

STRESZCZENIE

Wstęp. Układ RAA, poprzez swoją wielokierunkową aktywność, kontroluje czynność m.in. układu sercowo-naczyniowego, nerek oraz nadnerczy. Udowodniono, że klasyczny pogląd na przekazywanie sygnału za jego pośrednictwem nie odzwierciedla w pełni jego aktywności ze względu na obecność tkankowego układu RAA w licznych narządach. Na jego aktywność wpływają liczne powszechnie stosowane leki m.in. ACEI, ARB, MRA, a interakcje te mogą dalece wykraczać poza typowe spektrum ich profilu farmakodynamicznego, determinując tym samym ich plejotropowe działanie na poziomie śródbłonna naczyniowego i płytek krwi.

Cel. Zasadniczym celem niniejszej rozprawy jest ocena wpływu ARB badanych na przykładzie walsartanu (jednego z najczęściej stosowanych w praktyce klinicznej i wnikliwie przebadanych przedstawicieli tej grupy) na fenotyp funkcji śródbłonna u osób z izolowanym pierwotnym nadciśnieniem tętniczym (NT). Dodatkowo, dokonano analizy powiązań pomiędzy aktywnością i reaktywnością układu RAA a profilem funkcji śródbłonna – zarówno u osób normotensyjnych, jak i chorych z NT. Oceniono także wpływ walsartanu na wybrane parametry funkcji płytek krwi w warunkach wyjściowych oraz po farmakologicznej blokadzie cyklooksygenazy przez kardioprotekcyjną dawkę kwasu acetylosalicylowego.

Materiał i metody. Do badania włączono 101 osób – 31 pacjentów między 18 a 40 rokiem życia, z rozpoznaniem izolowanym pierwotnym NT oraz 70 normotensyjnych ochotników. Osoby normotensyjne zostały podzielone na tercyle wyodrębnione w oparciu o wartości wskaźnika aldosteronowo-reninowego (ARR) na grupy N I (n: 23), N II (n: 23), N III (n: 24). Wykluczono osoby z rozpoznaną cukrzycą, wtórnym nadciśnieniem tętniczym, chorobami przebiegającymi z towarzyszącym przewlekłym procesem zapalnym, stosujące niesteroidowe leki przeciwzapalne (NSAIDs) lub na nie uczulonych. Po zbadaniu pacjentów porównano stężenia podstawowych markerów (biochemicznych, stresu oksydacyjnego, aktywacji śródbłonna, aktywności prozapalnej i angiogennej), parametrów szlaku tlenu azotu oraz funkcję wazodylatacyjną śródbłonna (metodą FMD). Wyjściowo oceniono także szybkość propagacji fali tętna (PWV; ang. pulse wave velocity) jako element uzupełniający stratyfikację ryzyka sercowo-naczyniowego.

Wybrane parametry biochemiczne, aktywności układu RAA, płytek krwi i funkcji śródbłonna oceniano wyjściowo, następnie po wlewie L-Argininy, kolejno po zastosowaniu ASA, dalej – po kolejnym wlewie L-Argininy, a następnie protokół został powtórzony po 2 tygodniach terapii walsartanem – wyłącznie u chorych z NT. Uzyskane wyniki poddano opracowaniu statystycznemu wykorzystując program Statistica 13.0 StatSoft®.

Wyniki. Badane grupy były zbliżone pod względem danych demograficznych. Nie wykazano istotnego wpływu stosowanego walsartanu i ASA na funkcję wazodylatacyjną śródbłonna oraz

parametry biodostępności tlenku azotu u osób z NT. W grupie pacjentów z NT terapia walsartanem spowodowała wzrost wartości ARO jednak bez spadku stężenia aldosteronu. Zastosowanie ASA skutkowało zatarciem istniejących uprzednio istotnych różnic pomiędzy grupami wskutek wzrostu ARO w grupie z najwyższymi wartościami ARR.

Wyższe wartości sICAM-1 w grupie osób z NT, tak jak przypadku sE-selektyny, wskazywać mogą na aktywację zapalną śródbłonna. Włączenie walsartanu nie spowodowało żadnych zmian w stężeniu tego parametru, podobnie jak sVCAM-1. Wyższe stężenie PAI-1 u osób z nadciśnieniem tętniczym sugeruje aktywację prozakrzepową śródbłonna, nie zaobserwowano wpływu walsartanu ani ASA na stężenie tego parametru. Stężenie 6-keto-PGF1-alfa, było niższe u osób z NT, co pośrednio może wskazywać na aktywację prozakrzepową, dodatkowo stwierdzono zwiłokrotniony spadek 6-keto-PGF1-alfa po jednoczesnym zastosowaniu ASA i walsartanu. Stężenia VEGF nie różniły się między grupami. W każdej grupie, zgodnie z oczekiwaniami obserwowano spadek stężenia tromboksanu w odpowiedzi na podanie ASA. Zastosowanie ASA spowodowało istotny spadek agregacji zależnej od cyklooksygenazy oraz od czynnika von Willebranda. W niniejszym badaniu nie wykazano, aby zdolność do agregacji płytek zależnej od ADP, cyklooksygenazy i czynnika von Willebranda różniła się pomiędzy tercylami w podgrupach osób normotensyjnych, nie zależała więc od stopnia aktywacji układu RAA. Nie wykazano także, by obecność NT wpływała na nasilenie agregacji płytek krwi.

Wnioski. Zastosowany protokół badawczy z uwzględnieniem podaży L-Argininy, blokady cyklooksygenazy i zahamowania układu RAA nie powodował znacznych zmian w biodostępności tlenku azotu. Biorąc pod uwagę zaobserwowane jedynie różnice dostępności substratowej oraz ocenę markerów degradacji, całokształt obserwacji tłumaczyć może nasilona degradacja tlenku azotu, ale bez wzrostu stresu nitrozacyjnego u osób z NT. Stosowanie walsartanu nie zaburzyło wyjściowych zależności, co nie pozwala na odrzucenie pierwszej hipotezy zero, a tym samym przeczy plejotropowemu działaniu walsartanu na biodostępność NO.

Wykazano działanie plejotropowe walsartanu przejawiające się zarówno spadkiem płytkowej syntezy tromboksanu, jak i produkcji śródbłonkowej prostacykliny. Wskazuje to na nieswoiste, pozareceptorowe działanie sartanu na obie izoformy cyklooksygenazy, co nie jest obserwowane w przypadku stosowania wyłącznie kardioprotekcyjnej dawki ASA. Kliniczne znaczenie tej obserwacji wymaga dalszych badań i może częściowo, na poziomie molekularnym wyjaśniać, opisywane w literaturze niwelowanie korzystnego wpływu sartanów na układ sercowo-naczyniowy przy jednoczesnym stosowaniu ASA. Z drugiej strony, dołączenie walsartanu do wcześniej stosowanego ASA powoduje utratę selektywności tego leku w hamowaniu COX-1, a to z kolei mogłoby potencjalnie niwelować jego korzystne kardioprotekcyjne działanie.

Wskutek terapii walsartanem u osób z samoistnym NT nie zmieniły się istotnie markery stanu zapalnego. Podobnie, nie zmieniła się aktywność prozakrzepowa i angiogenna śródbłonna,

co nie potwierdza plejotropowego działania leku w krótkoterminowej obserwacji na poziomie molekularnym.

Nie wykazano korzystnego działania walsartanu na aktywność wazodylatacyjną śródbłonna. U osób normotensyjnych obserwowana większa dostępność substratowa dla eNOS nie przełożyła się na poprawę funkcji śródbłonna w ocenie czynnościowej. Ujawniono jedynie nieistotny wzrost wazodylatacji po podaniu L-Arg oraz istotnie wyższe stężenia ADMA w drugim tercylu, co może świadczyć o zaburzonej syntezie NO w tej grupie.

Zastosowany w badaniu walsartan hamował agregację zależną od czynnika vW i potęgował hamujące działanie podanego jednocześnie kwasu acetylosalicylowego. Powyższe obserwacje pozwalają na potwierdzenie modulującego działania walsartanu na agregację płytek. Nie wykazano działania walsartanu na aktywację płytek krwi, ocenioną za pomocą stężeń wybranych markerów we krwi.

SUMMARY

Background. The RAA system, through its extensive activity, controls the function of e.g. cardiovascular system, kidneys and adrenal glands. As far as the literature is concerned, it has been demonstrated that the classical idea of signaling pathway does not reflect fully its action due to the expression of the tissue RAA system in multiple organs. Its action is influenced by numerous drugs commonly used in clinical practice, including ACEI, ARB, MRA, and these interactions may exceed widely the typical spectrum of their pharmacodynamic profile, thus determining their pleiotropic action at the level of vascular endothelium and platelets.

Aim. The main aim of this study was to assess the effect of ARB, tested on the example of valsartan, on endothelial function in subjects with isolated primary arterial hypertension. In addition, a relationship between the activity and reactivity of the RAA system and the endothelial function profile was analyzed in normotensive and hypertensive patients. The effect of ARB on selected parameters of platelet function at baseline and after pharmacological inhibiting of cyclooxygenase by acetylsalicylic acid was also investigated.

Material and methods. The study included 101 patients at age of 18 - 40 years, 31 subjects with diagnosed isolated primary hypertension and 70 normotensive volunteers.

Subjects with diagnosed diabetes mellitus, secondary arterial hypertension, disorders characterized by chronic inflammatory process, using non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or allergic to them were excluded from this study. After physical examination, concentrations of basic markers (including biochemical, oxidative stress, endothelial activation, proinflammatory and angiogenic activity), nitric oxide metabolic pathway parameters and endothelial vasodilatory function (FMD method) were analyzed. Additionally, the pulse wave velocity (PWV) was also assessed as a complementary element to the cardiovascular risk stratification. Selected biochemical parameters of the RAA activity, platelet activity and endothelial function were evaluated at baseline, which was followed by the L-Arginine i.v. infusion. Afterwards the measurements were repeated after ASA (75mg/24h for 4 days), and then the protocol was repeated after 2 weeks of valsartan therapy - only in hypertensive subjects. Statistical analysis was performed using the Statistica 13.0 StatSoft®.

Results. The study groups were similar in terms of demographic data. There was no significant effect of valsartan and ASA on the vasodilatory endothelial function nor on the parameters of nitric oxide bioavailability in hypertensive subjects.

In the hypertensive group, treatment with valsartan increased plasma renin activity (PRA) but without a decrease in aldosterone levels. The use of ASA resulted in the blurring of the previously existing significant differences between the groups due to the increase in PRA in the group with the highest ARR values.

Higher levels of sICAM-1 in the hypertensives, and similarly of sE-selectin, may indicate inflammatory activation of the endothelium. The administration of valsartan did not result in any changes in the concentration of this parameter, as did sVCAM-1. Higher concentration of PAI-1 in hypertensive group suggests prothrombotic activation of the endothelium. No effect of valsartan or ASA on the concentration of this parameter was observed. The concentration of 6-keto-PGF1-alpha was lower in hypertensives, which may indicate prothrombotic activation; additionally, a multiple decrease of 6-keto-PGF1-alpha was found after simultaneous application of ASA and valsartan. VEGF concentration did not differ between groups. In each group, as expected, a decrease in thromboxane concentration in response to ASA was observed. The use of ASA resulted in a significant decrease in aggregation dependent on cyclooxygenase and von Willebrand factor. In this study, the ability of platelet aggregation dependent on ADP, cyclooxygenase and von Willebrand factor has not been shown to differ between tercyls in normotensive groups, so it does not depend on the degree of RAA activation. Hypertension also had no effect on platelet aggregation.

Conclusions. The pharmacological interventions conducted according to the study protocol, did not cause significant changes in the bioavailability of nitric oxide. Taking into account only the observed differences in substrate availability and the assessment of degradation markers, the overall observation may be explained by the increased degradation of nitric oxide, but without the increase in nitrosative stress in hypertensives. The use of sartan did not disturb the baseline relationship, which does not allow to reject the first hypothesis and thus contradicts the pleiotropic effect of valsartan on the NO bioavailability.

Pleiotropic action of valsartan has been shown by a decrease in the platelet thromboxane synthesis and production of endothelial prostacyclin. This indicates a non-specific and non-receptor-related action of sartan on both cyclooxygenase isoforms, which is not observed when only cardioprotective dose of ASA was used. Clinical significance of this observation requires further studies and may partially, at the molecular level, explain the elimination of the beneficial effects of sartans on the cardiovascular system with simultaneous use of ASA. On the other hand, addition of valsartan to the previously used ASA resulted in a loss of selectivity of this drug in COX-1inhibiting, and this in turn could potentially reduce its beneficial cardioprotective effects.

As a result of valsartan therapy in hypertensives, the markers of inflammation have not changed significantly. Similarly, the prothrombotic and angiogenic activity of the endothelium was stable, which does not confirm the pleiotropic action of drug in the short-term observation. No beneficial effect of valsartan on endothelial function was demonstrated. In normotensive subjects, higher substrate availability for eNOS did not improve endothelial function. Only insignificant increase in vasodilation after L-Arg administration and significantly higher ADMA

concentrations in the second tercyl were revealed, which may indicate impaired NO synthesis in this group.

The sartan used in this study inhibited vWF-dependent aggregation and increased the inhibitory effect of acetylsalicylic acid administered simultaneously. This observations allow to confirm the modulating action of valsartan on platelet aggregation. No significant effect of sartan therapy on platelet activation markers was demonstrated.