

Arteriogenesis: egy új terápiás intervenciós stratégia krónikus artériabetegségekben. Sejtes mechanizmus és kísérletes modellek

ERDŐ FRANCISKA DR.¹ és IVO R. BUSCHMANN DR.²

¹IVAX Gyógyszerkutató Intézet Kft., Farmakológia Osztály, Budapest

²Research Group for Experimental and Clinical Arteriogenesis, Department of Cardiology, Charité University of Medicine, Berlin, Germany

Az arteriogenesis fogalmát csak néhány évvel ezelőtt definiálták. Ez az endogén folyamat, egy természetes kompenzációs mechanizmus a stenosis vagy artériás okklúzió indukálta szöveti hipoperfúzió ellen, ami a vér már meglévő kollaterális artériákba történő jobb megoszlását és az erek újjászerveződését jelenti. A főbb krónikus artériabetegségeket, mint amilyen a coronariabetegség, a perifériás artériabetegség és a cerebrovasculáris betegség, széles körben tanulmányozták az angiogenesis és az arteriogenesis szempontjából az elmúlt évtizedben. Az *in vivo* állatkísérletek és a kollaterális artériák fejlődése mögött álló sejtes és molekuláris mechanizmusok *ex vivo* analízise feltárta a keringő monociták, endothel- és simaizom-sejtek alapvető szerepét a kollaterális erek újrastrukturálódásában. Az adaptív arteriogenesis a szívben, az agyban és a periférián különböző kemokinekkel és növekedési faktorokkal stimulálható. Ezen anyagok terápiás alkalmazása ígéretes eredményeket hozott preklinikai állatmodellekben, úgymint javuló kollaterális konduktanciát, kiterjedt neovascularisatiót a kollaterális-függő szöveti régióban, csökkent infarktusterületet hemodinamikus stroke-ban és jobb funkcionális paramétereket miocardialis ischaemiában. A humán vizsgálatok tervezése során föl kell tennünk a következő kérdéseket: mi az optimális alkalmazási megközelítés, a megfelelő dózis, az időzítés és a követés időtartama? Ez az összefoglaló közlemény áttekintést szeretne adni az arteriogenesis mechanizmusának főbb elemeiről és a spontán és stimulált kollaterális artériánövekedésre vonatkozó legfontosabb kísérletes adatokról.

Kulcsszavak: arteriogenesis, coronariabetegség, perifériás artériabetegség, cerebrovasculáris betegség, állatmodellek, endothel sejtek, monociták, növekedési faktorok

Arteriogenesis as a new therapeutic intervention strategy in chronic artery disorders. Cellular mechanism and experimental models. The term arteriogenesis became clarified only some years ago. This endogenous process is a natural compensation mechanism against stenosis or arterial occlusion-induced tissue hypoperfusion via improvement of blood distribution in the pre-existent collateral arteries. The main chronic artery disorders like coronary heart disease, peripheral artery disease and cerebrovascular disease were extensively studied for angiogenesis and arteriogenesis during the last decade. The *in vivo* animal experiments and the *ex vivo* analysis of the cellular and molecular mechanisms behind collateral artery development revealed the crucial role of circulating monocytes, endothelial and smooth muscle cells in the remodelling of collateral blood vessels. The adaptive arteriogenesis in the heart, brain and periphery can be stimulated by different chemokines and growth factors. The therapeutic application of these substances resulted in promising data in pre-clinical animal models, i.e. improved collateral conductance, extended neo-vascularization in the collateral dependent tissue regions, decreased infarct area after hemodynamic stroke and better functional parameters in myocardial ischemia. The questions that have to be addressed during the design of human investigations are the optimal delivery approach, the appropriate dosage, timing and the durability of the follow up. The present review tries to give an overview about the main points of the mechanism and the most important experimental data concerning spontaneous and stimulated collateral artery growth, this new and promising therapeutic approach for chronic artery diseases.

Keywords: arteriogenesis, coronary heart disease, peripheral artery disease, cerebrovascular disease, animal models, endothelial cells, monocytes, growth factors

(Beérkezett: 2007. január 25.; elfogadva: 2007. február 6.)

Rövidítések

ACA = arteria cerebri anterior; BCCO = bilaterális carotis communis okklúzió; BMC = csontvelő eredetű sejt; CHD = coronariabetegség; COX = ciklo-oxigenáz; CT = komputer tomográf; CVD = cerebrovascularis betegség; ECM = extracelluláris mátrix; EPC = endothel progenitor sejt; FGF = fibroblaszt növekedési faktor; FSS = folyadék nyíróerő; GFP = zöld fluoreszcens fehérje; GM-CSF = granulocita-makrofág-kolonia stimuláló faktor; ICAM = intercelluláris sejtadhéziós molekula; IL = interleukin; LAD = bal anterior deszcendens coronariaarteria; LFA = limfocitafunkció-asszociált antigén; MCA = közepagyi artéria; MCP = monocita kemoattraktív fehérje; MMP = mátrix metalloproteináz; NAP = neutrofilaktiváló fehérje; NO = nitrogén-monoxid; PAD = perifériás artériabetegség; PBS = foszfát-pufferelt fiziológiás sóoldat; PCA = arteria cerebri posterior; PDGF = vérelemző eredetű növekedési faktor; (r)CBF = (régionális) agyi véráramlás; SMC = simaizomsejt; SSRE = nyíróerőre válaszoló elem; TGF = transzformáló növekedési faktor; TNF = tumor nekrozis faktor; TUNEL = terminális deoxinukleotidil transzferáz mediálta-2'-deoxiuridin, 5'-trifoszfát-biotin végjelzés; VCAM = vaszkuláris sejtadhéziós molekula; VEGF = vaszkuláris endothelialis növekedési faktor; 3VO = 3 ér okklúzió

Az erek növekedésének három formáját különböztetjük meg: vasculogenesis, angiogenesis és arteriogenesis. A *vasculogenesis* az erek primer plexusának képzése az angioblaszt által a korai ontogenesis során. Az *angiogenesis* az endothel sejtek sarjadása, mely új kapilláris hálózat kialakulásához vezet. Az angiogenesis szerves része számos folyamatnak, úgymint gyulladás, sebgyógyulás, tumornövekedés és arterioszklerózis. Az angiogenesis hajtóereje az ischaemia és a legfontosabb pro-angiogén faktor a vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF). Az *arteriogenesis* a már létező kollaterális arteriolák transzformációja nagy vezető artériákká. Ez a folyamat a nagy artériák okklúziója következtében kialakuló nyomásgradiens fokozódás, vagyis a növekvő nyíróerő függvénye [1, 2]. Jelen összefoglalónk az arteriogenesisre mint az artériás okklúzió által érintett szövet perfúzióját javító vagy visszaállító érnövekedés leghatékonyabb formájára koncentrálna.

A krónikus artériabetegségek főbb területei

Az artériás okklúzió az arterioszklerózis-betegség folyamatának egyik végső jelensége. A coronariákban egy ilyen okklúzió angina pectoris, myocardialis infarktust vagy halált okozhat. Számos esetet leírtak azonban, ahol az artériás okklúzió a coronariaarteriákban a kollaterális keringés által kompenzálódott, és a véráramlás a veszélyeztetett myocardialis területeken helyreállt [3, 4]. A perifériás keringésben az artériás okklúzió intermittens claudicatiót okozhat, és számos esetben kritikus lábischamiához vagy a végtag elvesztéséhez vezethet. A perifériás artériás betegségben (PAD) szenvedők jelentős részénél a kollaterális keringés csaknem teljesen kompenzálni tudja a leromlott szöveti perfúziót. Azonban sok beteg marad, akinek a szimptomás PAD a természetes kompenzáció, a járásgyakorlatok és a rizikófaktorok csökkentése ellenére progrediál. Ezekben az esetekben bypassműtét vagy perkután transzlumináris angioplasztika a választható terápiás lehetőség. A cerebrovascularis betegségek

esetében az arterioszklerotikus folyamat gyakran vezet krónikus agyi hipoperfúzióhoz és egy nagy agyi artéria (legtöbbször a közepagyi artéria) okklúziójához, vagy egy, vagy mindkét artéria carotis communis stenosisához. Jelenleg a stroke kezelésére alkalmazott terápiás beavatkozások nem elégségesek. A vascularis „remodelling” stimulációja, és így a Circulus Arteriosus Willisii kollaterális arteriáinak méretbeli növelése ígéretes terápiás megközelítés az agy csökkent vérellátásának kompenzációjára.

Sejtes és molekuláris alapok

Endothel sejtek, monociták és simaizomsejtek

Egy nagy artéria elzáródása után rendkívüli nyomásgradiens alakul ki, mely növeli a véráramlást a kollaterális arteriolákon keresztül. A növekvő véráramlás direkt módon fokozza a folyadék nyíró erejét (FSS = fluid shear stress), azaz a viszkózus nyomást, melyet az áramló vér kifejt az arteriolák belső felszínét borító endothel sejtekre (1. ábra). A FSS-t az endothel sejtek felszínén érzékeny struktúrák – mint amilyenek az integrinek, tirozin-kináz-receptorok és számos ioncsatorna – detektálják. Továbbá az egész sejt, amikor az FSS deformálja, továbbítja a jelet, és szenzoriként működik. A sejt a mechanikai jelet metabolikus változásokra vagy a szignál-átviteli gépezet változásaira – mint például génexpresszió vagy sejtprolifерáció – fordítja le. Több mint 40 génről írták le, hogy nyíróerőre válaszoló elemeket (SSRE: shear stress responsive elements) tartalmaz. A sokszoros génexpresszió-indukció egy gépezetet hoz működésbe, ami a keringő vörsejtek vonzását és adhézióját idézi elő. A legtöbb „felregulált” gén kemoattraktív vagy aktiváló citokinszerű növekedési faktorok, vagy adhéziós molekulák expressziójáért felelős. Az endothel sejteken fokozódik a szelektinek, intercelluláris adhéziós molekulák (ICAM-1 és -2) és vascularis sejtadhéziós molekulák (VCAM-1) expressziója. Monocita kemoattraktív protein-1 (MCP-1) és vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF)-szerű faktorok szabadulnak fel, hogy a monocitákon integrinexpressziót váltsanak ki. A monociták és az endothel sejtek közti kölcsönhatásért főként két integrin felelős: a Mac-1 és az LFA-1, melyek a β_2 -integrin-családhoz tartoznak. Ezek az integrinek az endothel sejtek felszínén kölcsönhatásba lépnek a nekik megfelelő adhéziós molekulákkal, így elsősorban a fokális adhéziós komplexbe csoportosult ICAM-1-gyel, ICAM-2-vel és VCAM-1-gyel. A monocitáknak a kollaterális artéria lumenáris oldaláról a mélyebb érfalrégiókba történő migrációjuk során barrieréken kell átjutniuk, így a belső elasztikus laminán, valamint az extracelluláris mátrixon (ECM). A monociták, illetve az érett makrofágok proteázszerű mátrix-metalloproteinázokat (MMP-2, MMP-9) és uPA-t termelnek. Ezek a proteolitikus anyagok kinyitják a barrieréket, és nyílásokat képeznek, melyek által a monociták át tudnak hatolni az érfalon [5]. A szabad extracelluláris helyek lehetővé teszik, hogy a simaizomsejtek (SMC) növeljék mobilitásukat és pozitív vascularis újjászerveződést (remodelling) okozzanak. A SMC-k migrálni tudnak az intimába és/vagy *in situ* osztódnak. Az SMC-k *de novo* egy intercelluláris jelrendszert fejlesztenek ki, a connexin-37-et.

A differenciálódó kollaterálisok növekedési folyamatában az SMC-k, adventiciális fibroblasztok és az endothel sejtek proliferációja dominál. Ezt a folyamatot a parakrin növekedési faktorokat (GM-CSF, TGF- β , PDGF és MCP-1) szekretáló monociták/makrofágok indukálják. A sejtproliferáció a kis kollaterális utak nagy vezető artériákká történő transzformációjához vezet.

Egyéb sejttípusok részvétele

A növekvő kollaterálisok falában nagy számban találtak hízósejteket. A monocitákhoz hasonlóan ezek a sejtek is a vérből származnak, és az érfalat infiltrálják. Valószínűleg a simaizomsejtek proliferációját FGF-2 és TGF- β felszabadítása révén stimulálják. A hízósejtek indirekt módon, gyulladáshoz vezető citokinek (MCP-1 és a TNF- α) liberálása útján indukálják a monociták kemotaxisát és makrofágokká történő differenciálódását. A monociták életidejét GM-CSF felszabadítása révén hosszabbítják meg [5].

Az utóbbi időben számos tanulmány mutatott rá, hogy a csontvelő eredetű őssejtek (BMC), és az endothel progenitor sejtek (EPC) nemcsak az embrionális fejlődés során, de a felnőtt szervezetben is részt vesznek a véredények növekedésében. Ezek a sejtek a fiziológiás és patológiás neovascularisatio helyére vándorolnak, és ott beépülnek az érfalba [6, 7, 8]. Az EPC transzplantáció növelte a vérperfúziót és a szervfunkció

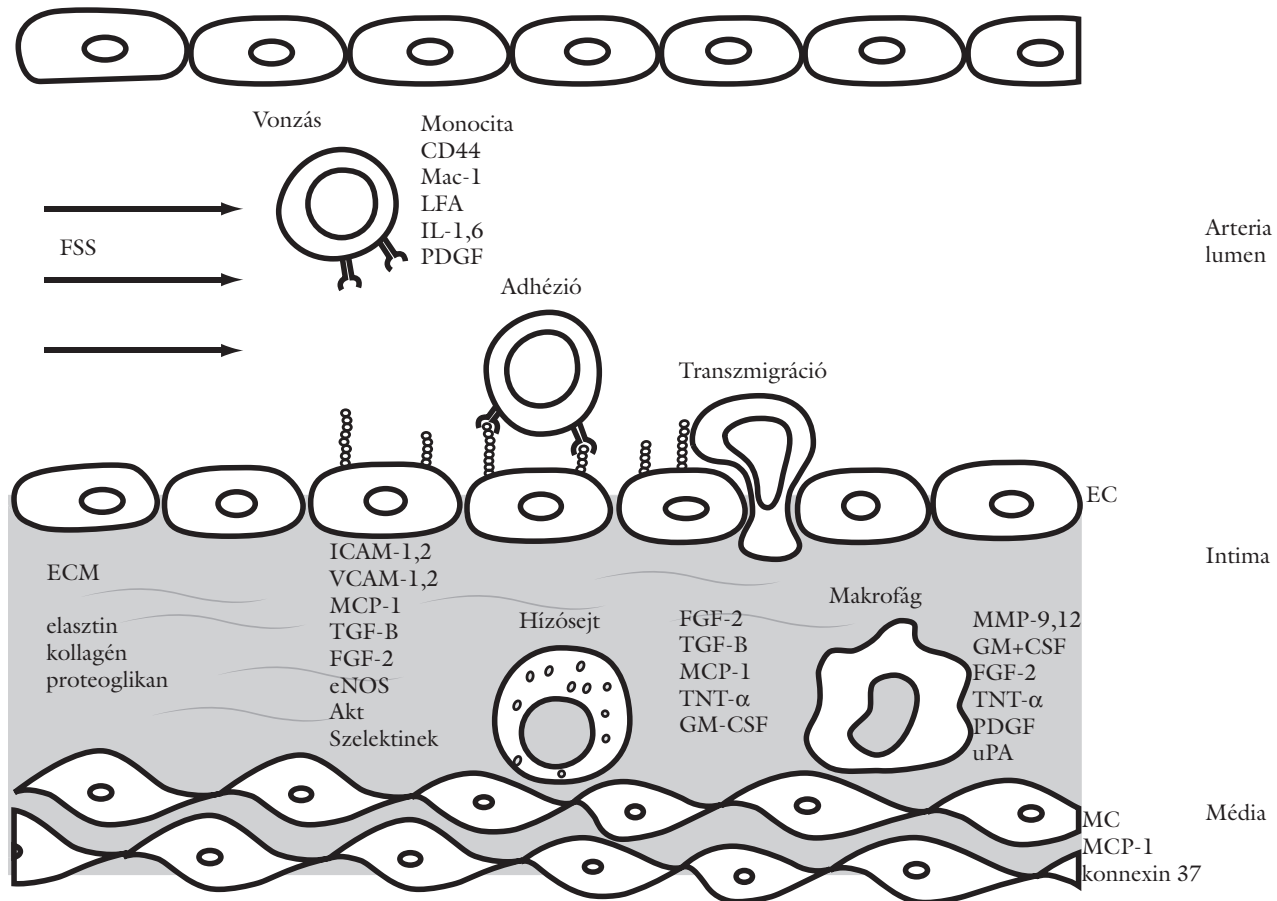
visszatérését myocardialis és perifériás ischaemiamodellekben [9, 10]. Heil és Schaper leírták, hogy egy egér hátsó lábának ischaemiamodelljén a zöld fluoreszcens-fehérjével (GFP) jelzett csontvelővel történő transzplantáció után a GFP szignálok nem ko-lokalizáltak sem az endothel sejtekkel, sem a simaizom-sejtekkel, de a növekvő kollaterális artériák környezetében akkumulációt mutattak [5]. Így valószínűnek látszik, hogy a csontvelő eredetű sejtek inkább támogatják a kollaterális növekedést proarteriogén anyagok felszabadítása révén, mint a növekvő kollaterálisokba történő beépüléssel.

Az arteriogenesis kísérletes modelljei

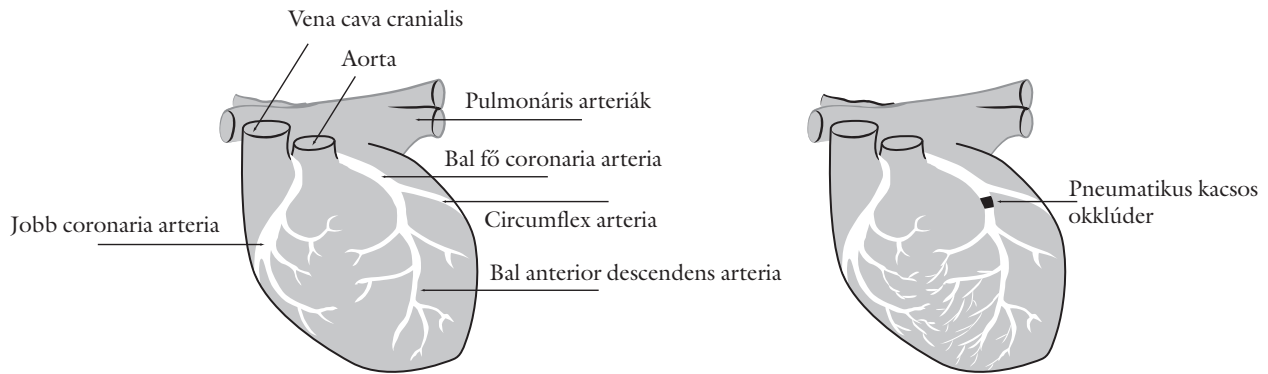
Az arteriogenesis *in vivo* modelljei az artériás betegség három fő típusára koncentrálnak: a coronariabetegségre (CHD), a perifériás artériabetegségre (PAD) és a cerebrovascularis betegségre (CVD).

Coronariabetegség

A növekvő kollaterális artériák első részletes vizsgálatát kutyaszíven végezték. Monocitákat találtak az endotheliumban és a kutyák coronariarendszerében, a szubintimális térben. A vascularis



1. ábra Sejtes történések az arteriolafalban az arteriogenesis során. (FSS = folyadék nyíróerő, ECM = extracelluláris mátrix, EC = endothel sejt, MC = simaizomsejt) A magyarázatot lásd a szövegben



2. ábra A patkányszív-coronaria artériáinak sematikus reprezentációja. Bal: fiziológiás körülmények, jobb: kollateralizáció repetitív ischaemiás periódusok után

simaizomsejtek a contractilis formából a proliferatív fenotípussá változtak, és részt vettek a neointima képzésében. Jelentős gyulladásos reakció a növekvő erek környezetében is megfigyelhető volt [11]. A már meglévő kollaterális erek átmérőjének növekedése kutyákon nagyon jelentős (20-szoros) volt [12].

Weibrach és mtsai, valamint *Matsunaga és mtsai* repetitív coronariaartéria okklúziót alkalmaztak kutyákon, mellyel a myocardialis szövet nem nekrotikus ischaemiás károsodását indukálták [13, 14]. A bal anterior deszcendens coronariaartériát (LAD) vascularis ballon mandzsetta okklúderrel szorították el. Az okklúziókat 21 napon keresztül, naponta nyolcszor, kívülről hozták létre. A myocardialis interstitialis folyadékot egy intramiocardialis katéteren keresztül gyűjtötték. Azt találták, hogy a repetitív ischaemiás epizódoknak kitett állatokból származó miocardialis interstitialis folyadék alkalmazása jelentős endothel-sejt- és simaizom-sejt-proliferációt eredményezett sejt kultúrákban. Kimutatták, hogy a nitrogén-monoxid (NO) a coronaria kollaterális növekedés egy fontos regulátora, és hogy a repetitív ischaemia a VEGF expresszióját indukálja. Az ischaemiás kontroll állatokon a radioaktív mikroszférákkal mért kollaterális véráramlás progresszíven növekedett a 21 napos megfigyelési idő során [13].

Lamping és mtsai egy nemrégiben megjelent közleményben leírták, hogy a bradycardia stimulálja a vascularis növekedést kutyákon részleges coronariaokklúzió során [15]. Ameroid okklúdert használtak, és 4 héttel a coronaria artéria okklúziója után mind a vezetőképességet (miokardiális véráramlás/diasztolés nyomás), mind a szív vascularis morfometriáját értékelték.

White és mtsai részleges coronariaartéria-okklúziót alkalmaztak sertésszíven, s azt tapasztalták, hogy a kis, már meglévő arteriolák megnagyobbodnak. Az ischaemiás területen mind a kapilláris denzitás, mind pedig az arteriolás denzitás növekedése megfigyelhető volt [16, 17].

A célból, hogy meghatározzák, hogy a VEGF-expresszió alapvető fontosságú nemcsak az angiogenesisben, de a coronaria kollaterálisok növekedésében is, *Toyota és mtsai* repetitív LAD okklúziós modellt fejlesztettek ki patkányokon [18]. Az okklúzióhoz speciális miniatűr pneumatikus ballon kacsokklúdert használtak, melyet - hasonlóan a kutyakisérletekhez - a lapockák között vezettek ki [13]. 40 másodperces ischaemiás periódusokat alkalmaztak 2 óra 20 percen keresztül, majd 5 óra 40 perces pihe-nőidő következett. Ezek a 8 órás egységek 10 napon keresztül

naponta 3-szor kerültek megismétlésre. A coronaria véráramlás (radioaktív mikroszférákkal), a szisztémás hemodinamika (kamrai kontrakciók, tachycardia, fibrilláció, arrhythmia) és a coronaria mikrovascularis morfológiája (mikro-CT-vel) került értékelésre. Az újrászerveződött vascularis kollaterális hálózat sémás szerkezetét a 10 napos ischaemia előtt és után a 2. ábra mutatja be.

Boodhwani és mtsai a hiperkoleszterinémia hatását vizsgálták a szív növekvő kollaterálisain. Összehasonlították a myocardialis angiogén választ Yucatan minisertésen, melyet normál táppal vagy magas koleszterin-tartalmú táppal etettek 13 héten keresztül [19]. A circumflex artériát ameroid okklúderrel zárták el, és 7 héttel később a vascularis denzitást (kollaterális képződés), a funkcionális választ és angiogén mediátorok expresszióját értékelték. Azt találták, hogy az ischaemia indukálta angiogenesis gátlódik a hiperkoleszterinémiás sertéseken, és ez együtt jár az endosztatin – egy endogén angiogenesisgátló – expressziójának növekedésével. Fokozott myocardialis protein-oxidációt is demonstráltak a magas koleszterin-diétán tartott állatokon, s ez arra utal, hogy a reaktív oxigéngyököknek szabályozó szerepe van a hiperkoleszterinémiás körülmények között történő coronaria kollaterális fejlődésben.

Új terápiás megközelítésként a myocardialis infarktus kezelésére a csontvelő eredetű őssejteket is tesztelték. Ezek a sejtek részt vesznek a szöveti helyreállításban, és sokféle növekedési faktort szekretálnak, melyek alapvetők az angiogenesishez és az arteriogenesishez. Kimutatták, hogy e sejtek különböző fenotípusokká képesek differenciálódni, így cardiomyocytákká, vascularis endothelsejteké és simaizomsejteké. Az autológ csontvelőőssejtek ischaemiás myocardiumra gyakorolt hatását sertésszíven transendocardialis alkalmazás mellett vizsgálták [20, 21]. A transzplantáció után mind a kollaterális áramlás, mind a myocardialis funkció javult. Azonban a sejterápia tekintetében számos megválaszolatlan kérdés maradt. Például a biztonságosságot, az optimális alkalmazási módot, a dózist, az alkalmazás időzítését és a hemodinamikai javulás időtartamát még vizsgálni kell.

Perifériás artériabetegség

A kollaterális artériák fejlődését kiterjedten tanulmányozták perifériás artériás okklúziós modellekben is. A legelterjedtebb módszer a femorális artéria elzárása, mely kísérleteket elsődle-

gesen nyulakon alkalmazzák. Ebben a modellben már 12 órával az artériás okklúzió után makrofág akkumulációt figyeltek meg a növekvő kollaterális erek környezetében, és a gyulladásos folyamat legkifejezettebbé 3 nap múlva vált [22]. A femorális kollaterális erek átmérője 100 µm-ről 400 µm-re nőtt 21 nap érlekötés után [22]. Ez alatt a 3 hét alatt a kollaterális vezetőképesség megnövekedett, és jól fejlett kollaterális erek váltak angiográfiásan láthatóvá [23]. Ezt az átalakulást sémásan a 3. ábrán mutatjuk be.

Az elmúlt két év során számos munkacsoport használta a PAD-modellt az arteriogenesis vizsgálatára. *Grundmann és mtsai* bizonyítékot szolgáltatott arra vonatkozóan, hogy a tumor-nekrózis-faktor- α (TNF- α) két ismert gyulladáscsökkentő anyag (influximab és etanercept) által történő antagonizmusa gyengíti az adaptív arteriogenesis [24]. Az átlagos artériaátmérő és az érsimaizomsejt-proliferáció csökkenését immunhisztokémiai analízissel demonstrálták, valamint kimutatták a kollaterális artériák körül a leukocita-akkumuláció redukcióját is. A kezelt csoportokban megnövekedett a monocyta-apoptózis.

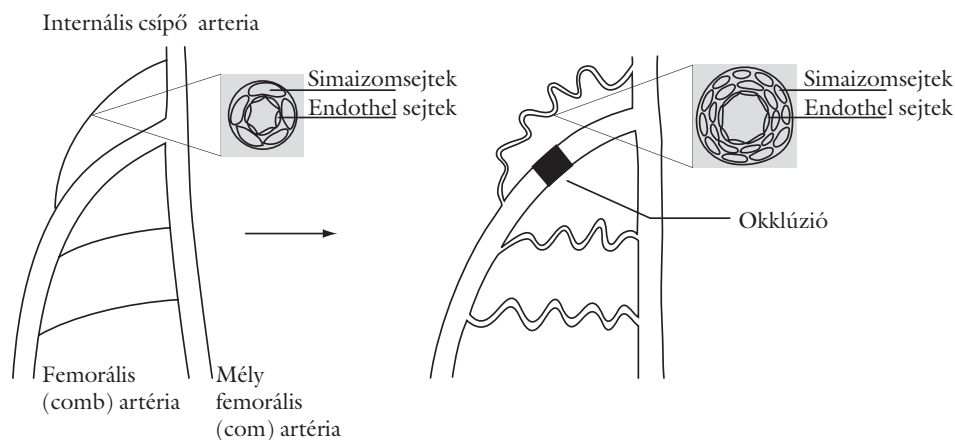
Hofer és mtsai tesztelték a hipotézist, miszerint az ICAM-1 alapvető fontosságú az adaptív arteriogenesisben [25]. 7 nappal a femorális artéria ligációja után azt találták, hogy a kollaterális vezetőképesség megemelkedett az MCP-1-gyel kezelt állatokon. Az arteriogenesis jelentős volt az MCP-1 kezelés után a posztmortem angiogramokon, de ezt a hatást eltörölte az ICAM-1 ellenanyaggal történő együttadása. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az MCP-1 által kiváltott arteriogenesis mechanizmusában szerepet játszik az, hogy az ICAM-1 sejtadhéziós molekulán keresztül a monocyták az endothel sejtek felszínén lokalizálódnak. Ezt a hipotézist tovább vizsgálták ICAM-1 (-/-) és Mac-1 (-/-) knockout egereken, melyeken szintén a femorális artériát zárták el. Egy héttel később fluoreszcens mikroszférákkal határozták meg a perfúziós arányt. Mind az ICAM-1 (-/-), mind a Mac-1 (-/-) állatok esetében jelentősen csökkent az arteriogenesis. Azonban az FT4/7 (-/-) szelektin interakcióhiányos egerek nem mutattak különbséget a kollaterális vezetőképességben a megfelelő kontrollokhoz viszonyítva. Ezeknek az adatoknak az alapján megállapítható, hogy a növekvő kollaterálisokban a monocyták endotheliumhoz történő adhéziója, melyet az ICAM-

1/Mac-1-mediál, az arteriogenesis alapvető lépése. Ugyanakkor ez a folyamat függetlennek látszik a szelektin mechanizmus úttól [25].

Egy nemrég megjelent cikkben *Hofer és mtsai* a leukocyta szubpopulációk arteriogenesisben játszott szerepét vizsgálták [26]. Egyoldali femorális artériaokklúziót végeztek nyulakon. Az állatokat foszfát puffertel fiziológiás sóoldattal (PBS), MCP-1-gyel, interleukin-8-cal (IL-8), neutrofilaktiváló protein-2-vel (NAP-2) vagy limfotaktinnal kezelték 7 napig ozmotikus minipumpán keresztül. A vizsgált citokinek közül egyedül az MCP-1 stimulálta az arteriogenesis, melyet kollaterális vezetőképesség-méréssel (fluoreszcens mikroszférákkal) és angiográfiával mértek. Az MCP-1 vonzotta a monocytákat (CD68 pozitív sejtek) és granulocytákat (CD11b pozitív, de CD68 negatív sejtek), míg a limfotaktin és az IL-8 főként a granulocytákat és limfocytákat vonzott, de ez a két utóbbi nem volt arteriogén. Ez a tanulmány bizonyította, hogy a monocyták – nem pedig a granulocyták vagy T-limfocyták – az arteriogenesis fő mediátorai.

A kollaterális artériafejlődés terápiás növelése, stimulálása, klinikai szempontból különösen fontos. Az arteriogenesis stimulációjának különböző módjait írták le a femorális artériaokklúziós modellben. *Niels van Royen és mtsai* demonstrálták, hogy az exogén módon alkalmazott transzformáló növekedési faktor- β_1 (TGF- β_1) kemoattraktív a monocytákra és az artériafalban lévő sejteken proliferációt indukál, mely a Ki-67 proliferációs markerrel festődik 3 nap után [27]. A kettős festés Ki-67-tel és α -simaizom ellenanyaggal kimutatta, hogy a simaizomsejt-proliferáció sokkal nagyobb TGF- β_1 -kezelés után. Az angiogramok számos tipikusan dugóhúzóyszerű kollaterális artériát mutattak a növekedésifaktor-kezelést követően. A kollaterális vezetőképesség hétszeresére növekedett a PBS-kontrollhoz hasonlítva.

Csoportunk azt vizsgálta, hogy egy másik növekedési faktor, a granulocyta-makrofág kolónia stimuláló faktor (GM-CSF) – melyről ismert, hogy meghosszabbítja a monocyták életidejét – képes-e támogatni az arteriogenesis [28]. Ez a hipotézis logikusnak látszott, mivel a keringő monocyták a kis meglévő arteriolák pozitív újjászervezésének fontos mediátorai. A GM-CSF a klinikai gyakorlatban hematológiai és onkoló-



3. ábra A kollaterális artériák sematikus reprezentációja nyúl hátsó lábán a femorális artéria ligációja előtt (bal) és után (jobb)

giai betegségek kezelésére használatos. A GM-CSF ozmotikus minipumpából történő, 7 napig tartó folyamatos infúziója nyulakon femorális artériaokklúzió után növekedést eredményezett a posztmortem angiogramokon a kollaterális artériák számában és méretében, valamint megemelte a maximális véráramlást. Ha az MCP-1-et és a GM-CSF-et szimultán infundáltuk, a hatás additív volt, valamint a GM-CSF arra is képes volt, hogy megnyújtsa az MCP-1 hatásának időablakát.

Korábban kimutatták, hogy a monocyták adhéziója, aktivációja és transzmigrációja fontos szerepet játszik a kollaterális artériák növekedésében. A monocyták lokalizálják a kollaterális növekedés területét és arteriogén környezetet teremtenek számos növekedési faktor szekrécióján keresztül. *Herold és mtsai* monocyta-transzplantációt alkalmaztak nyúlön, femorális artériaokklúziós modellen, hogy megvizsgálják a transzplantált nyúlmonocyták terápiás potenciálját. Ezek a sejtek vagy *ex vivo* stimulálva voltak, vagy adenovírusal voltak átalakítva, hogy GM-CSF-et expresszáljanak [29]. A monocytákat intravenásan adták 24 órával vagy 7 nappal a femorális artéria ligációját követően. 7 nappal az okklúzió után meghatározták a kollaterális áramlást, és angiográfiát végeztek. Az allogén transzplantáció (azonos faj) az arteriogenesis jelentős előrehaladását eredményezte, valószínűleg helyi gyulladás indukciója és recipiens monocyták toborzása útján, míg az autológ sejtek (azonos állat) nem voltak képesek növelni a kollateralizációt. Ha az autológ monocytákat átalakították, hogy GM-CSF-et mint terápiás transzgént szállítsanak, a kollateralizáció jelentőssé vált.

Ugyanezt a módszert használták két vérelezésgátló anyag (a nem szelektív COX-inhibitor aszpirin és a nem kompetitív P2Y12 adenozin difoszfát receptor antagonistá klopido grel) kollaterális növekedésre gyakorolt hatásának vizsgálatára [30]. Egy héttel a femorális artéria okklúziója után sem az aszpirin, sem a klopido grel nem befolyásolta az angiográfiás megjelenést és a kollaterális artériák számát a nyulak hátsó lábában. Az *in vivo* sejt migráció szövettani vizsgálata kimutatta, hogy az aszpirinkezelés – valószínűleg a gyulladáscsökkentő hatáson keresztül – jelentősen csökkenti a fehérvérsejt-migrációt és proliferációt (CD68, CD11b és Ki-67 festés), míg a klopido grelnak a fizio lógiás sóoldattal kezelt állatokéhoz hasonló, semleges hatása volt.

Ezeknek az eredményeknek az alapján fontosnak látszik, hogy további klinikailag használt kardiovaszkuláris és immunrendszert befolyásoló terápiás anyagokat is megvizsgáljanak az arteriogenesisre gyakorolt hatás szempontjából.

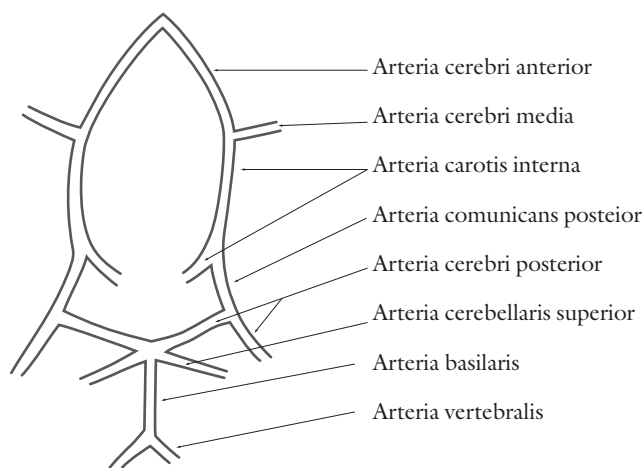
A hiperkoleszterinémia artériánövekedésre (arteriogenesis) gyakorolt hatását vizsgálták *Tirizu és mtsai* femorális artériaokklúziós modellen, egereken [31]. Az arteriogén válasz időzítésének késleltetése, de nem a nagyságának csökkenése volt detektálható a hiperkoleszterinémias egereken a törzsből és életkorban megegyező kontrollegerekhez viszonyítva. Ezenkívül a hiperkoleszterinémias egerek késleltetett és csökkentett arteriogén választ adtak a növekedésfaktor-terápiára (Ad-PR39). A késleltetett arteriogenesis korrelált az F4/80 + mononukleáris sejtek késleltetett szöveti megjelenésével. A szerzők azt a következtetést vonták le, hogy a hiperkoleszterinémia rontja mind a természetes arteriogenesis, mind pedig a növekedésfaktor-terápiára való válaszadó készséget.

Más közlemények a genetikai faktorok – mint amilyen az egértörzsek közti különbség – kollaterális növekedést befolyásoló hatásáról is beszámoltak femorális artéria okklúziós modellen.

Cerebrovascularis betegség

Az adaptív arteriogenesis jelenlétét a hipoperfúziós vagy ischaemiás patkányokban csak néhány évvel ezelőtt kezdték vizsgálni. Számos extra- és intracranialis kollaterális rendszer, mint amilyenek a Heubner-féle leptomeningeális anasztomózisok, vagy a szemarteria és a Willis-kör anasztomózis útjai (4. ábra), esélyt adnak a vérellátás javítására lassan progrediáló vascularis okklúzió esetén [32]. Bizonyított, hogy a cerebrovascularis rendszer hemodinamikai tartaléka inverz módon korrelál az agyi infarktus súlyosságával, mely a kollaterális keringés adaptációjának következménye. *Wei és mtsai* leírták, hogy Wistar-patkányok középagyi artéria (MCA) ágainak ligációja után a kollaterális artériák kitágulása figyelhető meg egy kraniális ablakon keresztül az ischaemiás széli zóna irányában fluoreszcens mikroangiográfiával. 30 nappal később az erek megduplázták átmérőjüket, megnövelték hosszúságukat, és tekervényesebb alakzatot vettek fel [33]. A fokális agyi ischaemia e modelljében az ipsilaterális agyféltekének egy nagy parieto-temporalis része válik ischaemiássá, melyet az MCA lát el vérrel. Ezen a területen a hypoxia nagyon rövid időn belül blokkolja a sejt funkciókat (energiametabolizmus, agyi proteinszintézis), és néhány órán vagy napon belül apoptosist és nekrotikus sejt pusztulást okoz [34, 35, 36]. Ennek a folyamatnak a következményeként a vascularis endothelialis válasz és a monocyta-funkció az ischaemiás területen gátlódik. Így a morfológiái és molekuláris arteriogenetikai változások tanulmányozására ez a modellrendszer nehezen használhatóknak tűnik.

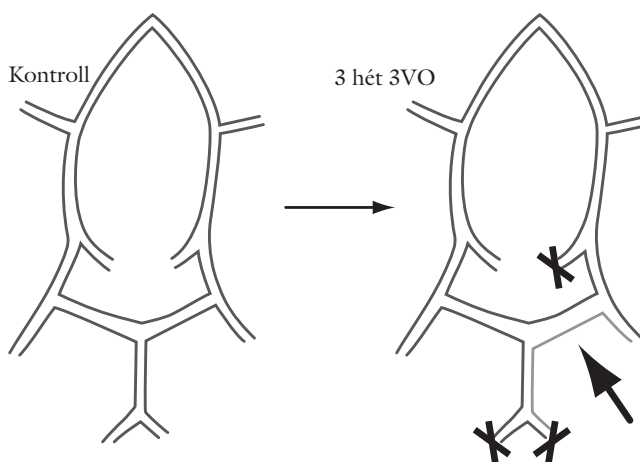
Éppen ezért munkacsoportunk egy új állapotmodellét fejlesztett ki a krónikus extracranialis okklúzió utáni agyi kollaterális növekedés tanulmányozására [37]. Féloldali arteria carotis communis okklúziót végeztünk vertebrális artéria elzárás kombinációjával, vagy anélkül. Ez kb. 50%-os csökkenést eredményezett.



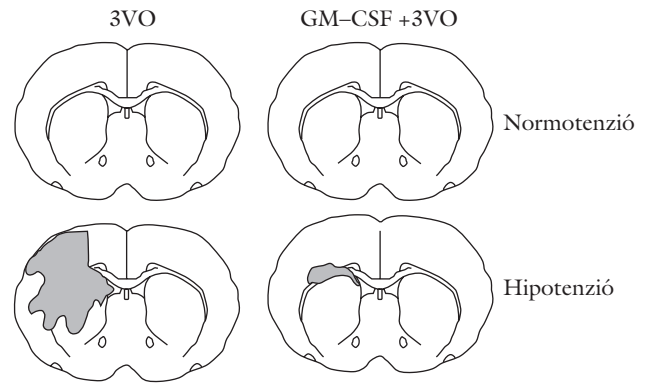
4. ábra A circulus arteriosus Willisii sematikus szerkezete rágcsálókön

nyezett a lézer-Doppler-áramlásmérővel mért azonos oldali véráramlásban a parietalis kortexben függetlenül a vertebralis artériák okklúziójától. Azonban az idő előrehaladtával a véráramlás csak a 3 ér lekötése (3VO) esetén (2 arteria vertebralis és 1 arteria carotis communis) maradt az 50%-os szinten, míg ha a vertebralis artériák nyitva voltak, a véráramlás néhány perccel belül visszatért a kontrollszintre. A 3VO morfológiai kimenetelét 3 nappal az okklúzió után értékeltük. A krezil-ibolya festés, a RhoB-immunhisztokémia és a TUNEL-festés (terminális deoxinukleotidil transzferáz mediálta 2'-deoxiuridin, 5'-trifoszfát-biotin végjelzés) nem mutatott ki semmilyen abnormalitást az agyszövetben, beleértve a hippocampalis CA1 régió nekrozisát. A 3VO tehát megfelelt a nem letális agyi hipoperfúziós modell elvárásainak, s így használható az agyi arteriogenesis tanulmányozására. A 3VO által indukált érnövekedést komplett vazoparalízist követő latex perfúzióval vizsgáltuk. Ez az erek anatómiai méretére vonatkozóan szolgáltatott információt. Az ipsilateralis arteria cerebri posterior (PCA) külső átmérője 39%-kal nőtt 1 héttel, és 72%-kal 3 héttel a 3VO után. Az arteria cerebri anterior (ACA) szintén megnagyobbodott 28%-kal 3 héttel az okklúzió után. Az immunhisztokémiai vizsgálatok kimutatták, hogy a proliferáció és monocyták akkumuláció ugyancsak megnövekedett az azonos oldali PCA területén. A 3VO hemodinamikai következményeit is teszteltük a véráramlás változásának mérésén keresztül 6% CO₂ belélegeztetését követően. Három héttel a 3VO után a véráramlás-csökkenés részlegesen visszatért mind az elzárt, mind pedig az ellenkező oldalra. Ez az eredmény azt mutatja, hogy az arteriogenesis jelentősen javította a csökkent perfúziójú agy hemodinamikai kapacitását.

További vizsgálatainkban a GM-CSF adaptív arteriogenesisre gyakorolt hatását vizsgáltuk az agyban [38]. A növekedési faktort 7, illetve 21 napig injektáltuk szubkután. A kezelés felgyorsította a PCA átmérőjének növekedését (39%-ról 72%-ra nőtt 1 hét alatt) (5. ábra), és az erek funkcionális visszatérése is jelentősen javult, melyet ez esetben is CO₂-reaktivitással mérünk. A CD68 makrofág festés láthatóvá tette, hogy a GM-CSF-fel kezelt állatokon nő az adventitialis makrofágok száma a fiziológiás sóoldattal kezelt kontrollokhoz viszonyítva.



5. ábra A circulus arteriosus Willisii morfológiájának megváltozása 3 ér lekötése (3VO) után patkányokon



6. ábra A regionális agyi véráramlás (rCBF) autoradiogramjának sematikus bemutatása coronalis metszeteken a caudatus-putamen szintjén 7 nappal a 3 érlekötés (3VO) után normotenzív és hipotenzív (hemodinamikai stroke) patkányokon. Szürke színű a károsodott terület

Hogy megtudjuk, van-e ennek a válaszreakciónak patofiziológiai relevanciája, a GM-CSF adaptív arteriogenesisre gyakorolt hatását hemodinamikai stroke modellen is megvizsgáltuk [39]. A patkányokat 3 ér lekötésének vetettük alá, és egy héttel később fokális agyi ischaemiát indukáltunk vérnyomáscsökkentéssel. Az agyi energiametabolizmust luciferin-luciferáz reakción alapuló biolumineszcens módszerrel mértük. A regionális agyi véráramlást iodo[¹⁴C] antipirin autoradiográfiával határoztuk meg koronális agyi metszeteken (6. ábra). 15 perces 20 Hgmm-es hemorrhagiás hipotenziót követően az ATP depléción jól körülírt területen volt detektálható az ipsilaterális, de nem a kontralaterális agyféltekében. A regionális agyi véráramlás (rCBF) autoradiogramok is láthatóvá tették a fokális károsodást a hippocampus és az arteria cerebri anterior által ellátott kortex kivételével minden területen (6. ábra). A GM-CSF-fel kezelt csoportban az ipsilaterális regionális károsodás területe drámaian kisebb volt, mely arra utal, hogy az érintett agyféltekében javult a kollateralizáció.

Egy nemrég megjelent közleményben Choy és mtsai kétoldali arteria carotis communis lekötést (BCCO) végeztek, hogy krónikus agyi hipoperfúziót indukáljanak újszülött és érett patkányokon [40]. Azt találták, hogy a CBF azonnal lecsökkent a BCCO után, ily módon oligémiás agyi perfúzióhoz vezetve. 6 hónappal az okklúzió után a CBF a kontrollértékre normalizálódott mind a felnőtt, mind az újszülött állatokon. A szerzők kanyarulatós basilaris artériát mutattak ki a felnőtt patkányokon a BCCO után intra- és extracranialis mágneses rezonancia képalkotás és India ink angiográfia segítségével. Az újszülött patkányokon az extracerebrális kollaterálisok száma volt több, mint a felnőtt állatokon. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a vascularis adaptációt meghatározza, hogy az egyed az infarktus bekövetkezésekor milyen életkorú volt.

Az arteriogenesis terápiás indukciója

Számos állatkísérlet demonstrálta, hogy a rosszul perfundált szöveti területek adaptív vascularisatioja exogén növekedési faktorokkal és kemokinekkal (egyebek között GM-CSF-fel,

1. táblázat Preklinikai vizsgálatok különböző külső faktorok arteriogenézisre gyakorolt hatásának tesztelésére

Faktor/sejt	Faj	Modell	Alkalmazás módja	Eredmény	Irodalom
GM-CSF MCP-1 GM-CSF+MCP-1	nyúl	HLI	lokális infúzió (minipumpa)	pozitív pozitív pozitív - additív	Buschmann és mtsai. 2001 (28)
GM-CSF	patkány	CVD	szubkután	pozitív	Schneeloch és mtsai., 2004 (39)
Monociták vagy GM-CSF átalakított monociták	nyúl	HLI	intravénás	Allogén pozitív, Autológ neutrális, GM-CSF-szállítás pozitív	Herold és mtsai., 2004 (29)
MCP-1	sertés	HLI	intraartériás	pozitív	Muhs és mtsai., 2004 (41)
MCP-1	nyúl	HLI	intravénás vagy intraartériás	pozitív	Hoefer és mtsai., 2004 (25)
MCP-1 IL-8 NAP-2 Lymphotactin	nyúl	HLI	lokális infúzió (minipumpa)	pozitív negatív negatív negatív	Hoefer és mtsai., 2005 (26)
bFGF	SHR	HLI	intraartériás	pozitív	Srivastava és mtsai., 2003 (42)
bFGF bFGF+VEGF	nyúl	HLI	intravénás intramuszkuláris	pozitív pozitív (nem additív)	Lebherz és mtsai., 2003 (43)
VEGF	sertés	MI	miokardiumba	pozitív	Deng és mtsai., 2005 (44)
VEGF	nyúl	HLI	intraartériás	pozitív	Jiang és mtsai., 2005 (45)
VEGF	patkány	CVD	intravénás	pozitív	Zhang és mtsai., 2000 (46)
CD151	patkány	HLI	intramuszkuláris	pozitív	Lan és mtsai., 2005 (47)
HSP90 cDNA	nyúl	HLI	intravénás infúzió	pozitív	Pfösser és mtsai., 2005 (48)
PD-ECGF	kutya	MI	miokardiumba	pozitív	Li és mtsai., 2005 (49)
NGF	egér	HLI	intramuszkuláris	pozitív	Salis és mtsai., 2004 (50)
TGF-β1	nyúl	HLI	lokális infúzió (minipumpa)	pozitív	Van Royen és mtsai., 2002 (27)

MI: miokardiális infarktus, HLI: hátsóláb ischaemia, CVD: cerebrovascularis betegség, SHR: spontán hipertenzív patkány, VEGF: vascularis endotheliális növekedési faktor, HSP90: hőszokk protein 90, MCP-1: monocita kemoattraktív protein-1, PD-ECGF: platelet-eredetű endothel sejt növekedési faktor, NGF: idegi növekedési faktor, GM-CSF: granulocita-makrofág kolónia stimuláló faktor, TGF-β1: transzformáló növekedési faktor β1, IL-8: interleukin-8, NAP-2: neutofil aktiváló protein-2, bFGF: alap fibroblaszt növekedési faktor.

bFGF-fel, VEGF-fel vagy MCP-1-gyel) fokozható (1. táblázat). A szerzők több különféle szisztémás és lokális adagolási módot leírnak, pl. intravénás, intramuscularis vagy intramyocardialis alkalmazást. Mind az egyszeri dózisu kezelés, mind a krónikus infúzió (ozmotikus minipumpán keresztül) hatásosnak bizonyult különböző betegségmodellekben. E kezelések terápiás potenciáljának analízise általában multiparametrikus. A myocardialis modellben a szívfunkciót balkamrafunkció- és EKG-regisztrációval mérik. A morfológiát és a vazoarchitektúrát (kapilláris és arteriola-denzitás, -méret) *in vivo* mágneses rezonancia képalkotással, mikro-CT-vel vagy különböző angiográfiás eljárásokkal teszik láthatóvá. A coronaria véráramlásának mérése, a myocardialis vagy kollaterális függő és független szöveti perfúzió és a kollaterális vezetőképesség szintén széles körben használt módszerek, melyek nagyon jellemző markereket szolgáltatnak a már meglévő kollaterális artériák

fejlődésére vonatkozóan. A kollaterális artériák sejtstruktúrájának immunhisztokémiával, *in situ* hibridizációval vagy szövettannal történő *ex vivo* értékelése, és a molekuláris analízis genomikus vagy proteomikus megközelítéssel különböző sejttípusok szerepét tárta fel, és lehetővé tette az arteriogenetikai folyamat hátterében álló molekuláris mechanizmusok tanulmányozását.

Számos exogén növekedési faktor és citokin (VEGF, FGF-1,2,4; GM-CSF) került klinikai alkalmazásra az arteriogenesis stimulálására és a klaudikáció, az angina pectoris, vagy az ischaemiás stroke rizikójának csökkentésére. A vizsgálatok egy része negatív eredményt hozott, míg más esetekben javulást tapasztaltak a vascularis kompenzációban CHD és PAD betegekben. A sejtalapú klinikai vizsgálatok, melyek perifériás vér össejtet, csontvelő össejtet vagy progenitor sejtet alkalmaztak, sikeresebbek voltak.

A preklinikai és klinikai vizsgálatok eredményeit figyelembe véve, a kollaterális artériák növekedésének indukálása reményteljes lehet a krónikus artériabetegségekben szenvedők, illetve az erre veszélyeztetett populáció számára. A stimuláló faktorok, illetve sejtek alkalmazásának módja, időtartama és fajtájának kiválasztása még további, részletekbe menő vizsgálatokat igényel.

Irodalom

- [1] Buschmann, I., Schaper, W.: Arteriogenesis Versus Angiogenesis: Two Mechanisms of Vessel Growth. *News Physiol. Sci.*, 1999, 14, 121–125.
- [2] Schaper, W. és Buschmann, I.: Arteriogenesis, the good and bad of it. *Cardiovasc. Res.*, 1999, 43, 835–837.
- [3] Frye, R. L., Gura, G. M., Chesebro, J. H. és mtsai: Complete occlusion of the left main coronary artery and the importance of coronary collateral circulation. *Mayo Clin. Proc.*, 1977, 52, 742–745.
- [4] Ward, D. E., Valantine, H. és Hui, W.: Occluded left main stem coronary artery. Report of five patients and review of published reports. *Br. Heart Journal*, 1983, 49, 276–279.
- [5] Heil, M., Schaper, W.: Influence of mechanical, cellular, and molecular factors on collateral artery growth (arteriogenesis). *Circ. Res.*, 2004, 95, 449–458.
- [6] Asahara, T., Murohara, T., Sullivan, A. és mtsai: Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997, 275, 964–967.
- [7] Orlic, D., Kajstura, J., Chimenti, S., Limana, F. és mtsai: Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, 10344–10349.
- [8] Shi, Q., Rafii, S., Wu, M. H. és mtsai: Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*, 1998, 92, 362–367.
- [9] Kalka, C., Masuda, H., Takahashi, T. és mtsai: Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 3422–3427.
- [10] Orlic, D., Kajstura, J., Chimenti, S. és mtsai: Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2001, 938, 221–229.
- [11] Wolf, C., Cai, W. J., Vosschulte, R. és mtsai: Vascular remodeling and altered protein expression during growth of coronary collateral arteries. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1998, 30, 2291–2305.
- [12] Schaper, W., Piek, J. J., Munoz-Chapuli, R. és mtsai: In Angiogenesis and Cardiovascular Disease. Szerk.: Ware, J. A. és Simons, M. Oxford University Press, New York, 159–198.
- [13] Matsunaga, T., Warltier, D. C., Weibrauch, D. W. és mtsai: Ischemia-induced coronary collateral growth is dependent on vascular endothelial growth factor and nitric oxide. *Circulation*, 2000, 102, 3098–3103.
- [14] Weibrauch, D., Tessmer, J., Warltier, D. C. és mtsai: Repetitive coronary artery occlusions induce release of growth factors into the myocardial interstitium. *Am. J. Physiol.*, 1998, 275, (3 Pt 2) H969–976.
- [15] Lamping, K. G., Zheng, W., Xing, D. és mtsai: Bradycardia stimulates vascular growth during gradual coronary occlusion. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, 25, 2122–2127.
- [16] White, F. C., Bloor, C. M., McKirnan, M. D. és mtsai: Exercise training in swine promotes growth of arteriolar bed and capillary angiogenesis in heart. *J. Appl. Physiol.*, 1998, 85, 1160–1168.
- [17] White, F. C., Carroll, S. M., Magnet, A. és mtsai: Coronary collateral development in swine after coronary artery occlusion. *Circ. Res.*, 1992, 71, 1490–1500.
- [18] Toyota, E., Warltier, D. C., Brock, T. és mtsai: Vascular endothelial growth factor is required for coronary collateral growth in the rat. *Circulation*, 2005, 112, 2108–2113.
- [19] Boodhwani, M., Nakai, Y., Mieno, S. és mtsai: Hypercholesterolemia impairs the myocardial angiogenic response in a swine model of chronic ischemia: role of endostatin and oxidative stress. *Ann. Thorac. Surg.*, 2006, 81, 634–642.
- [20] Kamihata, H., Matsubara, H., Nishiue, T. és mtsai: Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via sides supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation*, 2001, 104, 1046–1052.
- [21] Waksman, R. és Baffour, R.: Bone marrow and bone marrow derived mononuclear stem cells therapy for the chronically ischemic myocardium. *Cardiovasc. Radiation Medicine*, 2003, 4, 164–168.
- [22] Scholz, D., Ito, W., Flweming, I. és mtsai: Ultrastructure and molecular histology of rabbit hind-limb collateral artery growth (arteriogenesis). *Virchows Arch.*, 2000, 436, 257–270.
- [23] Hershey, J. C., Baskin, E. P., Glass, J. D. és mtsai: Revascularization in the rabbit hindlimb: dissociation between capillary sprouting and arteriogenesis. *Cardiovasc. Res.*, 2001, 49, 618–625.
- [24] Grundmann, S., Hoefler, I., Ulusans, S. és mtsai: Anti-tumor necrosis factor- α therapies attenuate adaptive arteriogenesis in the rabbit. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2005, 289, H1497–H1505.
- [25] Hoefler, I. E., van Royen, N., Rectenwald, J. E. és mtsai: Arteriogenesis proceeds via ICAM-1/Mac-1-mediated mechanisms. *Circ. Res.*, 2004, 94, 1179–1185.
- [26] Hoefler, I. E., Grundmann, S., van Royen, N. és mtsai: Leukocyte subpopulations and arteriogenesis: specific role of monocytes, lymphocytes and granulocytes. *Atherosclerosis*, 2005, 181, 285–293.
- [27] van Royen, N., Hoefler, I., Buschmann, I. és mtsai: Exogenous application of transforming growth factor beta 1 stimulates arteriogenesis in the peripheral circulation. *FASEB*, 2002, 16, 432–434.
- [28] Buschmann, I. R., Hoefler, I. E., van Royen, N. és mtsai: GM-CSF: a strong arteriogenic factor acting by amplification of monocyte function. *Atherosclerosis*, 2001, 159, 343–356.
- [29] Herold, J., Pipp, F., Fernandez, B. és mtsai: Transplantation of monocytes: a novel strategy for in vivo augmentation of collateral vessel growth. *Human Gene Therapy*, 2004, 15, 1–12.
- [30] Hoefler, I. E., Grundmann, S., Schirmer, S. és mtsai: Aspirin, but not clopidogrel, reduces collateral conductance in a rabbit model of femoral artery occlusion. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2005, 46, 994–1001.
- [31] Tirziu, D., Moodie, K. L., Zhuang, Z. W. és mtsai: Delayed arteriogenesis in hypercholesterolemic mice. *Circulation*, 2005, 112, 2501–2509.
- [32] Hossmann, K. A.: Collateral circulation of the brain. In *Collateral Circulation*. Szerk.: Schaper, W. és Schaper, J. Kluwer Academic Publisher, Amsterdam, 1993, 291–315.
- [33] Wei, L., Erinjeri, J. P., Rovainen, C. M. és mtsai: Collateral growth and angiogenesis around cortical stroke. *Stroke*, 2001, 32, 2179–2184.
- [34] Erdő F., Trapp, T., Mies, G. és mtsai: Immunohistochemical analysis of protein expression after middle cerebral artery occlusion in mice. *Acta Neuropathol.*, 2004, 107, 127–136.
- [35] Hata, R., Maeda, K., Hermann, D. és mtsai: Dynamics of regional brain metabolism and gene expression after middle cerebral artery occlusion in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2000, 20, 306–315.

- [36] Mies, G., Ishimaru, S., Xie, Y. és mtsai: Ischemic thresholds of cerebral protein synthesis and energy state following middle cerebral artery occlusion in rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1991, 11, 753–761.
- [37] Busch, H. J., Buschmann, I. R., Mies, G. és mtsai: Arteriogenesis in hypoperfused rat brain. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.*, 2003, 23, 621–628.
- [38] Buschmann, I. R., Busch, H. J., Mies, G. és mtsai: Therapeutic induction of arteriogenesis in hypoperfused rat brain via granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Circulation*, 2003, 108, 610–615.
- [39] Schneeloch, E., Mies, G., Busch, H. J. és mtsai: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced arteriogenesis reduces energy failure in hemodynamic stroke. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101, 12730–12735.
- [40] Choy, M., Ganesan, V., Thomas, D. L. és mtsai: The chronic vascular and haemodynamic response after permanent bilateral common carotid occlusion in newborn and adult rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2006, 26, 1066–1075.
- [41] Muhs, A., Lenter, M. C., Seidler, R. W. és mtsai: Nonviral monocyte chemoattractant protein-1 gene transfer improves arteriogenesis after femoral artery occlusion. *Gene Ther.*, 2004, 11, 1685–1693.
- [42] Srivastava, S., Terjung, R. L. és Yang, H. T.: Basic fibroblast growth factor increases collateral blood flow in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2003, 285, H1190–1197.
- [43] Leberer, C., von Degenfeld, G., Karl, A. és mtsai: Therapeutic angiogenesis/arteriogenesis in the chronic ischemic rabbit hindlimb: effect of venous basic fibroblast growth factor retroinfusion. *Endothelium*, 2003, 10, 257–265.
- [44] Deng, X. L., Wu, X. B., Jiang, J. és mtsai: Recombinant adenovirus-associated viral vector 2-mediated gene transfer of VEGF165 improved porcine chronic myocardial ischemia. *Zonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2005, 33, 732–737.
- [45] Jiang, H., Zhang, T. és Sun, X.: Vascular endothelial growth factor gene delivery by magnetic DNA nanospheres ameliorates limb ischemia in rabbits. *J. Surg. Res.*, 2005, 126, 48–54.
- [46] Zhang, Z. G., Zhang, L., Jiang, Q. és mtsai: VEGF enhances angiogenesis and promotes blood brain barrier leakage in the ischemic brain. *J. Clin. Invest.*, 2000, 106, 829–838.
- [47] Lan, R. F., Liu, Z. X., Liu, X. C. és mtsai: CD151 promotes neovascularization and improves blood perfusion in a rat hind-limb ischemia model. *J. Endovasc. Ther.*, 2005, 12, 469–478.
- [48] Pfosser, A., Thalgott, M., Buttner, K. és mtsai: Liposomal Hsp90 cDNA induces neovascularization via nitric oxide in chronic ischemia. *Cardiovasc. Res.*, 2005, 65, 728–736.
- [49] Li, W., Tanaka, K., Ihaya, A. és mtsai: Gene therapy for chronic myocardial ischemia using platelet-derived endothelial cell growth factor in dogs. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2005, 288, H408–415.
- [50] Salis, M. B., Graiani, G., Desortes E. és mtsai: Nerve growth factor supplementation reverses the impairment, induced by Type 1 diabetes, of hindlimb posts ischemic recovery in mice. *Diabetologia*, 2004, 47, 1055–1063.

(Erdő Franciska dr.,
Budapest, Kinizsi u. 35., 1092
e-mail: erdof2002@yahoo.de)

Tisztelt Olvasónk!

Köszönjük, hogy figyelemmel kísérte
2006-ban az **Orvosi Hetilap** hasábjain megjelent dolgozatokat, referátumokat.
Reméljük, hogy továbbra is olvasóink táborában tudhatjuk.

Az előfizetési díj egy évre: 21 900 Ft
Nyugdíjasok, diákok éves előfizetési díja: 15 330 Ft
Egyes lapszámok ára: 726 Ft

Az Orvosi Hetilap az alábbi elérhetőségeken rendelhető meg:

Akadémiai Kiadó Zrt.

1117 Budapest, Prielle Kornélia u. 19.

Telefon: (06-1) 464-8240, Kapcsolattartó: Gulyás Andrea

E-mail: journals@akkrt.hu