

AZ ARTERIOLÁK REAKTIVITÁS VÁLTOZÁSA PATKÁNY POLICISZTÁS PETEFÉSZEK MODELLBEN - A PÁRHUZAMOS D₃-VITAMIN KEZELÉS HATÁSAI

PhD Tézisek

Dr. Sára Levente

Semmelweis Egyetem
Élméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Várbíró Szabolcs PhD

Hivatalos bírálók:

Dr. Szabó Attila PhD, Dsc

Dr. Alföldi Sándor PhD

A doktori szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Rigó János Jr. PhD, Dsc

A doktori szigorlati bizottság tagjai:

Prof. László Ádám PhD, med.habil.

Dr. Studinger Péter PhD

Budapest 2012.

BEVEZETÉS

A policisztás petefészek-szindróma (PCO) a nők leggyakoribb endokrin betegsége, világszerte a fertilis korú nők 4-10%-át érinti. Bár egyes vizsgálatok genetikai összefüggést találtak a PCO és inzulin rezisztencia között, a betegség kóreredete mindmáig ismeretlen. Környezeti tényezőknek, mint a fizikai inaktivitás, táplálkozási szokások és elhízás kiemelkedő szerepe lehet a PCO kialakulásában. A legjellemzőbb tüneteket, eltéréseket a Rotterdam-konszenzus foglalta össze: menstruációs zavarok (amenorrhoea), oligo- vagy anovuláció, ultrahanggal igazolt policisztás, megnagyobbodott petefészkek, androgén többlet klinikai vagy laboratóriumi jelei. A PCO több különböző fenotípusa ismert, ahol az egyes tünetek megjelenése és súlyossága is változatos formákat ölthet. Gyakran társul hozzá inzulinrezisztencia, elhízás, acné, hirsutizmus, valamint kardiovaszkuláris eltérések. Annak ellenére, hogy a PCO-szindrómás betegek komoly kardiovaszkuláris kockázattal rendelkeznek, a kardiovaszkuláris események számának emelkedése vitatott. A PCO kardiovaszkuláris hatásai és azok terápiás lehetőségei intenzív kutatás tárgyát képezik napjainkban. Úgy tűnik, hogy az inzulinrezisztencia és az elhízás ebben központi szerepet játszhatnak, de mind a mai napig kevés információ áll rendelkezésre a PCO és annak kardiovaszkuláris hatásaival kapcsolatban. A fokozott kardiovaszkuláris kockázat hátterében a PCO-szindrómát kiváltó hiperandrogén állapot és inzulinrezisztencia öngerjesztő köre állhat.

VASZKULÁRIS ELTÉRÉSEK PCO SZINDRÓMÁBAN

PCO-szindrómában ultrahangos vizsgálatok során emelkedett artériás ellenállást és megnövekedett pulzushullám sebességet észleltek. A pontos etiológia tisztázatlan, de az endotél károsodása és az erek falának megváltozott kollagén összetétele feltételezhető. Inzulinrezisztenciában és metabolikus szindrómában hasonló vaszkuláris eltéréseket írtak le. Humán ultrahangos vizsgálatokban mind kis- mind nagyerekben csökkent endotélfüggő relaxációt tapasztaltak Ach adás kapcsán. Ez a csökkent Ach hatás hasonló a nem-inzulinfüggő diabéteszben tapasztaltakhoz, melynek lehetséges oka a fennálló inzulinrezisztencia lehet. Az inzulin direkt értágító hatása ismert. Ennek pontos mechanizmusa még nem tisztázott minden részletében. Valószínű, hogy NO és Na-K-ATP-áz mechanizmuson keresztül fejti ki hatását, bár korábban kimutattak egy EDRF/

NO és prosztanoid független direkt értágító mechanizmust is. Az inzulin a simaizomban cGMP mechanizmuson keresztül Ca felszabadulást idéz elő, és ezzel szintén értágító hatást fejt ki. Igazolást nyert az is, hogy azok a PCO-szindrómás nők, akik carotis interna pulzatilitás indexe csökkent, nagyobb kardiovaszkuláris rizikóval rendelkeznek. Ezen felül a PCO-szindrómás, fertilis korú nőknél gyakrabban alakul ki inzulinrezisztencia, metabolikus szindróma, korai ateroszklerózis, valamint hipertónia. Ezek a kóros elváltozások részben magyarázhatóak a rezisztencia erek farmakológiai és biomechanikai remodellingjével. A carotis erek intima-média vastagsága nagyobb, a koronária erek kalcifikációja fokozottabb PCO-szindrómás betegekben, mint a korban és testtömegben illesztett kontrollokban. Az ateroszklerózishoz vezető út első lépése az endotél kárpsodása. A PCO-szindrómában tapasztalható vaszkuláris eltérések pontos molekuláris lépései még nem tisztázottak. A felhalmozódó reaktív szabad oxigén- és nitrogén-gyökök kóros lipid-peroxidációhoz vezethetnek a sejtmembránban. A NADPH-oxidáz-stimuláció és a kóros mitokondriális oxidatív foszforiláció károsíthatja az NO-szintézist az endotélben. Ezek a folyamatok együttesen vezethetnek a PCO-szindrómában tapasztalt funkcionális érkárosodásokhoz.

A D-VITAMIN LEHETSÉGES SZEREPE PCO SZINDRÓMÁBAN

A D-vitamin szteránvázas hormon, melyet a szervezet nem képes szintetizálni, így az de novo képződik a bőrben. PCO-szindrómás betegek 72%-ában mutattak ki D-vitaminhiányt. A gyakran társuló elhízás és metabolikus eltérések csak fokozzák ezt az arányt. Metabolikus szindrómában szenvedő betegekben szignifikánsan alacsonyabb D-vitamin szinteket igazoltak. A gyermekkori D-vitamin pótlás egyebek mellett hasznos prevenciónak bizonyult inzulindependens diabétesz kialakulásával szemben is. D-vitamin-hiányos patkány modellekben emelkedett vérnyomás értékek mellett az erek simaizom és endotél funkciójának kóros elváltozásait is leírták. Ennek megfelelően humán vizsgálatokban az erek ellenállásának növekedését és endotél diszfunkciót igazoltak D-vitamin-hiánnyal összefüggésben. Számos tanulmány mutat rá a D-vitaminhiány tenziót emelő hatására, és a hipertónia kialakulásában játszott szerepére. Bár a D-vitamin adjuváns szerepe a PCO kezelésében egyre többször felmerül, a pontos terápiás hatékonysága még csak most körvonalazódik. Ugyancsak kérdéses a D-vitamin szerepe a szénhidrát anyagcserében annak ellenére, hogy több tanulmány igazolta az összefüggést a D-vitamin-hiány és az inzulinrezisztencia között.

CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálatunk során egy ismert PCO-s állatmodell módosításával 70 napos dihidrotesztoszteron(DHT)-kezelés metabolikus és kiserekre gyakorolt hatásait kerestük. Célul tűztük ki, hogy a DHT-kezelés okozta legkorábbi elváltozásokat vizsgáljuk, a szisztémás szénhidrát anyagcsrében kialakult változásokkal együtt. Párhuzamosan ezzel, vizsgáltuk az alacsony-dózisú D-vitamin kezelés esetleges jótékony hatását is. A kiserekben PCO-szindrómában fellépő farmakológiai és mechanikai változások tanulmányozására egy jól preparálható, morfológiailag egységes vázizomeret választottunk, a gracilis izmot ellátó arteriolát. Ugyancsak elemeztük a D-vitamin kezelés hatását a gracilis erek biomechanikai adaptációjára és farmakológiai válaszkészségére. Kiváncsiak voltunk továbbá arra is, hogy a DHT kezelés mennyiben befolyásolja az inzulin direkt értágító hatását a kiserek szintjén, illetve hogy a D-vitamin preventív adagolásának van-e hatása ezekre a folyamatokra.

MÓDSZEREK

Állatok. Harminc juvenilis (21 és 28 napos), 100-140 gramm súlyú nőstény Wistar patkányt választottunk a vizsgálatra. Húsz állatnál DHT-adagolót ültettünk be a nyaki bőr alá narkózisban (nembutal 45mg/tskg i.p.), steril körülmények között (DHT csoport). Az adagolók 7,5 mg DHT-t tartalmaztak és napi 83 mikrogramm/ 100 tsg dózis kibocsátására voltak hitelesítve. A maradék tíz állat álműtéten esett át. Tíz DHT-kezelt állat heti adagolásban 120 nanogrammm/100 tsg dózisban 1,25 (OH)₂ D₃-vitamint kapott s.c.(DHT+D3 csoport). A többi 20 állat csak vivőanyagot kapott. A vizsgálat mindenben megfelelt a vonatkozó hazai és nemzetközi előírásoknak, és az egyetemi etikai bizottság engedélyével rendelkezett (Eng.szám: 22.1/2960/003/2009).

Cukor terhelés (OGTT). Nyolc hét DHT kezelést követően orális glükóz terheléses tesztet végeztünk rövid éter narkózisban. A szérum éhomi, és 0,3 gramm / 100 tsg glükóz orális beadását követően a 120 perces glükóz- és inzulinszinteket mértük.

In vivo vérnyomásmérés. Tíz hét DHT kezelést követően a carotis artériák kanülálását követően Statham transzdúcer (Cardiosys CO-104 rendszer, Experimetria, Budapest,

Hungary) segítségével direkt vérnyomásmérést végeztünk az altatott állatoknál (nembutal 45mg /tskg i.m.).

Biomechanikai vizsgálatok, mikroangiometria. Az állatok kivéreztetése után megnyitottuk az iliofemorális régiót, és a gracilis izmot ellátó kb. 150 mikrométer átmérőjű arteriolát kipreparáltuk, és egy Krebs-Ringer oldatot tartalmazó speciális kádba helyeztük. Az érnek mindkét végét kanüláltuk és az eret élettani hosszúságára nyújtottuk. Minkét kanült egy nyomás-szervó pumpához csatlakoztattuk, majd az eret áramlásmentes környezetben 50 Hgmm intraluminális nyomás mellett inkubáltuk. Az arteriola külső és belső átmérőjét videomikroszkóppal ellátott mikroangiometriás vizsgálórendszerrel rögzítettük. Ennek során az eret tartalmazó üvegfenekű kádat egy inverz Leica mikroszkóphoz rögzítettük. A nagyított képet egy videokamera továbbította a számítógépes állomásra, ahol egy erre a célra kifejlesztett QWin Leica szoftver alkalmazásával mértünk és dolgoztuk fel a felvételeket. A harminc perces inkubációt követően az intraluminális nyomást 10 Hgmm-re csökkentettük, majd 10 Hgmm-es lépésenként növeltük a nyomást egészen 100 Hgmm-ig. Minden egyes lépcsőnél az egyensúlyi állapot beálltát követően történt a felvétel és a mérés. Hasonló nyomáslépcsőt végeztünk noradrenalin (10^{-6} M) adását és tíz perces inkubációt követően. Ezt követően kimosás nélkül inzulint adtunk 30, 60, 120, 240 és 600 IU/ml koncentrációban. 8-10 perces inkubációs periódus után kialakult az egyensúlyi állapot, melyben megmértük az érátmérőket minden egyes inzulin dózisonál külön-külön. Kimosást követően ismételten noradrenalint adtunk a szervfürdőhöz hasonló dózisban, mint korábban, és a nyomáslépcsőket megismételtük. A továbbiakban 50 Hgmm-en kimosás nélkül 10^{-6} M Ach-t adtunk, és az eret húsz percig inkubáltuk, majd a külső és belső átmérőket rögzítettük. Ezt követően hasonló nyomáson, szintén kimosás nélkül 10^{-5} M L-NAME-t adtunk a szervfürdőbe, majd 25-30 perces inkubációs periódus után ismételten rögzítettük az érátmérőket. Végezetül Ca-mentes oldatban húsz perces inkubációt követően a teljesen relaxált érátmérőket mértük a korábban már ismertetett nyomáslépcső segítségével. A mérések kalibrálására Wild-féle mikrométer etalont alkalmaztunk.

Szövettan. Formaldehydben fixált és hematoxilín-eozinnal festett petefészek metszeteket vizsgáltunk a PCO-szindróma kialakulásának ellenőrzésére. A morfológiai elemzést Panoramic Viewer szoftverrel végeztük (3DHISTECH Ltd., Budapest.)

Statisztikai analízis. A statisztikai elemzés során repeated-measures ANOVA módszert használtunk. Az intraluminális nyomás függvényében hasonlítottuk össze az egyes csoportok görbéit. A diszkrét paraméterek kiértékelésére egyutas ANOVA-t (pl.: vérnyomás) a cukorterhelés során mért glükóz és inzulin értékek összehasonlítására kétutas ANOVA-t használtunk. Post hoc Tuckey tesztet alkalmaztunk. $P < 0,05$ értéket fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

Élettani paraméterek. Az átlag artériás vérnyomások 122 ± 3 Hgmm, 123 ± 6 Hgmm and 123 ± 4 Hgmm voltak a kontroll, a DHT és a DHT+D3 csoportokban. Ezek az értékek nem különböztek egymástól szignifikánsan. A vizsgálat végén elért átlag testsúly a csoportokban 298 ± 8 , 354 ± 16 and 353 ± 9 gramm. A DHT-kezelt csoportok testsúlya szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollé, de egymástól nem különböztek.

Petefészek morfológia. PCO-szindrómára jellemző elváltozásokat tapasztaltunk a DHT-kezelt csoportokban és normál morfológiát a kontroll csoportban. A folliculus átmérők szignifikánsan kisebbek voltak a csak DHT-kezelt csoportban, mint a kontrollban (1609 ± 617 és 2334 ± 451 pixel 40-szeres nagyításnál, $p < 0,05$). A DHT+D3 csoport folliculusméretei nem különböztek a másik két csoportéitól (2054 ± 442).

Szénhidrát anyagcsere. A szérum glükózsintek és az éhomi inzulinsintek nem különböztek egymástól a három vizsgált csoportban. Különbséget találtunk azonban a cukorterhelést követő 120 perces szérum inzulin értékek között (0.71 ± 0.14 , 1.42 ± 0.33 , 0.48 ± 0.07 ng/ml a kontroll, DHT és DHT+D3 csoportokban). A csak DHT-kezelt állatok szérum inzulin értékei kétszer magasabbak voltak, mint a másik két csoportban mért értékek. D-vitamin kezelés mellett ez az eltérés nem mutatkozott ($p < 0,001$). Az éhomi és 120 perces értékek között szignifikáns eltérés csak a DHT-kezelt csoportban volt mérhető ($p < 0,001$). A szérum fruktózamin értékek mindhárom csoportban normál

tartományban voltak, mely azt jelzi, hogy diabétesz vagy csökkent glükóz tolerancia kialakulásával nem kellett számolnunk.

Arteriola morfológia. A Ca mentes oldatban relaxált gracilis erek átlag külső átmérői a következők voltak: 167 ± 13 μm (kontroll), 193 ± 6 μm (DHT) és 166 ± 10 μm (DHT+D₃). Az átlag belső átmérők a következőképpen változtak: 96 ± 3 μm (DHT), 84 ± 6 μm (kontroll), 83 ± 5 μm (DHT+D₃). A DHT kezelés önmagában mind a külső, mind a belső átmérőt növelte. E hatás párhuzamosan adagolt D-vitamin mellett nem jelentkezett ($p < 0,05$). A falvastagság a három csoportban nem különbözött (20 ± 2 , 19 ± 1 és 20 ± 1 μm a kontrollban, DHT és DHT+D₃ csoportban). Az érkeresztmetszeti felületek szintén nem mutattak szignifikáns különbséget (12080 ± 1627 , 12542 ± 1090 és 11348 ± 660 μm^2).

Arteriola elaszticitás. Az erek falára nehezedő mechanikai terhelést mérve azt találtuk, hogy Ca mentes oldatban és noradrenalin aktiváció mellett is a tangencionális stressz a teljes nyomástartományra vetítve magasabb volt a DHT, mint a másik két csoportban ($p < 0,05$). A D-vitamin kezelés részlegesen kivédte ezt a hatást noradrenalin aktiváció mellett, és egyfajta túlkompenzáció jelentkezett Ca mentes relaxáció hatására (DHT és DHT+D₃, illetve kontroll és DHT+D₃, $p < 0,05$). Az inkrementális disztenzibilitás a DHT csoportban a teljes nyomástartományban szignifikánsan magasabb volt mind Ca mentes közegben, mind noradrenalinos kontrakciót követően ($p < 0,05$). D-vitamin-adagolás mellett Ca mentes oldatban a disztenzibilitás a kontroll szintjére rendeződött, habár noradrenalin kontrakciót követően ez a hatás csak részlegesen érvényesült. Az elasztikus modulust nem változtatta sem a DHT sem a DHT+D-vitamin-kezelés (2.8 ± 0.14 , 2.7 ± 0.16 and 2.4 ± 0.11 log(Pa) a kontrollban, DHT és DHT+D₃ csoportokban, ns.). Nem igazolódott különbség akkor sem, amikor az elasztikus modulust a tangencionális stressz függvényében ábrázoltuk.

Arteriola kontraktilitás. A DHT-kezelés szignifikánsan csökkentette az noradrenalin tónust, melyet D-vitamin adagolása majdnem teljesen rendezett ($p < 0.01$ kontroll vs. DHT, $p < 0,05$ az egyéb csoportok között). A vizsgált érszegmentumok rendelkeztek spontán(miogén) tónussal, melyet szintén csökkentett a DHT kezelés, de ebben az esetben a D-vitamin-kezelés ezt tovább csökkentette ($p < 0,01$ kontroll és a másik két csoport vonatkozásában, $p < 0,05$ DHT vs. DHT+D₃). A két említett tónus összege, mely

jellemzi a szegmentum teljes összehúzódnási képességét, azaz a teljes farmakológiai adaptációs képességet, szignifikánsan csökkent DHT-kezelést követően. Ezt a csökkenést a D-vitamin csak részben volt képes kompenzálni ($p < 0,01$ kontroll vs DHT, $p < 0,05$ DHT vs DHT+D3).

Endotél függő relaxáció. A noradrenalinral kontrakcióba hozott szegmentumok relaxációját idéztük elő $1 \mu\text{M}$ Ach adásával. Ez a dilatációs hatás a kontroll csoportban szignifikánsan nagyobb volt, mint a másik két csoportban. Az Ach hatás gyakorlatilag teljesen hiányzott a DHT-kezelt csoportokban, és ezt az eltérést lényegében a D-vitamin-adagolás sem befolyásolta, csupán egy nem szignifikáns kompenzációs trend volt tapasztalható ($p < 0,05$). L-NAME hatására a kontroll erek kontrakciója volt tapasztalható, mely teljesen kiesett a DHT-kezelt csoportokban.

A gracilis arteriolák inzulinfüggő vaszkuláris relaxációja. A noradrenalinral előkezelt kontroll gracilis ereknél koncentrációtól függő relaxációt tapasztaltunk inzulin hatására. Ez a relaxációs hatás jelentősen csökkent a csak DHT-kezelt csoportban ($p < 0,001$). D-vitamin-kezelés ezt a csökkenést részben kompenzálta ($p < 0,001$). Egy másik érdekes különbséget is tapasztaltunk az emelkedő dózisu inzulinkezelést megelőző és az azt követő noradrenalin adás által kiváltott kontrakcióban. Jellemzően az inzulinadást követő noradrenalin kiváltotta kontrakció fokozottabb volt, mint az azt megelőző. Ez a kontrakcióban jelentkező különbség csökkent D-vitamin kezelés hatására ($p < 0,05$).

MEGBESZÉLÉS

A nőstény patkányoknál juvenilis korban indított tíz hetes DHT kezelés, mint PCO-szindróma-állatmodell, szignifikáns metabolikus és vaszkuláris eltéréseket okozott. Szisztémás inzulinrezisztencia a glükóz anyagcsere zavara nélkül 70 napos kezelést követően kialakult. A kétórás szérumban mért inzulinértékek a DHT csoportban kétszeresére emelkedtek a kontrollban mért értékekhez képest. A krónikus DHT adagolás, mely a humán PCO-szindrómához hasonló állapotot hoz létre kisállatokban, jellegzetes biomechanikai és farmakológiai vaszkuláris elváltozásokat eredményezett muskuláris gracilis arteriolákban. Az erek átmérőinek és az érlumennek a növekedését tapasztaltuk, bár ezt a növekedést nem követte az érfal tömegének változása (eutróf remodelling). Ez

a megnövekedett stressz hatás a disztenzibilitás növekedésével is együttjárt. Az elasztikus modulus nem változott, ami arra utal, hogy a fal passzív átépülése még nem volt számottevő. Lényeges eltérés mutatkozott az erek kontraktilitásában és spontán (miogén) tónusában. A következményesen 1 μM NE hatására kiváltott kontrakció csökkent DHT-kezelés hatására. Az endotélfüggő dilatáció csökkent a DHT-kezelt csoportokban. Jelen vizsgálatunkban kimutattuk, hogy az inzulinfüggő vaszkuláris relaxáció szintén csökkent DHT hatására. Ezt nevezzük vaszkuláris inzulinrezisztenciának. Bár a PCO szindrómában jellemzően kialakuló inzulinrezisztencia mind humán, mind PCO szindrómás állatmodellekben ismert és tárgyalt szövődmény, az inzulin kiserekre gyakorolt relaxációs hatásának változása új eredmény.

D-vitamin-kezelés PCO szindrómában elfogadott adjuváns kezelés. Az alacsony dózisú D-vitamin kezelés kardioprotektív hatása ismert és egyre szélesebb körben alkalmazott kiegészítő terápia. Az általunk ismertett vizsgálati modellben a D-vitamin-kezelés nemcsak csökkentette, de teljes mértékben kivédte a szisztémás inzulinrezisztencia kialakulását a DHT-kezelés és a kialakuló PCO-szindróma ellenére. A krónikus adagolás ugyancsak megelőzte a gracilis erek morfológiai elváltozását. Vizsgálatunk igazolta, hogy a D-vitamin-kezelés megelőzte a morfológiai remodellinget, a tangencionális stressz és disztenzibilitás emelkedését. Javította az erek noradrenalinra kifejtett válaszkészségét, és a miogén tónust a kontroll szintjénél is jobban csökkentette. Az endotélfüggő relaxációra azonban nem volt hatással. Ez azt jelenti, hogy a D-vitamin kezelés csak részben képes a DHT hatásait ellensúlyozni. Ezeknek az alapvető mechanizmusoknak a tanulmányozása során arra a következtetésre jutottunk, hogy a hiperandrogén állapot gracilis arteriolák szintjén jelentkező első elváltozása az NO-függő relaxáció károsodása. Annak ellenére, hogy a D-vitamin-kezelés nincs hatással az NO-függő relaxációra, egyéb mechanizmusok befolyásolása révén mégis kifejti kompenzációs hatását. A D-vitamin rezisztencia erekre gyakorolt hatása, melyek a PCO szindrómával és az inzulin rezisztenciával összefüggő elváltozások ellen hatnak, korábban nem volt ismert az irodalomban.

Eredményeink alapvető vaszkuláris biomechanikai elváltozásokat igazolnak DHT-kezelés következményeként. Az arteriola fal merevebbé válik és a tangencionális stressz nő a kontrollhoz képest. Az a tény, hogy a tangenciális stressz növekedését tapasztaltuk normotenziós állatok gracilis ereiben azt jelzi, hogy ezek a biomechanikai eltérések

prehipertenzív elváltozásnak tekinthetők. Ez az emelkedett érfalra nehezedő terhelés a hipertónia öngerjesztő körének első kiváltó faktora. A D-vitamin hatására csökkent miogén tónusnak köszönhetően a DHT+D3 csoportban a tangenciális stressz nem emelkedett. Ez az érfalat terhelő emelkedett terhelés ellen ható lokális mechanizmus, mely csökkenti a hipertónia kialakulásának esélyét. Passzív körülmények között (Ca-mentes oldat) ez a D-vitamin-hatás a kontroll csoportéhoz hasonló biomechanikai tulajdonságokat eredményezett. Noradrenalin hatására az érfal mechanikai terhelése a kezelés ellenére is nőtt, de ez az érték nem érte el a DHT-kezelt csoportét. A DHT-kezelés az erek adaptív rezerv kapacitását mind a kontrakció, mind a relaxáció irányába csökkenti. Az erek farmakológiai reaktivitását D-vitamin-kezelés növeli, ugyanakkor csökkent spontán-tónust eredményez.

Vizsgálataink szerint a D-vitamin-kezelés ellensúlyozza a DHT kezelés kiváltotta vaszkuláris inzulinrezisztenciát. DHT kezelés csökkentette a noradrenalin prekontrakciót követő inzulinfüggő relaxációt és ezzel vaszkuláris inzulinrezisztenciát okozott. A vaszkuláris inzulinrezisztencia ellenére a DHT csoportban is relaxáció volt megfigyelhető inzulin hatására hasonlóan a másik két csoporthoz. Inzulin hatására a D-vitaminnal kezelt erek noradrenalin szenzitivitása változatlan maradt, míg a másik két csoportban körülbelül 20%-os kontrakció fokozódás volt megfigyelhető az inzulin adás előtti és utáni noradrenalin adás hatására. Az a megfigyelés, hogy ez a kontrakció-fokozódás nem volt megfigyelhető a D-vitaminnal kezelt érszegmentumokban, arra enged következtetni, hogy a D-vitamin-adás önmagában növeli a simaizom noradrenalin-érzékenységét. Mindemellett a legkifejezettebb relaxáció inzulin hatására a D-vitamin kezelt csoportban volt megfigyelhető. Összehasonlítva az inzulin és az Ach relaxációs hatását jelentős különbségeket tapasztaltunk. Az Ach a kontroll erekben nagyobb relaxációt volt képes előidézni, mint a DHT-kezelt erekben. Ez a különbség L-NAME adása után nem változott vagy még tovább nőtt. Ebből kiindulva megállapítható, hogy a gracilis kisereken az inzulin direkt értágító hatása független az NO-mechanizmustól, és így a D-vitamin kompenzáló hatása sem az NO-n keresztül valósul meg.

KÖVETKEZTETÉSEK.

Tanulmányunkban egy ismert állatmodellt alkalmaztunk, hogy a PCO okozta korai metabolikus és vaszkuláris elváltozásokat vizsgálhassuk. A hiperandrogén állapot következtében merevebb és kevésbé nyújtható falú arteriolák simaizom függő kontrakciója és endotélfüggő relaxációja csökkent, miközben az NO hatás teljesen kiesett. D-vitamin alkalmazása a kontroll erek szintjére javította a mechanikai tulajdonságokat. A DHT kezelt állatok igazolt inzulin rezisztenciája csökkent inzulin-relaxációs választ eredményezett a kiserekben. Vizsgálataink a metabolikus elváltozások olyan korai állapotában történtek, ahol a PCO-szindróma kapcsán a kiserekben kialakuló érkárosodások kezdeti lépéseit figyelhettük meg még a hipertónia kialakulása előtt. A D-vitamin-kezeléssel összefüggésben a kiserek szintjén tapasztalható különbségek rávilágítanak a hiperandrogén állapot és az inzulin rezisztencia okozta érkárosodások jelentőségére, és részben magyarázatot adnak a D-vitamin klinikumban is tapasztalt jótékony hatására PCO-szindrómában.

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Ezt a vizsgálatot a Semmelweis Egyetem Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézetében végeztük 2011-ben. Szeretném mindenekelőtt megköszönni dr. Várbíró Szabolcs egyetemi adjunktusnak, témavezetőmnek, kollégámnak és barátomnak azt a rengeteg áldozatot, mellyel végig segítette munkámat. A vizsgálat megtervezésétől egészen a disszertáció javításáig elkísérte, felügyelte és a legnehezebb pillanatokban is továbbgördítette a megkezdett munkát. Köszönöm dr. Nádasy L. Györgynek, az Élettani Intézet egyetemi docensének a fáradhatatlan segítséget, a sok tanácsot és iránymutatást, mely nélkülözhetetlen volt a számunkra. Köszönöm dr. Benyó Zoltán és Dr. Monos Emil professzor Uraknak, hogy mindig érdeklődéssel és türelemmel segítették a munkánkat, és lehetővé tették, hogy kísérleteinket elvégezhessük laborjaikban. Köszönöm dr. Pajor Attila professzor Urnak, hogy lehetővé tette és mindvégig segítette kutatómunkámat. Köszönöm Horváth M. Eszternek a feledhetetlen segítséget, mellyel sokszor a legnehezebb pillanatokban volt hasznos segítségünkre. Köszönöm Murányi Ildikónak, dr. Antal Péternek, dr. Masszi Gabriellának, dr. Buday Annának, dr. Hamar Péternek, dr. Szekeres Máriának, dr. Monori-Kiss Annának, dr. Tökés Anna-Máriának,

Novák Ágnesnek, Tarszabó Róbertnek, dr. Révész Csabának, Benkő Ritának a munkám során nyújtott rengeteg közreműködést és segítséget. Köszönöm dr. Tóth Péternek, hogy kezdeti lépéseimet a kutatómunka során segítette. Szeretném hálámat és köszönetemet kifejezni továbbá azoknak, akik a legnagyobb áldozatot hozták: feleségemnek, Katának, kislányomnak, Borókának, szüleimnek és testvéreimnek.

PUBLIKÁCIÓS LISTA

Az értekezés témájában íródott közlemények:

Sara, L., Antal, P., Masszi, G., Buday, A., Horvath, E.M., Hamar, P., Monos, E., Nadasy, G.L., Varbiro, S. (2012) Arteriolar insulin resistance in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*. 97(2): 462-468. IF 3,958 (2010)

Sara L., Nadasy Gy.L., Antal P., Monori – Kiss A., Szekeres M., Masszi G., Monos E., Varbiro Sz. (2012) Pharmacological reactivity of resistance vessels in a rat PCOS model – vascular effects of parallel vitamin D3 treatment. *Gynecological Endocrinology* DOI: 10.3109/09513590.2012.683079. Article in press. IF: 1,461 (2010)

Sara L., Nadasy Gy.L., Antal P., Szekeres M., Monori – Kiss A., Horvath E.M., Tokes A., Masszi G., Monos E., Varbiro Sz. Arteriolar biomechanics in a rat PCOS model – effects of parallel vitamin D3 treatment. *Acta Physiologica Hungarica* - accepted for publication. IF: 1,226 (2010)

Egyéb közlemények:

Valent S, Oláh O, Sára L, Pajor A, Langmár Z. (2011) Ultrasonography in the diagnosis of ovarian and endometrial carcinoma [Az ultrahangvizsgálat szerepe a méhtest és a petefészek rosszindulatú daganatainak diagnosztikájában] *Orvosi Hetilap*. 152(47): 1887-1893.

Pánczél Z, Sára L, Tóth P, Hubay M, Keller É, Langmár Z, Pajor A. (2011) Spontaneous aortic rupture during pregnancy [Spontán aortaruptura várandósság alatt] *Orvosi Hetilap*. 152(23): 929-933.

Valent S, Németh J, Sára L, Gidai J, Tóth P, Schaff Zs, Paulin F, Pajor A. (2011) High early uterine vascular resistance values increase the risk of adverse pregnancy outcome independently from placental VEGF and VEGFR1 reactivities *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*. 156(2): 165-170. IF: 1,764 (2010)

Sebestyén A, Varbiro S, Sara L, Deák G, Kerkovits L, Szabó I, Kiss I, Paulin F. (2008) Successful management of pregnancy with nephrotic syndrome due to preexisting membranous glomerulonephritis: A case report. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 24(3): 186-189. IF: 1,184

Sebestyén A, Várbíró S, Deák G, Gimes G, Szabó I, Sára L, Paulin F. (2005)
Difficulties in treating patients with nephrosis syndrome [Nephrosis szindrómás
terhesség kezelésének problémái Esetismertetés]
Magyar Nőorvosok Lapja. 68(1): 57-60.