HFpEF.

We investigated in ≥ 60 -year-old hypertensive patients and normotensive controls with normal EF 1) the role of oxidative stress, inflammation, procoagulant state and neuroendocrine activation in the transition of hypertensive heart disease to HFpEF; 2) the validity of MacIver and Townsend's hypothesis, based on a mathematical model of left ventricular contraction, which explains the mechanism of preserved EF despite subtle left ventricular systolic dysfunction in HFpEF; 3) the applicability of a novel routine echocardiographic left ventricular systolic function parameter devised by us, suitable for the detection of subtle left ventricular systolic dysfunction in HFpEF and its precursor conditions; 4) the genetic predisposition of patients with hypertension and preserved EF for oxidative stress.

40% of the hypertensive patients had no diastolic dysfunction (HTDD-), 60% had diastolic dysfunction (HTDD+). Increased protein carbonilation, plasma BH₄ and PAI-I levels in the hypertensive groups compared to the controls suggested the presence of oxidative stress. The elevated TNF- α levels in the hypertensive groups and the elevated CRP levels in the HTDD+ group compared to the controls confirmed inflammation.

Our results verified the MacIver-Townsend hypothesis, stating that the normal EF in HFpEF is the result of preserved absolute radial wall thickening due to left ventricular hypertrophy.

We devised a new, simple, routine echocardiographic left ventricular systolic function parameter, the EF(S)/LVM/BMI, which, in contrast to EF itself, could detect subtle left ventricular systolic dysfunction with the same accuracy as the more complicated myocardial deformation parameters.

The genetic predisposition to oxidative stress in hypertensive patients with normal EF was verified, the more alleles predisposing to oxidative stress a patient had, the greater the chance for the transition of hypertensive heart disease to HFpEF was.

10 IRODALOMJEGYZÉK

1. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Kober L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Ronnevik PK, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F, Zeiher A, Bax JJ, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S, McDonagh T, Sechtem U, Bonet LA, Avraamides P, Ben Lamin HA, Brignole M, Coca A, Cowburn P, Dargie H, Elliott P, Flachskampf FA, Guida GF, Hardman S, Jung B, Merkely B, Mueller C, Nanas JN, Nielsen OW, Orn S, Parissis JT, Ponikowski P. (2012) ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail*, 14: 803-69.
2. Sanderson JE. (2014) HFNEF, HFpEF, HF-PEF, or DHF: what is in an acronym? *JACC Heart Fail*, 2: 93-4.
3. Lam CS. (2014) What is normal in HFNEF?: The case for HFpEF. *JACC Heart Fail*, 2: 541-3.
4. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GM, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; Authors/Task Force Members; Document Reviewers. (2016) 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail*, 18: 891-975.

5. Komajda M, Lam CS. (2014) Heart failure with preserved ejection fraction: a clinical dilemma. *Eur Heart J*, 35: 1022-32.
6. Borlaug BA. (2014) The pathophysiology of heart failure with preserved ejection fraction. *Nat Rev Cardiol*, 11: 507-15.
7. Butler J, Fonarow GC, Zile MR, Lam CS, Roessig L, Schelbert EB, Shah SJ, Ahmed A, Bonow RO, Cleland JG, Cody RJ, Chioncel O, Collins SP, Dunnmon P, Filippatos G, Lefkowitz MP, Marti CN, McMurray JJ, Misselwitz F, Nodari S, O'Connor C, Pfeffer MA, Pieske B, Pitt B, Rosano G, Sabbah HN, Senni M, Solomon SD, Stockbridge N, Teerlink JR, Georgiopoulou VV, Gheorghiade M. (2014) Developing therapies for heart failure with preserved ejection fraction: current state and future directions. *JACC Heart Fail*, 2: 97-112.
8. Cleland JG, Pellicori P, Dierckx R. (2014) Clinical trials in patients with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction. *Heart Fail Clin*, 10: 511-23.
9. De Keulenaer GW, Brutsaert DL. (2011) Systolic and diastolic heart failure are overlapping phenotypes within the heart failure spectrum. *Circulation*, 123: 1996-2004; discussion 2005.
10. Senni M, Paulus WJ, Gavazzi A, Fraser AG, Díez J, Solomon SD, Smiseth OA, Guazzi M, Lam CS, Maggioni AP, Tschöpe C, Metra M, Hummel SL, Edelmann F, Ambrosio G, Stewart Coats AJ, Filippatos GS, Gheorghiade M, Anker SD, Levy D, Pfeffer MA, Stough WG, Pieske BM. (2014) New strategies for heart failure with preserved ejection fraction: the importance of targeted therapies for heart failure phenotypes. *Eur Heart J*, 35: 2797-815.
11. Ferrari R, Böhm M, Cleland JG, Paulus WJ, Pieske B, Rapezzi C, Tavazzi L. (2015) Heart failure with preserved ejection fraction: uncertainties and dilemmas. *Eur J Heart Fail*, 17: 665-71.
12. Clarke CL, Grunwald GK, Allen LA, Barón AE, Peterson PN, Brand DW, Magid DJ, Masoudi FA. (2013) Natural history of left ventricular ejection fraction in patients with heart failure. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 6: 680-6.
13. Owan TE, Redfield MM. (2006) Epidemiology of diastolic heart failure. *Prog Cardiovasc Dis*, 47: 320-32.

14. Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. (2006) Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med*, 355: 251–9.
15. Steinberg BA, Zhao X, Heidenreich PA, Peterson ED, Bhatt DL, Cannon CP, Hernandez AF, Fonarow GC; Get With the Guidelines Scientific Advisory Committee and Investigators. (2012) Trends in patients hospitalized with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction: prevalence, therapies, and outcomes. *Circulation*, 126: 65–75.
16. Fonarow GC, Stough WG, Abraham WT, Albert NM, Gheorghiade M, Greenberg BH, O'Connor CM, Sun JL, Yancy CW, Young JB; OPTIMIZE-HF Investigators and Hospitals. (2007) Characteristics, treatments, and outcomes of patients with preserved systolic function hospitalized for heart failure: a report from the OPTIMIZE-HF Registry. *J Am Coll Cardiol*, 50: 768–77.
17. Yancy CW, Lopatin M, Stevenson LW, De Marco T, Fonarow GC; ADHERE Scientific Advisory Committee and Investigators. (2006) Clinical presentation, management, and in-hospital outcomes of patients admitted with acute decompensated heart failure with preserved systolic function: a report from the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE) Database. *J Am Coll Cardiol*, 47: 76–84.
18. Oktay AA, Rich JD, Shah SJ. (2013) The Emerging Epidemic of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Curr Heart Fail Rep*, 10: 401-10.
19. Bhatia RS, Tu JV, Lee DS, Austin PC, Fang J, Haouzi A, Gong Y, Liu PP. (2006) Outcome of heart failure with preserved ejection fraction in a population-based study. *N Engl J Med*, 355: 260–9.
20. Shah SJ, Heitner JF, Sweitzer NK, Anand IS, Kim HY, Harty B, Boineau R, Clausell N, Desai AS, Diaz R, Fleg JL, Gordeev I, Lewis EF, Markov V, O'Meara E, Kobulia B, Shaburishvili T, Solomon SD, Pitt B, Pfeffer MA, Li R. (2012) Baseline Characteristics of Patients in the Treatment of Preserved Cardiac Function Heart Failure with an Aldosterone Antagonist (TOPCAT) Trial. *Circ Heart Fail*, 6: 184–92.

21. Chan MM, Lam CS. (2013) How do patients with heart failure with preserved ejection fraction die? *Eur J Heart Fail*, 15: 604–13.
22. Lee DS, Gona P, Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ, Wang TJ, Tu JV, Levy D. (2009) Relation of Disease Pathogenesis and Risk Factors to Heart Failure With Preserved or Reduced Ejection Fraction: Insights From the Framingham Heart Study of the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation*, 119: 3070–7.
23. Hoekstra T, Lesman-Leegte I, van Veldhuisen DJ, Sanderman R, Jaarsma T. (2011) Quality of life is impaired similarly in heart failure patients with preserved and reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail*, 13: 1013–8.
24. Zile MR, Gaasch WH, Anand IS, Haass M, Little WC, Miller AB, Lopez-Sendon J, Teerlink JR, White M, McMurray JJ, Komajda M, McKelvie R, Ptaszynska A, Hetzel SJ, Massie BM, Carson PE; I-Preserve Investigators. (2010) Mode of death in patients with heart failure and a preserved ejection fraction: results from the Irbesartan in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Study (I-Preserve) trial. *Circulation*, 121: 1393-405.
25. Senni M, Gavazzi A, Oliva F, Mortara A, Urso R, Pozzoli M, Metra M, Lucci D, Gonzini L, Cirrincione V, Montagna L, Di Lenarda A, Maggioni AP, Tavazzi L; IN HF Outcome Investigators. (2014) In-hospital and 1-year outcomes of acute heart failure patients according to presentation (de novo vs. worsening) and ejection fraction. Results from IN-HF Outcome Registry. *Int J Cardiol*, 173: 163-9.
26. Campbell RT, Jhund PS, Castagno D, Hawkins NM, Petrie MC, McMurray JJ. (2012) What have we learned about patients with heart failure and preserved ejection fraction from DIG-PEF, CHARM-preserved, and I-PRESERVE? *J Am Coll Cardiol*, 60: 2349-56.
27. Meta-analysis Global Group in Chronic Heart Failure (MAGGIC). (2012) The survival of patients with heart failure with preserved or reduced left ventricular ejection fraction: an individual patient data meta-analysis. *Eur Heart J*, 33: 1750-7.
28. Burkhoff D. (2012) Mortality in heart failure with preserved ejection fraction: an unacceptably high rate. *Eur Heart J*, 33: 1718-20.

29. Brouwers FP, de Boer RA, van der Harst P, Voors AA, Gansevoort RT, Bakker SJ, Hillege HL, van Veldhuisen DJ, van Gilst WH. (2013) Incidence and epidemiology of new onset heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction in a community-based cohort: 11-year follow-up of PREVEND. *Eur Heart J*, 34: 1424-31.
30. Loh JC, Creaser J, Rourke DA, Livingston N, Harrison TK, Vandenbergart E, Moriguchi J, Hamilton MA, Tseng CH, Fonarow GC, Horwich TB. (2013) Temporal trends in treatment and outcomes for advanced heart failure with reduced ejection fraction from 1993–2010: findings from a university referral center. *Circ Heart Fail*, 6: 411-9.
31. Paulus WJ, Tschöpe C. (2013) A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. *J Am Coll Cardiol*, 62: 263-71.
32. Mohammed SF, Borlaug BA, Roger VL, Mirzoyev SA, Rodeheffer RJ, Chirinos JA, Redfield MM. (2012) Comorbidity and ventricular and vascular structure and function in heart failure with preserved ejection fraction: a community-based study. *Circ Heart Fail*, 5: 710-9.
33. Packer M. (2011) Can brain natriuretic peptide be used to guide the management of patients with heart failure and a preserved ejection fraction? The wrong way to identify new treatments for a nonexistent disease. *Circ Heart Fail*, 4: 538-40.
34. Borlaug BA, Paulus WJ. (2011) Heart failure with preserved ejection fraction: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eur Heart J*, 32: 670-9.
35. van Heerebeek L, Franssen CP, Hamdani N, Verheugt FW, Somsen GA, Paulus WJ. (2012) Molecular and cellular basis for diastolic dysfunction. *Curr Heart Fail Rep*, 9: 293-302.
36. Topol EJ, Traill TA, Fortuin NJ. (1985) Hypertensive hypertrophic cardiomyopathy of the elderly. *N Engl J Med*, 312: 277-83.
37. Melenovsky V, Borlaug BA, Rosen B, Hay I, Ferruci L, Morell CH, Lakatta EG, Najjar SS, Kass DA. (2007) Cardiovascular features of heart failure with preserved

- ejection fraction versus nonfailing hypertensive left ventricular hypertrophy in the urban Baltimore community: the role of atrial remodeling/dysfunction. *J Am Coll Cardiol*, 49: 198-207.
38. Katz AM, Rolett EL. (2016) Heart failure: when form fails to follow function. *Eur Heart J*, 37: 449-54.
 39. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. (1987) Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327: 524-6.
 40. Maltsev AV, Kokoz YM, Evdokimovskii EV, Pimenov OY, Reyes S, Alekseev AE. (2014) Alpha-2 adrenoceptors and imidazoline receptors in cardiomyocytes mediate counterbalancing effect of agmatine on NO synthesis and intracellular calcium handling. *J Mol Cell Cardiol*, 68: 66-74.
 41. Zahradníková A, Minarovic I, Venema RC, Mészáros LG. (1997) Inactivation of the cardiac ryanodine receptor calcium release channel by nitric oxide. *Cell Calcium*, 22: 447-54.
 42. Paulus WJ, Vantrimpont PJ, Shah AM. (1995) Paracrine coronary endothelial control of left ventricular function in humans. *Circulation*, 92: 2119-26.
 43. Denninger JW, Marletta MA. (1999) Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochim Biophys Acta*, 1411: 334-50.
 44. Tsai EJ, Kass DA. (2009) Cyclic GMP signaling in cardiovascular pathophysiology and therapeutics. *Pharmacol Ther*, 122: 216-38.
 45. Cerra MC, Pellegrino D. (2007) Cardiovascular cGMP-generating systems in physiological and pathological conditions. *Curr Med Chem*, 14: 585-99.
 46. Shah SJ, Kitzman DW, Borlaug BA, van Heerebeek L, Zile MR, Kass DA, Paulus WJ. (2016) Phenotype-Specific Treatment of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Multiorgan Roadmap. *Circulation*, 134: 73-90.
 47. Zhang M, Shah AM. (2014) ROS signalling between endothelial cells and cardiac cells. *Cardiovasc Res*, 102: 249-57.
 48. Franssen C, Chen S, Hamdani N, Paulus WJ. (2015) From comorbidities to heart failure with preserved ejection fraction: a story of oxidative stress. *Heart*, pii: heartjnl-2015-307787.

49. Akiyama E, Sugiyama S, Matsuzawa Y, Konishi M, Suzuki H, Nozaki T, Ohba K, Matsubara J, Maeda H, Horibata Y, Sakamoto K, Sugamura K, Yamamuro M, Sumida H, Kaikita K, Iwashita S, Matsui K, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. (2012) Incremental prognostic significance of peripheral endothelial dysfunction in patients with heart failure with normal left ventricular ejection fraction. *J Am Coll Cardiol*, 60: 1778-86.
50. van Heerebeek L, Hamdani N, Falcão-Pires I, Leite-Moreira AF, Begieneman MP, Bronzwaer JG, van der Velden J, Stienen GJ, Laarman GJ, Somsen A, Verheugt FW, Niessen HW, Paulus WJ. (2012) Low myocardial protein kinase G activity in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation*, 126: 830-9.
51. Schulz E, Jansen T, Wenzel P, Daiber A, Münzel T. (2008) Nitric oxide, tetrahydrobiopterin, oxidative stress, and endothelial dysfunction in hypertension. *Antioxid Redox Signal*, 10: 1115-26.
52. Cunnington C, Channon KM. (2010) Tetrahydrobiopterin: pleiotropic roles in cardiovascular pathophysiology. *Heart*, 96: 1872-7.
53. Silberman GA, Fan TH, Liu H, Jiao Z, Xiao HD, Lovelock JD, Boulden BM, Widder J, Fredd S, Bernstein KE, Wolska BM, Dikalov S, Harrison DG, Dudley SC Jr. (2010) Uncoupled cardiac nitric oxide synthase mediates diastolic dysfunction. *Circulation*, 121: 519-28.
54. Moens AL, Takimoto E, Tocchetti CG, Chakir K, Bedja D, Cormaci G, Ketner EA, Majmudar M, Gabrielson K, Halushka MK, Mitchell JB, Biswal S, Channon KM, Wolin MS, Alp NJ, Paolocci N, Champion HC, Kass DA. (2008) Reversal of cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by tetrahydrobiopterin: efficacy of recoupling nitric oxide synthase as a therapeutic strategy. *Circulation*, 117: 2626-36.
55. Takimoto E, Champion HC, Li M, Ren S, Rodriguez ER, Tavazzi B, Lazzarino G, Paolocci N, Gabrielson KL, Wang Y, Kass DA. (2005) Oxidant stress from nitric oxide synthase-3 uncoupling stimulates cardiac pathologic remodeling from chronic pressure load. *J Clin Invest*, 115: 1221-31.

56. Antoniades C, Shirodaria C, Crabtree M, Rinze R, Alp N, Cunnington C, Diesch J, Tousoulis D, Stefanadis C, Leeson P, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM. (2007) Altered plasma versus vascular biopterins in human atherosclerosis reveal relationships between endothelial nitric oxide synthase coupling, endothelial function, and inflammation. *Circulation*, 116: 2851-9.
57. Katusic ZS, d'Uscio LV, Nath KA. (2009) Vascular protection by tetrahydrobiopterin: progress and therapeutic prospects. *Trends Pharmacol Sci*, 30: 48-54.
58. van Heerebeek L, Borbély A, Niessen HW, Bronzwaer JG, van der Velden J, Stienen GJ, Linke WA, Laarman GJ, Paulus WJ. (2006) Myocardial structure and function differ in systolic and diastolic heart failure. *Circulation*, 113: 1966-73.
59. Borbély A, van der Velden J, Papp Z, Bronzwaer JG, Edes I, Stienen GJ, Paulus WJ. (2005) Cardiomyocyte stiffness in diastolic heart failure. *Circulation*, 111: 774-81.
60. Kasner M, Westermann D, Lopez B, Gaub R, Escher F, Kühl U, Schultheiss HP, Tschöpe C. (2011) Diastolic tissue Doppler indexes correlate with the degree of collagen expression and cross-linking in heart failure and normal ejection fraction. *J Am Coll Cardiol*, 57: 977-85.
61. Chaturvedi RR, Herron T, Simmons R, Shore D, Kumar P, Sethia B, Chua F, Vassiliadis E, Kentish JC. (2010) Passive stiffness of myocardium from congenital heart disease and implications for diastole. *Circulation*, 121: 979-88.
62. Selby DE, Palmer BM, LeWinter MM, Meyer M. (2011) Tachycardia-induced diastolic dysfunction and resting tone in myocardium from patients with a normal ejection fraction. *J Am Coll Cardiol*, 58: 147-54.
63. Westermann D, Lindner D, Kasner M, Zietsch C, Savvatis K, Escher F, von Schlippenbach J, Skurk C, Steendijk P, Riad A, Poller W, Schultheiss HP, Tschöpe C. (2011) Cardiac inflammation contributes to changes in the extracellular matrix in patients with heart failure and normal ejection fraction. *Circ Heart Fail*, 4: 44-52.
64. Collier P, Watson CJ, Voon V, Phelan D, Jan A, Mak G, Martos R, Baugh JA, Ledwidge MT, McDonald KM. (2011) Can emerging biomarkers of myocardial

- remodelling identify asymptomatic hypertensive patients at risk for diastolic dysfunction and diastolic heart failure? *Eur J Heart Fail*, 13: 1087-95.
65. Kalogeropoulos A, Georgiopoulou V, Psaty BM, Rodondi N, Smith AL, Harrison DG, Liu Y, Hoffmann U, Bauer DC, Newman AB, Kritchevsky SB, Harris TB, Butler J; Health ABC Study Investigators. (2010) Inflammatory markers and incident heart failure risk in older adults: the Health ABC (Health, Aging, and Body Composition) study. *J Am Coll Cardiol*, 55: 2129-37.
 66. van Heerebeek L, Hamdani N, Handoko ML, Falcao-Pires I, Musters RJ, Kupreishvili K, Ijsselmuiden AJ, Schalkwijk CG, Bronzwaer JG, Diamant M, Borbély A, van der Velden J, Stienen GJ, Laarman GJ, Niessen HW, Paulus WJ. (2008) Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: importance of fibrosis, advanced glycation end products, and myocyte resting tension. *Circulation*, 117: 43-51.
 67. Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. (2000) NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*, 86: 494-501.
 68. Linke WA, Hamdani N. (2014) Gigantic business: titin properties and function through thick and thin. *Circ Res*, 114: 1052-68.
 69. Kötter S, Gout L, Von Frieling-Salewsky M, Müller AE, Helling S, Marcus K, Dos Remedios C, Linke WA, Krüger M. (2013) Differential changes in titin domain phosphorylation increase myofilament stiffness in failing human hearts. *Cardiovasc Res*, 99: 648-56.
 70. Hamdani N, Bishu KG, von Frieling-Salewsky M, Redfield MM, Linke WA. (2013) Deranged myofilament phosphorylation and function in experimental heart failure with preserved ejection fraction. *Cardiovasc Res*, 97: 464-71.
 71. Willis MS, Patterson C. (2013) Proteotoxicity and cardiac dysfunction. *N Engl J Med*, 368: 1755.
 72. McLendon PM, Robbins J. (2015) Proteotoxicity and cardiac dysfunction. *Circ Res*, 116: 1863-82.

73. Aurigemma GP, Silver KH, Priest MA, Gaasch WH. (1995) Geometric changes allow normal ejection fraction despite depressed myocardial shortening in hypertensive left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol*, 26: 195-202.
74. Shimizu G, Hirota Y, Kita Y, Kawamura K, Saito T, Gaasch WH. (1991) Left ventricular midwall mechanics in systemic arterial hypertension. Myocardial function is depressed in pressure-overload hypertrophy. *Circulation*, 83: 1676-84.
75. de Simone G, Devereux RB, Roman MJ, Ganau A, Saba PS, Alderman MH, Laragh JH. (1994) Assessment of left ventricular function by the midwall fractional shortening/end-systolic stress relation in human hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 23: 1444-51.
76. Vinereanu D, Nicolaidis E, Tweddel AC, Fraser AG. (2005) "Pure" diastolic dysfunction is associated with long-axis systolic dysfunction. Implications for the diagnosis and classification of heart failure. *Eur J Heart Fail*, 7: 820-8.
77. Tan YT, Wenzelburger F, Lee E, Heatlie G, Leyva F, Patel K, Frenneaux M, Sanderson JE. (2009) The pathophysiology of heart failure with normal ejection fraction: exercise echocardiography reveals complex abnormalities of both systolic and diastolic ventricular function involving torsion, untwist, and longitudinal motion. *J Am Coll Cardiol*, 54: 36-46.
78. Wang J, Khoury DS, Yue Y, Torre-Amione G, Nagueh SF. (2008) Preserved left ventricular twist and circumferential deformation, but depressed longitudinal and radial deformation in patients with diastolic heart failure. *Eur Heart J*, 29: 1283-9.
79. Fang ZY, Leano R, Marwick TH. (2004) Relationship between longitudinal and radial contractility in subclinical diabetic heart disease. *Clin Sci (Lond)*, 106: 53-60.
80. Paulus WJ, Tschöpe C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, Marino P, Smiseth OA, De Keulenaer G, Leite-Moreira AF, Borbély A, Edes I, Handoko ML, Heymans S, Pezzali N, Pieske B, Dickstein K, Fraser AG, Brutsaert DL. (2007) How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 28: 2539-50.

81. Edvardsen T, Haugaa KH. (2011) Imaging assessment of ventricular mechanics. *Heart*, 97: 1349-56.
82. Plaksej R, Kosmala W, Frantz S, Herrmann S, Niemann M, Störk S, Wachter R, Angermann CE, Ertl G, Bijnen B, Weidemann F. (2009) Relation of circulating markers of fibrosis and progression of left and right ventricular dysfunction in hypertensive patients with heart failure. *J Hypertens*, 27: 2483-91.
83. Blessberger H, Binder T. (2010) Two dimensional speckle tracking echocardiography: clinical applications. *Heart*, 96: 2032-40.
1. Mizuguchi Y, Oishi Y, Miyoshi H, Iuchi A, Nagase N, Oki T. (2010) Concentric left ventricular hypertrophy brings deterioration of systolic longitudinal, circumferential, and radial myocardial deformation in hypertensive patients with preserved left ventricular pump function. *J Cardiol*, 55: 23-33.
2. MacIver DH, Townsend M. (2008) A novel mechanism of heart failure with normal ejection fraction. *Heart*, 94: 446-9.
3. MacIver DH. (2010) Current controversies in heart failure with a preserved ejection fraction. *Future Cardiol*, 6: 97-111.
4. Palmon LC, Reichek N, Yeon SB, Clark NR, Brownson D, Hoffman E, Axel L. (1994) Intramural myocardial shortening in hypertensive left ventricular hypertrophy with normal pump function. *Circulation*, 89: 122-31.
84. Deng AY. (2013) Genetics of diastolic heart failure. *J Hypertens*, 31: 2329-36.
85. Lind JM, Chiu CL. (2013) Genetic discoveries in hypertension: steps on the road to therapeutic translation. *Heart*, 99: 1645-51.
86. Charchar F, Zimmerli L, Tomaszewski M. (2008) The pressure of finding human hypertension genes: new tools, old dilemmas. *J Hum Hypertens*, 22: 821-8.
87. Binder A. (2007) A review of the genetics of essential hypertension. *Curr Opin Cardiol*, 22: 176-84.
88. Gorren AC, List BM, Schrammel A, Pitters E, Hemmens B, Werner ER, Schmidt K, Mayer B. (1996) Tetrahydrobiopterin-free neuronal nitric oxide synthase: evidence for two identical highly anticooperative pteridine binding sites. *Biochemistry*, 35: 16735-45.

89. Auerbach G, Nar H. (1997) The pathway from GTP to tetrahydrobiopterin: three-dimensional structures of GTP cyclohydrolase I and 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase. *Biol Chem*, 378: 185-92.
90. Doehring A, Antoniadou C, Channon KM, Tegeder I, Lötsch J. (2008) Clinical genetics of functionally mild non-coding GTP cyclohydrolase 1 (GCH1) polymorphisms modulating pain and cardiovascular risk. *Mutat Res*, 659: 195-201.
91. Thöny B, Blau N. (2006) Mutations in the BH4-metabolizing genes GTP cyclohydrolase I, 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase, sepiapterin reductase, carbinolamine-4a-dehydratase, and dihydropteridine reductase. *Hum Mutat*, 27: 870-8.
92. Jones LC, Hingorani AD. (2005) Genetic regulation of endothelial function. *Heart*, 91: 1275-7.
93. Persu A, Stoenoiu MS, Messiaen T, Davila S, Robino C, El-Khattabi O, Mourad M, Horie S, Feron O, Balligand JL, Wattiez R, Pirson Y, Chauveau D, Lens XM, Devuyst O. (2002) Modifier effect of ENOS in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet*, 11: 229-41.
94. McDonald DM, Alp NJ, Channon KM. (2004) Functional comparison of the endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp polymorphic variants in human endothelial cells. *Pharmacogenetics*, 14: 831-9.
95. Katakami N, Kaneto H, Matsuoka TA, Takahara M, Imamura K, Ishibashi F, Kanda T, Kawai K, Osonoi T, Kashiwagi A, Kawamori R, Matsuhisa M, Shimomura I, Yamasaki Y. (2010) Accumulation of gene polymorphisms related to oxidative stress is associated with myocardial infarction in Japanese type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*, 212: 534-8.
96. Cam SF, Sekuri C, Tengiz I, Ercan E, Sagcan A, Akin M, Berdeli A. (2005) The G894T polymorphism on endothelial nitric oxide synthase gene is associated with premature coronary artery disease in a Turkish population. *Thromb Res*, 116: 287-92.

97. Casas JP, Bautista LE, Humphries SE, Hingorani AD. (2004) Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects. *Circulation*, 109: 1359-65.
98. Miao L, St Clair DK. (2009) Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radic Biol Med*, 47: 344-56.
99. Fujimoto H, Taguchi J, Imai Y, Ayabe S, Hashimoto H, Kobayashi H, Ogasawara K, Aizawa T, Yamakado M, Nagai R, Ohno M. (2008) Manganese superoxide dismutase polymorphism affects the oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis of macrophages and coronary artery disease. *Eur Heart J*, 29: 1267-74.
100. Duarte MM, Moresco RN, Duarte T, Santi A, Bagatini MD, Da Cruz IB, Schetinger MR, Loro VL. (2010) Oxidative stress in hypercholesterolemia and its association with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism. *Clin Biochem*, 43: 1118-23.
101. Fujimoto H, Kobayashi H, Ogasawara K, Yamakado M, Ohno M. (2010) Association of the manganese superoxide dismutase polymorphism with vasospastic angina pectoris. *J Cardiol*, 55: 205-10.
102. Yusuf S, Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, Held P, McMurray JJ, Michelson EL, Olofsson B, Ostergren J; CHARM Investigators and Committees. (2003) Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial. *Lancet*, 362: 777-81.
1. Massie BM, Carson PE, McMurray JJ, Komajda M, McKelvie R, Zile MR, Anderson S, Donovan M, Iverson E, Staiger C, Ptaszynska A; I-PRESERVE Investigators. (2008) Irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *N Engl J Med*, 359: 2456-67.
1. Solomon SD, Anavekar N, Skali H, McMurray JJ, Swedberg K, Yusuf S, Granger CB, Michelson EL, Wang D, Pocock S, Pfeffer MA; Candesartan in Heart Failure Reduction in Mortality (CHARM) Investigators. (2005) Influence of ejection fraction on cardiovascular outcomes in a broad spectrum of heart failure patients. *Circulation*, 112: 3738-44.

1. Solomon SD, Claggett B, Lewis EF, Desai A, Anand I, Sweitzer NK, O'Meara E, Shah SJ, McKinlay S, Fleg JL, Sopko G, Pitt B, Pfeffer MA; TOPCAT Investigators. (2016) Influence of ejection fraction on outcomes and efficacy of spironolactone in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J*, 37: 455-62.
2. Teo LY, Chan LL, Lam CS. Heart failure with preserved ejection fraction in hypertension. (2016) *Curr Opin Cardiol*, 31: 410-6.
3. Edelmann F, Gelbrich G, Dungen HD, Fröhling S, Wachter R, Stahrenberg R, Binder L, Töpper A, Lashki DJ, Schwarz S, Herrmann-Lingen C, Löffler M, Hasenfuss G, Halle M, Pieske B. (2011) Exercise training improves exercise capacity and diastolic function in patients with heart failure with preserved ejection fraction: results of the Ex-DHF (Exercise training in Diastolic Heart Failure) pilot study. *J Am Coll Cardiol*, 58: 1780-91.
4. Kitzman DW, Brubaker P, Morgan T, Haykowsky M, Hundley G, Kraus WE, Eggebeen J, Nicklas BJ. (2016) Effect of Caloric Restriction or Aerobic Exercise Training on Peak Oxygen Consumption and Quality of Life in Obese Older Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 315: 36-46.
1. Flather MD, Shibata MC, Coats AJ, Van Veldhuisen DJ, Parkhomenko A, Borbola J, Cohen-Solal A, Dumitrascu D, Ferrari R, Lechat P, Soler-Soler J, Tavazzi L, Spinarova L, Toman J, Böhm M, Anker SD, Thompson SG, Poole-Wilson PA; SENIORS Investigators. (2005) Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur Heart J*, 26: 215-25.
1. Mulder BA, van Veldhuisen DJ, Crijns HJ, Böhm M, Cohen-Solal A, Babalis D, Roughton M, Flather MD, Coats AJ, Van Gelder IC. (2012) Effect of nebivolol on outcome in elderly patients with heart failure and atrial fibrillation: insights from SENIORS. *Eur J Heart Fail*, 14: 1171-8.
1. van Veldhuisen DJ, Cohen-Solal A, Böhm M, Anker SD, Babalis D, Roughton M, Coats AJ, Poole-Wilson PA, Flather MD; SENIORS Investigators. (2009) Beta-

- blockade with nebivolol in elderly heart failure patients with impaired and preserved left ventricular ejection fraction: Data From SENIORS (Study of Effects of Nebivolol Intervention on Outcomes and Rehospitalization in Seniors With Heart Failure). *J Am Coll Cardiol*, 53: 2150-8.
2. Pitt B, Pfeffer MA, Assmann SF, Boineau R, Anand IS, Claggett B, Clausell N, Desai AS, Diaz R, Fleg JL, Gordeev I, Harty B, Heitner JF, Kenwood CT, Lewis EF, O'Meara E, Probstfield JL, Shaburishvili T, Shah SJ, Solomon SD, Sweitzer NK, Yang S, McKinlay SM; TOPCAT Investigators. (2014) Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med*, 370: 1383-92.
 1. Cleland JG, Tendera M, Adamus J, Freemantle N, Polonski L, Taylor J; PEP-CHF Investigators. (2006) The perindopril in elderly people with chronic heart failure (PEP-CHF) study. *Eur Heart J*, 27: 2338-45.
 1. McMurray JJ, Ostergren J, Swedberg K, Granger CB, Held P, Michelson EL, Olofsson B, Yusuf S, Pfeffer MA; CHARM Investigators and Committees. (2003) Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial. *Lancet*, 362: 767-71.
 1. Edelmann F, Wachter R, Schmidt AG, Kraigher-Krainer E, Colantonio C, Kamke W, Duvinage A, Stahrenberg R, Durstewitz K, Löffler M, Düngen HD, Tschöpe C, Herrmann-Lingen C, Halle M, Hasenfuss G, Gelbrich G, Pieske B; Aldo-DHF Investigators. (2013) Effect of spironolactone on diastolic function and exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the Aldo-DHF randomized controlled trial. *JAMA*, 309: 781-91.
 1. Pfeffer MA, Claggett B, Assmann SF, Boineau R, Anand IS, Clausell N, Desai AS, Diaz R, Fleg JL, Gordeev I, Heitner JF, Lewis EF, O'Meara E, Rouleau JL, Probstfield JL, Shaburishvili T, Shah SJ, Solomon SD, Sweitzer NK, McKinlay SM, Pitt B. (2015) Regional variation in patients and outcomes in the Treatment of Preserved Cardiac Function Heart Failure With an Aldosterone Antagonist (TOPCAT) trial. *Circulation*, 131: 34-42.

- 1.Deswal A, Richardson P, Bozkurt B, Mann DL. (2011) Results of the Randomized Aldosterone Antagonism in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction trial (RAAM-PEF). *J Card Fail*, 17: 634-42.
1. Kampourides N, Tziakas D, Chalikias G, Papazoglou D, Maltezos E, Symeonides D, Konstantinides S. (2012) Usefulness of matrix metalloproteinase-9 plasma levels to identify patients with preserved left ventricular systolic function after acute myocardial infarction who could benefit from eplerenone. *Am J Cardiol*, 110: 1085-91.
- 103.Ahmed A, Rich MW, Fleg JL, Zile MR, Young JB, Kitzman DW, Love TE, Aronow WS, Adams KF Jr, Gheorghiade M. (2006) Effects of digoxin on morbidity and mortality in diastolic heart failure: the ancillary digitalis investigation group trial. *Circulation*, 114: 397-403.
- 104.Bendall JK, Douglas G, McNeill E, Channon KM, Crabtree MJ. (2014) Tetrahydrobiopterin in cardiovascular health and disease. *Antioxid Redox Signal*, 20: 3040-77.
- 105.Porkert M, Sher S, Reddy U, Cheema F, Niessner C, Kolm P, Jones DP, Hooper C, Taylor WR, Harrison D, Quyyumi AA. (2008) Tetrahydrobiopterin: a novel antihypertensive therapy. *J Hum Hypertens*, 22: 401-7.
- 106.Redfield MM, Anstrom KJ, Levine JA, Koepp GA, Borlaug BA, Chen HH, LeWinter MM, Joseph SM, Shah SJ, Semigran MJ, Felker GM, Cole RT, Reeves GR, Tedford RJ, Tang WH, McNulty SE, Velazquez EJ, Shah MR, Braunwald E; NHLBI Heart Failure Clinical Research Network. (2015) Isosorbide Mononitrate in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med*, 373: 2314-24.
- 107.Borlaug BA, Koepp KE, Melenovsky V. (2015) Sodium Nitrite Improves Exercise Hemodynamics and Ventricular Performance in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *J Am Coll Cardiol*, 66: 1672-82.
- 108.Lin EQ, Irvine JC, Cao AH, Alexander AE, Love JE, Patel R, McMullen JR, Kaye DM, Kemp-Harper BK, Ritchie RH. (2012) Nitroxyl (HNO) stimulates soluble guanylyl cyclase to suppress cardiomyocyte hypertrophy and superoxide generation. *PLoS One*, 7:e34892.

5. Sabbah HN, Tocchetti CG, Wang M, Daya S, Gupta RC, Tunin RS, Mazhari R, Takimoto E, Paolocci N, Cowart D, Colucci WS, Kass DA. (2013) Nitroxyl (HNO): A novel approach for the acute treatment of heart failure. *Circ Heart Fail*, 6: 1250-8.
6. Boerrigter G, Costello-Boerrigter LC, Cataliotti A, Lapp H, Stasch JP, Burnett JC Jr. (2007) Targeting heme-oxidized soluble guanylate cyclase in experimental heart failure. *Hypertension*, 49: 1128-33.
7. Gheorghiade M, Greene SJ, Filippatos G, Erdmann E, Ferrari R, Levy PD, Maggioni A, Nowack C, Mebazaa A; COMPOSE Investigators and Coordinators. (2012) Cinaciguat, a soluble guanylate cyclase activator: results from the randomized, controlled, phase IIb COMPOSE programme in acute heart failure syndromes. *Eur J Heart Fail*, 14: 1056-66.
8. Ghofrani HA, Galiè N, Grimminger F, Grünig E, Humbert M, Jing ZC, Keogh AM, Langleben D, Kilama MO, Fritsch A, Neuser D, Rubin LJ; PATENT-1 Study Group. (2013) Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*, 369: 330-40.
9. Ghofrani HA, D'Armini AM, Grimminger F, Hoeper MM, Jansa P, Kim NH, Mayer E, Simonneau G, Wilkins MR, Fritsch A, Neuser D, Weimann G, Wang C; CHEST-1 Study Group. (2013) Riociguat for the treatment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med*, 369: 319-29.
10. Bonderman D, Ghio S, Felix SB, Ghofrani HA, Michelakis E, Mitrovic V, Oudiz RJ, Boateng F, Scalise AV, Roessig L, Semigran MJ; Left Ventricular Systolic Dysfunction Associated With Pulmonary Hypertension Riociguat Trial (LEPHT) Study Group. (2013) Riociguat for patients with pulmonary hypertension caused by systolic left ventricular dysfunction: a phase IIb double-blind, randomized, placebo-controlled, dose-ranging hemodynamic study. *Circulation*, 128: 502-11.
11. Pieske B, Butler J, Filippatos G, Lam C, Maggioni AP, Ponikowski P, Shah S, Solomon S, Kraigher-Krainer E, Samano ET, Scalise AV, Müller K, Roessig L, Gheorghiade M; SOCRATES Investigators and Coordinators. (2014) Rationale and design of the SOLuble guanylate Cyclase stimulator in heArT failure Studies (SOCRATES). *Eur J Heart Fail*, 16: 1026-38.

12. Gheorghiade M, Greene SJ, Butler J, Filippatos G, Lam CS, Maggioni AP, Ponikowski P, Shah SJ, Solomon SD, Kraigher-Krainer E, Samano ET, Müller K, Roessig L, Pieske B; SOCRATES-REDUCED Investigators and Coordinators. (2015) Effect of Vericiguat, a Soluble Guanylate Cyclase Stimulator, on Natriuretic Peptide Levels in Patients With Worsening Chronic Heart Failure and Reduced Ejection Fraction: The SOCRATES-REDUCED Randomized Trial. *JAMA*, 314: 2251-62.
13. Redfield MM, Borlaug BA, Lewis GD, Mohammed SF, Semigran MJ, Lewinter MM, Deswal A, Hernandez AF, Lee KL, Braunwald E; Heart Failure Clinical Research Network. (2012) Phosphodiesterase-5 Inhibition to Improve Clinical Status and Exercise Capacity in Diastolic Heart Failure (RELAX) trial: rationale and design. *Circ Heart Fail*, 5: 653-9.
14. Redfield MM, Chen HH, Borlaug BA, Semigran MJ, Lee KL, Lewis G, LeWinter MM, Rouleau JL, Bull DA, Mann DL, Deswal A, Stevenson LW, Givertz MM, Ofili EO, O'Connor CM, Felker GM, Goldsmith SR, Bart BA, McNulty SE, Ibarra JC, Lin G, Oh JK, Patel MR, Kim RJ, Tracy RP, Velazquez EJ, Anstrom KJ, Hernandez AF, Mascette AM, Braunwald E; RELAX Trial. (2013) Effect of phosphodiesterase-5 inhibition on exercise capacity and clinical status in heart failure with preserved ejection fraction: a randomized clinical trial. *JAMA*, 309: 1268-77.
15. Borlaug BA, Lewis GD, McNulty SE, Semigran MJ, LeWinter M, Chen H, Lin G, Deswal A, Margulies KB, Redfield MM. (2015) Effects of sildenafil on ventricular and vascular function in heart failure with preserved ejection fraction. *Circ Heart Fail*, 8: 533-41.
16. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, Rouleau JL, Shi VC, Solomon SD, Swedberg K, Zile MR; PARADIGM-HF Investigators and Committees. (2014) Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med*, 371: 993-1004.
17. Solomon SD, Zile M, Pieske B, Voors A, Shah A, Kraigher-Krainer E, Shi V, Bransford T, Takeuchi M, Gong J, Lefkowitz M, Packer M, McMurray JJ;

- Prospective comparison of ARNI with ARB on Management Of heart failUre with preserved ejection fracTion (PARAMOUNT) Investigators. (2012) The angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 in heart failure with preserved ejection fraction: a phase 2 double-blind randomised controlled trial. *Lancet*, 380: 1387-95.
18. Lee DI, Zhu G, Sasaki T, Cho GS, Hamdani N, Holewinski R, Jo SH, Danner T, Zhang M, Rainer PP, Bedja D, Kirk JA, Ranek MJ, Dostmann WR, Kwon C, Margulies KB, Van Eyk JE, Paulus WJ, Takimoto E, Kass DA. (2015) Phosphodiesterase 9A controls nitric-oxide-independent cGMP and hypertrophic heart disease. *Nature*, 519: 472-6.
 19. Kuhn M. (2015) Cardiology: A big-hearted molecule. *Nature*, 519: 416-7.
 20. Jacobshagen C, Belardinelli L, Hasenfuss G, Maier LS. (2011) Ranolazine for the treatment of heart failure with preserved ejection fraction: background, aims, and design of the RALI-DHF study. *Clin Cardiol*, 34: 426-32.
 109. Maier LS, Layug B, Karwadowska-Prokopczuk E, Belardinelli L, Lee S, Sander J, Lang C, Wachter R, Edelmann F, Hasenfuss G, Jacobshagen C. (2013) RAnoLazIne for the treatment of diastolic heart failure in patients with preserved ejection fraction: the RALI-DHF proof-of-concept study. *JACC Heart Fail*, 1: 115- 22.
 110. Owens AT, Brozena SC, Jessup M. (2016) New Management Strategies in Heart Failure. *Circ Res*, 118: 480-95.
 111. Tousoulis D, Psarros C, Demosthenous M, Patel R, Antoniadis C, Stefanadis C. (2014) Innate and adaptive inflammation as a therapeutic target in vascular disease: the emerging role of statins. *J Am Coll Cardiol*, 63: 2491-502.
 112. Conrad KP. (2011) Maternal vasodilation in pregnancy: the emerging role of relaxin. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 301: 267-75.
 21. Dschietzig T, Teichman S, Unemori E, Wood S, Boehmer J, Richter C, Baumann G, Stangl K. (2009) Intravenous recombinant human relaxin in compensated heart failure: a safety, tolerability, and pharmacodynamic trial. *J Card Fail*, 15: 182-90.
 22. Teichman SL, Unemori E, Teerlink JR, Cotter G, Metra M. (2010) Relaxin: review of biology and potential role in treating heart failure. *Curr Heart Fail Rep*, 7: 75-82.

23. Teerlink JR, Cotter G, Davison BA, Felker GM, Filippatos G, Greenberg BH, Ponikowski P, Unemori E, Voors AA, Adams KF Jr, Dorobantu MI, Grinfeld LR, Jondeau G, Marmor A, Masip J, Pang PS, Werdan K, Teichman SL, Trapani A, Bush CA, Saini R, Schumacher C, Severin TM, Metra M; RELAXin in Acute Heart Failure (RELAX-AHF) Investigators. (2013) Serelaxin, recombinant human relaxin-2, for treatment of acute heart failure (RELAX-AHF): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, 381: 29-39.
24. Teichman SL, Unemori E, Dschietzig T, Conrad K, Voors AA, Teerlink JR, Felker GM, Metra M, Cotter G.(2009) Relaxin, a pleiotropic vasodilator for the treatment of heart failure. *Heart Fail Rev*, 14: 321-9.
25. Metra M, Cotter G, Davison BA, Felker GM, Filippatos G, Greenberg BH, Ponikowski P, Unemori E, Voors AA, Adams KF Jr, Dorobantu MI, Grinfeld L, Jondeau G, Marmor A, Masip J, Pang PS, Werdan K, Prescott MF, Edwards C, Teichman SL, Trapani A, Bush CA, Saini R, Schumacher C, Severin T, Teerlink JR; RELAX-AHF Investigators. (2013) Effect of serelaxin on cardiac, renal, and hepatic biomarkers in the Relaxin in Acute Heart Failure (RELAX-AHF) development program: correlation with outcomes. *J Am Coll Cardiol*, 61: 196-206.
26. Filippatos G, Teerlink JR, Farmakis D, Cotter G, Davison BA, Felker GM, Greenberg BH, Hua T, Ponikowski P, Severin T, Unemori E, Voors AA, Metra M. (2014) Serelaxin in acute heart failure patients with preserved left ventricular ejection fraction: results from the RELAX-AHF trial. *Eur Heart J*, 35: 1041-50.
27. Hsiao R, Greenberg B. (2016) Contemporary Treatment of Acute Heart Failure. *Prog Cardiovasc Dis*, 58: 367-78.
- 113.Li H, Xia N, Förstermann U. (2012) Cardiovascular effects and molecular targets of resveratrol. *Nitric Oxide*, 26: 102-10.
1. Vang O, Ahmad N, Baile CA, Baur JA, Brown K, Csiszar A, Das DK, Delmas D, Gottfried C, Lin HY, Ma QY, Mukhopadhyay P, Nalini N, Pezzuto JM, Richard T, Shukla Y, Surh YJ, Szekeres T, Szkudelski T, Walle T, Wu JM. (2011) What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol. *PLoS One*, 6:e19881.

2. Willemsen S, Hartog JW, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Roze JF, Jaarsma T, Schalkwijk C, van der Horst IC, Hillege HL, Voors AA. (2012) The role of advanced glycation end-products and their receptor on outcome in heart failure patients with preserved and reduced ejection fraction. *Am Heart J*, 164: 742-749., Seferović PM, Paulus WJ. (2015) Clinical diabetic cardiomyopathy: a two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes. *Eur Heart J*, 36: 1718-27, 1727a-1727c.
3. Little WC, Zile MR, Kitzman DW, Hundley WG, O'Brien TX, Degroof RC. (2005) The effect of alagebrium chloride (ALT-711), a novel glucose cross-link breaker, in the treatment of elderly patients with diastolic heart failure. *J Card Fail*, 11: 191-5.
4. Hartog JW, Willemsen S, van Veldhuisen DJ, Posma JL, van Wijk LM, Hummel YM, Hillege HL, Voors AA, for the BENEFICIAL investigators. (2011) Effects of alagebrium, an advanced glycation endproduct breaker, on exercise tolerance and cardiac function in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*, 13: 899-908.
5. Colin P, Ghaleh B, Hittinger L, Monnet X, Slama M, Giudicelli JF, Berdeaux A. (2002) Differential effects of heart rate reduction and beta-blockade on left ventricular relaxation during exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 282: 672-9.
28. Kosmala W, Holland DJ, Rojek A, Wright L, Przewlocka-Kosmala M, Marwick TH. (2013) Effect of If-channel inhibition on hemodynamic status and exercise tolerance in heart failure with preserved ejection fraction: a randomized trial. *J Am Coll Cardiol*, 62: 1330-8.
29. Reil JC, Hohl M, Reil GH, Granzier HL, Kratz MT, Kazakov A, Fries P, Müller A, Lenski M, Custodis F, Gräber S, Fröhlig G, Steendijk P, Neuberger HR, Böhm M. (2013) Heart rate reduction by If-inhibition improves vascular stiffness and left ventricular systolic and diastolic function in a mouse model of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J*, 34: 2839-49.
30. Pal N, Sivaswamy N, Mahmood M, Yavari A, Rudd A, Singh S, Dawson DK, Francis JM, Dwight JS, Watkins H, Neubauer S, Frenneaux M, Ashrafian H. (2015) Effect of Selective Heart Rate Slowing in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circulation*, 132: 1719-25.

31. Adamson PB, Abraham WT, Bourge RC, Costanzo MR, Hasan A, Yadav C, Henderson J, Cowart P, Stevenson LW. (2014) Wireless pulmonary artery pressure monitoring guides management to reduce decompensation in heart failure with preserved ejection fraction. *Circ Heart Fail*, 7: 935-44.
32. Adamson PB, Smith AL, Abraham WT, Kleckner KJ, Stadler RW, Shih A, Rhodes MM; InSync III Model 8042 and Attain OTW Lead Model 4193 Clinical Trial Investigators. (2004) Continuous autonomic assessment in patients with symptomatic heart failure: prognostic value of heart rate variability measured by an implanted cardiac resynchronization device. *Circulation*, 110: 2389-94.
33. Hasenfuss G, Gustafsson F, Kaye D, Shah SJ, Burkhoff D, Reymond MC, Komtebedde J, Hünlich M; Reduce LAP-HF Trial Investigators. (2015) Rationale and Design of the Reduce Elevated Left Atrial Pressure in Patients With Heart Failure (Reduce LAP-HF) Trial. *J Card Fail*, 21: 594-600.
34. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC Jr, Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. (2003) Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA*, 289: 194-202.
35. Senni M, Tribouilloy CM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Evans JM, Bailey KR, Redfield MM. (1998) Congestive heart failure in the community: a study of all incident cases in Olmsted County, Minnesota, in 1991. *Circulation*, 98: 2282-9.
1. Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. (1994) Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*, 233: 346-57.
1. Fukushima T, Nixon JC. (1980) Analysis of reduced forms of biopterin in biological tissues and fluids. *Anal Biochem*, 102: 176-88.
1. Fekkes D, Voskuilen-Kooijman A. (2007) Quantitation of total biopterin and tetrahydrobiopterin in plasma. *Clin Biochem*, 40: 411-3.
1. Szabó G, Molvarec A, Stenczer B, Rigó J Jr, Nagy B. (2011) Natriuretic peptide precursor B gene (TTTC)(n) microsatellite polymorphism in pre-eclampsia. *Clin Chim Acta*, 412: 1371-5.

- 1.Szabó G, Molvarec A, Nagy B, Rigó J Jr. (2014) Increased B-type natriuretic peptide levels in early-onset versus late-onset preeclampsia. *Clin Chem Lab Med*, 52: 281-8.
- 1.Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ; Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. (2005) Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*, 18: 1440-63.
- 1.Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, Reichek N. (1986) Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol*, 57: 450-8.
1. Nishimura RA, Tajik AJ. (1997) Evaluation of diastolic filling of left ventricle in health and disease: Doppler echocardiography is the clinician's Rosetta Stone. *J Am Coll Cardiol*, 30: 8-18.
2. Oh JK, Seward JB, Tajik AL. *The Echo Manual 3rd Edition*. Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2006: 132.
3. Otto CM. *Clinical Echocardiography 4th Edition*. Saunders-Elsevier, Edinburgh, 2009: 178.
- 1.Salvi P, Lio G, Labat C, Ricci E, Pannier B, Benetos A. (2004) Validation of a new non-invasive portable tonometer for determining arterial pressure wave and pulse wave velocity: the PulsePen device. *J Hypertens*, 22: 2285-93.
- 1.Othmane Tel H, Nemcsik J, Fekete BC, Deák G, Egresits J, Fodor E, Logan AG, Németh ZK, Járαι Z, Szabó T, Szathmári M, Kiss I, Tislér A. (2009) Arterial stiffness in hemodialysis: which parameter to measure to predict cardiovascular mortality? *Kidney Blood Press Res*, 32: 250-7.
- 1.Bland JM, Altman DG. (2000) Statistics notes. The odds ratio. *BMJ*, 320: 1468.

- 1.Excoffier L, Lischer HE. (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour*, 10: 564-7.
- 1.Gaunt TR, Rodríguez S, Day IN. (2007) Cubic exact solutions for the estimation of pairwise haplotype frequencies: implications for linkage disequilibrium analyses and a web tool 'CubeX'. *BMC Bioinformatics*, 8: 428.
- 1.de Simone G, Daniels SR, Devereux RB, Meyer RA, Roman MJ, de Divitiis O, Alderman MH. (1992) Left ventricular mass and body size in normotensive children and adults: assessment of allometric relations and impact of overweight. *J Am Coll Cardiol*, 20: 1251-60.
- 1.Nakayama N, Nakamura T, Okada H, Iwaki S, Sobel BE, Fujii S. (2011) Modulators of induction of plasminogen activator inhibitor type-1 in HepG2 cells by transforming growth factor- β . *Coron Artery Dis*, 22: 468-78.
- 1.Liu RM. (2008) Oxidative stress, plasminogen activator inhibitor 1, and lung fibrosis. *Antioxid Redox Signal*, 10: 303-19.
- 1.Peluso I, Morabito G, Urban L, Ioannone F, Serafini M. (2012) Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 12: 351-60.
- 1.Violi F, Pignatelli P, Pignata C, Plebani A, Rossi P, Sanguigni V, Carnevale R, Soresina A, Finocchi A, Cirillo E, Catasca E, Angelico F, Loffredo L. (2013) Reduced atherosclerotic burden in subjects with genetically determined low oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 33: 406-12.
- 1.Narayanan A, Aurigemma GP, Chinali M, Hill JC, Meyer TE, Tighe DA. (2009) Cardiac mechanics in mild hypertensive heart disease: a speckle-strain imaging study. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2: 382-90.
- 1.Shah AM, Solomon SD. (2012) Phenotypic and pathophysiological heterogeneity in heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J*, 33: 1716-7.
- 1.de Simone G, Devereux RB, Koren MJ, Mensah GA, Casale PN, Laragh JH. (1996) Midwall left ventricular mechanics. An independent predictor of cardiovascular risk in arterial hypertension. *Circulation*, 93: 259-65.

- 1.Hurlburt HM, Aurigemma GP, Hill JC, Narayanan A, Gaasch WH, Vinch CS, Meyer TE, Tighe DA. (2007) Direct ultrasound measurement of longitudinal, circumferential, and radial strain using 2-dimensional strain imaging in normal adults. *Echocardiography*, 24: 723-31.
- 1.Choi EY, Rosen BD, Fernandes VR, Yan RT, Yoneyama K, Donekal S, Opdahl A, Almeida AL, Wu CO, Gomes AS, Bluemke DA, Lima JA. (2013) Prognostic value of myocardial circumferential strain for incident heart failure and cardiovascular events in asymptomatic individuals: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Eur Heart J*, 34: 2354-61.
- 1.Tingberg E, Ohlin AK, Gottsäter A, Ohlin H. (2006) Lipid peroxidation is not increased in heart failure patients on modern pharmacological therapy. *J Cardiovasc Pharmacol*, 48: 166-72.
- 1.Antoniades C, Bakogiannis C, Leeson P, Guzik TJ, Zhang MH, Tousoulis D, Antonopoulos AS, Demosthenous M, Marinou K, Hale A, Paschalis A, Psarros C, Triantafyllou C, Bendall J, Casadei B, Stefanadis C, Channon KM. (2011) Rapid, direct effects of statin treatment on arterial redox state and nitric oxide bioavailability in human atherosclerosis via tetrahydrobiopterin-mediated endothelial nitric oxide synthase coupling. *Circulation*, 124: 335-45.
- 1.Szelényi Z, Fazakas Á, Szénási G, Kiss M, Tegze N, Fekete BC, Nagy E, Bodó I, Nagy B, Molvarec A, Patócs A, Pepó L, Prohászka Z, Vereckei A. (2015) Inflammation and oxidative stress caused by nitric oxide synthase uncoupling might lead to left ventricular diastolic and systolic dysfunction in patients with hypertension. *J Geriatr Cardiol*, 12: 1-10.
- 2.Szelényi Z, Fazakas Á, Szénási G, Tegze N, Fekete B, Molvarec A, Hadusfalvy-Sudár S, Jánosi O, Kiss M, Karádi I, Vereckei A. (2015) The mechanism of reduced longitudinal left ventricular systolic function in hypertensive patients with normal ejection fraction. *J Hypertens*, 33: 1962-9.
- 36.Fazakas Á, Szelényi Z, Szénási G, Nyíró G, Szabó PM, Patócs A, Tegze N, Fekete BC, Molvarec A, Nagy B, Jakus J, Örsi F, Karádi I, Vereckei A. (2016) Genetic

predisposition in patients with hypertension and normal ejection fraction to oxidative stress. *J Am Soc Hypertens*, 10: 124-32.

11 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

11.1 Disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. **Szelényi Z***, Fazakas Á*, Szénási G, Kiss M, Tegze N, Fekete BC, Nagy E, Bodó I, Nagy B, Molvarec A, Patócs A, Pepó L, Prohászka Z, Vereckei A. (2015) Inflammation and oxidative stress caused by nitric oxide synthase uncoupling might lead to left ventricular diastolic and systolic dysfunction in patients with hypertension. *J Geriatr Cardiol*, 12: 1-10.

IF: 1,393 *Megosztott első szerző

2. **Szelényi Z**, Fazakas Á, Szénási G, Tegze N, Fekete B, Molvarec A, Hadusfalvy-Sudár S, Jánosi O, Kiss M, Karádi I, Vereckei A. (2015) The mechanism of reduced longitudinal left ventricular systolic function in hypertensive patients with normal ejection fraction. *J Hypertens*, 33: 1962-9.

IF: 5,062

3. Fazakas Á*, **Szelényi Z***, Szénási G, Nyíró G, Szabó PM, Patócs A, Tegze N, Fekete BC, Molvarec A, Nagy B, Jakus J, Örsi F, Karádi I, Vereckei A. (2016) Genetic predisposition in patients with hypertension and normal ejection fraction to oxidative stress. *J Am Soc Hypertens*, 10: 124-32.

IF: 2,656 *Megosztott első szerző

11.2 A disszertációtól független közlemények

1. Apponyi Gy, Pilecky D, **Szelényi Zs**, Horváth A, Heltai K, Szilágyi Sz, Becker D, Gellér L, Merkely B, Zima E. (2011) Terápiás hypothermia-indukálta EKG-változások retrospektív vizsgálata – Első tapasztalatok. *Cardiologia Hungarica*, 41: 225-230.

IF: N/A

2. **Szelényi Z**, Duray G, Katona G, Fritúz G, Szegő E, Kovács E, Szénási G, Vereckei A. (2013) Comparison of the "real-life" diagnostic value of two recently published electrocardiogram methods for the differential diagnosis of wide QRS complex tachycardias. *Acad Emerg Med*, 20: 1121-30.

IF: 2,198

3. **Szelényi Zs**, Vereckei A. Az oxidatív stressz és gyulladás patogenetikai szerepe a hypertoniás betegek bal kamra dysfunctiójában és a megőrzött ejectiós frakciójú szívelégtelenségben. In: Blázovics A, Mézes M, Róth E (szerk.), *Oxidatív stressz és betegségek*. Szent István Egyetemi Kiadó, Gödöllő, 2015: 89-95.

IF: N/A

4. Szabolcs Z, **Szelényi Zs**. Szívátültetés. In: Tulassay Zs (szerk), *A belgyógyászat alapjai*. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2016: 609-610.

IF: N/A

5. Vereckei A, Katona G, **Szelényi Z**, Szénási G, Kozman B, Karádi I. (2016) The role of electrocardiography in the elaboration of a new paradigm in cardiac resynchronization therapy for patients with nonspecific intraventricular conduction disturbance. *J Geriatr Cardiol*, 13: 118-25.

IF: 1,393

12 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni a kutatómunkámhoz nyújtott sok segítséget és az eredményes kutatás lehetőségének megteremtését:

Dr. Vereckei Andrásnak, témavezetőmnek, éveken át tartó segítségével, szakmai irányításáért

Prof. Merkely Bélának, Prof. Karádi Istvánnak és Dr. Becker Dávidnak

Dr. Bodó Imrének

Dr. Fazakas Ádámnak

Dr. Fekete Bertalannak

Gurzó Krisztinának

Hadusfalvy-Sudár Somának

Jakus Juditnak

Jánosi Olivérnek

Dr. Kiss Melindának

Dr. Molvarec Attilának

Dr. Nagy Bálintnak

Dr. Nagy Eszternek

Nyíró Gábornak

Dr. Örsi Ferencnek

Dr. Patócs Attilának

Pepó Lillának

Pongrácz Ágnesnek

Dr. Prohászka ZoltánnakSzabó M. Péternek

Szénási Gábornak

Szigeti Ilonának

Dr. Tegze Nárcisznak

Továbbá szeretnék köszönetet mondani családomnak folyamatos támogatásukért.