

A vaszkuláris reaktivitás változásai és a D₃-vitamin hatása policisztás ovárium szindróma patkány modelljében

Doktori tézisek

Dr. Masszi Gabriella

Semmelweis Egyetem

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



| | |
|-------------------------|---|
| Témavezető: | Dr. Várbíró Szabolcs egyetemi adjunktus PhD |
| Hivatalos bírálók: | Dr. med. habil. Járai Zoltán osztályvezető főorvos PhD Dr. Mózes Miklós egyetemi adjunktus PhD |
| Szigorlati biz. elnöke: | Prof. Dr. Rosivall László intézetvezető egyetemi tanár |
| Szigorlati biz. tagjai: | Dr. Farkas Katalin osztályvezető főorvos PhD Dr. Ujházy András egyetemi adjunktus PhD |

Budapest

2012

BEVEZETÉS

A policisztás ovárium szindróma első neve a Stein-Leventhal szindróma volt, két chicagói nőgyógyász vezetéknevéből alkotva, akik több olyan esetről számoltak be 1935-ben amelyekben a terméketlenség mellett fokozott szőrnövekedést, rendszeretlen havi vérzést és megnagyobbodott petefészkeket találtak. A PCOS rejtőzködő betegség, színes és különböző szakterületeket érintő tünettana miatt gyakran csak a terméketlenség okozta problémakör viszi orvoshoz a nőket. A PCOS jóval gyakrabban fenn áll, mint azt diagnosztizálják, ám az ismert esetek alapján is a nők legalább 5-8%-át érinti. Rendszerbetegség, amely egész életén keresztül elkíséri a nőt, és más-más életkorban más-más problémákat vet fel. A probléma relevanciáját jelzi, hogy 50-60%-ban ez az elváltozás felelős a nők terméketlenségéért, az anovuláció következményeként. A legjellemzőbb tüneteket, a Rotterdami-konszenzus nevezte meg: menszruációs zavarok, oligo- vagy anovuláció, ultrahanggal igazolt policisztás, megnagyobbodott petefészkek, és az androgén többlet klinikai vagy laboratóriumi jelei. E háromból kettő jelenléte elég a diagnózis felvetéséhez. Gyakran társul hozzá inzulinrezisztencia, hasi típusú elhízás, acne, hirsutizmus, és a szív és érrendszeri rizikó növekedése. Fontos tudni, hogy minden tizedik PCOS-ses beteg 40 éves korára diabéteszes lesz, és a policisztás ovárium szindrómában szenvedő hölgyek 30-40%-ában, csökkent glukóz toleranciát is lehet diagnosztizálni. A PCOS szív és érrendszeri rizikót fokozó hatásai és azok terápiás lehetőségei egyaránt az érdeklődés homlokterében állnak. Kiváltásában genetikai és környezeti tényezők egyaránt szerepelhetnek. Mivel a kóroktani eredete még mindig nem teljesen tisztázott, ezért vállalkoztunk erre a kísérlet sorozatra. Először a PCOS-t modelláltuk Wistar patkányokon, aztán a fő verőér, az aorta farmakológiai válaszkésztségét vizsgáltuk vazokonstriktor, vazodilátor hatásokra. Megvizsgáltuk az inzulinra, ösztrogénre adott relaxációs válaszokat, és a sejtkárosodás mértékét is. Mindezekben kerestük a D₃-vitamin hatását, amelyről tudjuk, hogy a PCOS adjuváns terápiájaként alkalmazható.

Végezetül szeretném megköszönni szüleimnek, hogy elültették bennem a tudás vágyát, férjemnek, Lacinak és gyermekeimnek; Zsoltinak és Ákosnak, testvéreimnek különösen is András öcsémnek, hogy a munka egészségnek folyamán mellettem álltak, bíztattak és támogattak akárcsak a barátaim.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálásan köszönöm témavezetőmnek a II. számú Nőgyógyászati Klinika adjunktusának Dr. Várbíró Szabolcsnak, a kitartó együttműködését, metodikai tanácsait, gondolati és gyakorlati támogatását a kutatás teljes időtartamában.

Külön szeretnék köszönetet mondani Benyó Zoltán professzor úrnak, az intézet vezetőjének, aki a szeretettel befogadáson túl segítséget is nyújtott a kísérletsorozat eredményeinek kiértékelésében, a közlemények ellenőrzésében és javításában és mindvégig szellemileg és erkölcsileg is támogatott. Tisztelettel köszönöm Monos Emil professzor úrnak a szívélyes fogadtatást és bátorítást a kutatás végzésére. Külön hálával tartozom Nádasy L. György docens úrnak, aki az elakadásoknál mindig biztos kézzel segített tovább és bármikor szívesen állt a rendelkezésünkre.

Köszönettel tartozom Dr. Zámolyi Károly főorvos úrnak, hogy mindvégig támogatott. Köszönöm kollégáimnak, hogy a kutatások ideje alatt helyettesítettek és ezzel is támogatták kutatómunkám eredményességét. Köszönöm Dr. Kálmán Sándor főigazgató főorvos úrnak, hogy támogatta a munkámat.

Szeretném megköszönni Dr. Horváth Eszter és Dr. Benkő Rita elméleti és gyakorlati segítségét a munka végzése során. Köszönöm Dr. Hamar Péter segítségét a cikkek ellenőrzésében és javításában, és munkacsoportjának, hogy a Kórélettan Intézetből a kutatásban részt vettek; Dr. Buday Annának, aki a laboratóriumi munkavégzés alapjaira tanított meg, és Révész Csabának az együttműködését. Köszönettel tartozom Tarszabó Róbert és Novák Ágnes hallgatónak, hogy a kísérletsorozat kivitelezésében tevékenyen részt vettek, a statisztikai elemzésben segítettek és az ábrák megrajzolásában is számíthattam rájuk, csakúgy, mint Dr. Sára Levente kutatótársamra, akinek szintén sok köszönettel tartozom. Ezeken túlmenően szeretnék köszönetet mondani Dr. Ruisanchez Évának, Dr. Tőkés Anna-Máriának, a közös munkában végzett hathatós segítségükért. Mindig hálával fogok emlékezni Nagy Zoltánné Évi néni, lelkiismeretes laborasszisztensi munkájára, Oravec Lászlóné Ildikó áldozatkész segítségére, és Balog Ibolya pontos titkárnői segítségnyújtására.

Vaszkuláris változások PCOS-ben

Számos vizsgálat endotél diszfunkciót igazolt PCOS-ben. Az áramlás indukálta vazodilatáció csökkenését, a pulzus hullám terjedési sebességének a növekedését, és az érfal megvastagodását mutatták ki. Ezek az elváltozások köztudottan az ateroszklerózis korai előjelei. A fertilis korú PCOS-es nőknél az inzulinrezisztencia, metabolikus szindróma, korai ateroszklerózis, valamint hipertónia gyakrabban alakul ki, és a menopauza után is fennmarad. Ezek a hosszútávú szív és érrendszeri esélyek szempontjából kedvezőtlen jelenségek. A relaxációs képesség PCOS-ben csökken. Ez hasonlít ahhoz, ami diabétesz mellitusban is tapasztalható. Az inzulin nagyobb részt az inzulin receptor közreműködésével, endoteliális-NO szintázon keresztül vált ki vazorelaxációt. Endotéliumtól független módon a simaizom kontrakciójának csökkentésén keresztül is működik. De az EDHF szerepét is igazolták Ca^{2+} által aktivált K^+ csatornák részvételével a vazorelaxáció kialakításában. Az életmódváltó terápiának nemcsak a klinikai előnyök elérésében, hanem a vazodilatációs kapacitás növelésében is jelentős szerepe lehet. Patkányokat futószalagra téve, a fizikai aktivitás vazodilatatív hatását sikerült igazolni.

A D-vitamin szerepe

A D-vitaminról az utóbbi két évtizedben kiderült, hogy valójában hormon, és a szervezet számos pontján szabályozó szerepköre lehet. A szervezet nem termeli, vagy a bőrben napsugárzás hatására indul meg a képződése, mely a májban és a vesében fejeződik be, vagy a táplálékfelvétellel tudjuk bejuttatni. A D-vitamin hiányát és a policisztás ovárium szindróma összefüggéseit sokan tanulmányozták. A D hipovitaminózis az európai lakosság legalább 40%-át érinti, észak felé haladva ez eléri a 60%-ot is, a PCOS betegekben pedig 80%-ban kimutatható. A vizsgálatok eredménye alátámasztotta, hogy a D-vitamin hiánya a metabolikus szindróma kórélettani okai között szerepelhet. Ezt a feltételezést igazolja az a tény, hogy ismereteink szerint a D-vitamin receptor génje a humán genom legalább 3%-át szabályozza, és ezek között azokat is amelyek döntő tényezői a zsíryanycsere, a glukóz anyagcsere

szabályozásának és a vérnyomás kontrollálásának. A túlsúlyos policisztás ovárium szindrómában szenvedő nőknél igazolták, hogy D-vitamin analóg adással az inzulin rezisztencia korrigálható. A kezelés hatására a lipidprofil is kedvező irányban változik, sőt a betegeket menstruációs ciklusát rendező a D-vitamin, és az infertilitást sikerült megszüntetni a D-hipovitaminózis korrigálásával. Kísérletes szinten egyéb betegségekben is lehetett eredményeket elérni; spontán hipertenzív patkányok szívelégtelenségét (SHHF) tudták javítani. Spontán magas vérnyomásban szenvedő patkányokban D-vitamin adásával az endotél depenedens kontrakciók csökkenését tudták elérni és antihipertenzív hatást tudtak kimutatni. Policisztás ovárium szindrómában, tekintve hogy annak az egyik alapvető patológiai tényezője az inzulinrezisztencia, az irodalom és a hazai konszenzus is javasolja a D-vitamin adását kiegészítő terápiaként.

Egyéb közlemény a disszertáció témájában (elfogadva, megjelenés alatt)

Masszi G, Horvath EM, Tarszabo R, Benko R, Novak A, Buday A, Tokes AM, Nadasy LGY, Hamar P, Benyó Z, Varbiro S. (2012) Reduced Estradiol-Induced Vasodilation and Poly-(ADP-Ribose) Polymerase (PARP) Activity in the Aortas of Rats with Experimental Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)
PLOS ONE DOI.10.1371/journal.pone.0055589 **IF: 4,092**

Nem a disszertáció témájában megjelent közlemények

Cikkek

1. Masszi G. (1997) A nők és az idősek hypertóniája. Orvostovábbképző Szemle IV(6):46-49
2. Masszi G. (1998) A hormonpótló kezelés és a hypertónia. *Cardiologia Hungarica*. 27(4):9-64.
3. Masszi G. (2002) Hipertónia és menopauza *Orv. Hetil.* 143(51):2821-2828.
4. Masszi G. (2006) A menopauza és a kardiovaszkuláris rizikó összefüggései *LAM* 16:723-738.

Könyvfejezetek

1. Masszi G. Cardiovascularis rizikó és védelem a menopausában. In: Cseh I, Dancsó J, Tóth K S. (szerk.), *A menopausa időszerű kérdései*. B + V Kiadó, Budapest, 2000:68-82.
2. Masszi G. A szív és érrendszeri megbetegedések megelőzése a változás kora után. In: Császár A, Masszi G (szerk.), *Nők a változó korban. Harc a Női Szívéért* Alapítvány, Budapest, 2011:121-139.

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A disszertáció témájában megjelent első szerzős közlemények

1. Masszi G, Buday A, Novak A, Horvath EM, Tarszabo R, Sara L, Revesz Cs, Benkő R, Nádasy Gy, Benyó Z, Hamar P, Varbiro Sz. (2012) Altered insulin induced relaxation of aortic rings in a dihydrotestosterone induced rodent model of polycystic ovary syndrome Fertil Steril. DOI.10.1016/j.fertnstert.2012.09.024 2./

IF:3.567

A disszertáció témájában megjelent társszerzős közlemények

1. Sara L, Antal P, Masszi G, Buday A, Horvath EM, Hamar P, Monos E, Nadasy GL, Varbiro S. (2012) Arteriolar insulin resistance in a rat model of polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 97:462-468.

IF:3.564

2. Sara L, Nádasy G, Antal P, Monori-Kiss A, Szekeres M, Masszi G, Monos E, Varbiro S. (2012b). Pharmacological reactivity of resistance vessels in a rat PCOS model - vascular effects of parallel vitamin D3 treatment. Gynecol Endocrinol. (doi:10.3109/09513590.2012.683079)

IF:1,461

3. Sára L, Nádasy GyL, Antal P, Szekeres M, Monori-Kiss A, Horváth EM, Tökés AM, Masszi G, Monos E, Várbíró Sz. (2010) Arteriolar biomechanics in a rat polycystic ovary syndrome model - Effects of parallel vitamin D3 treatment Acta Physiol Hung 99:(3) pp. 279-288.

IF:0.821

CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk célja az volt, hogy a policisztás ovárium szindróma bevált patkány modelljén, 70 napos dihidrotesztoszteron kezelést követően, a legkorábbi ér reaktivitásbeli változásokat elemezzük nagy ereken, a mellkasi aorta szakaszain. Abban a stádiumban, amikor még hipertónia nem alakult ki, de a jellemző metabolikus eltérés, az inzulin rezisztencia már megjelent. Vizsgáltuk azt is, hogy a D-vitaminnak van-e hatása a tapasztalt eltérésekre? A feltételezésünk az volt, hogy már a PCOS korai szakaszában a vaszkuláris reakciók kedvezőtlenül változnak és a D-vitaminnak, vagy a lokálisan alkalmazott ösztrogénnek jótékony hatása lehet. Kíváncsiak voltunk arra, hogy a PARP aktivitás milyen irányban változik? Feltételezésünk szerint a poli-(ADP-ribóz) polimeráz aktivitás fokozódása is a korai érrendszeri sérült állapot jelzője lehet, amelyet a D-vitamin kedvezően befolyásolhat.

MÓDSZEREK

Állatok

Harminc juvenilis (21-28 napos), 100-140 gramm súlyú nőtény Wistar patkányt választottunk a vizsgálatra. Hús 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 (kontroll csoport). Tíz DHT-kezelt állat heti adagolásban 120 nanogram/100 tsg dózisban 1,25 (OH)₂ D₃-vitamint kapott s.c. (DHT+D₃ csoport).

A torakális aortagyűrűk mintavétele

Az állat elaltatása után a mellkast megnyitottuk és felkerestük a szívcsúcsot. Azt megszúrva heparinizált Krebs-Ringer oldatot áramoltattunk át a keringésben az alvadék képződés elkerülése céljából. A heparinizálás után a szívet és az aortát kiperarálva eltávolítottuk. A torakális aorta disztális részéből, minden állatból 8 db, egyenként 3 mm-es aortagyűrűt készítettünk, melyeket az előkészített, egyenként 8 ml normál Krebs-Ringer oldattal feltöltött, érkádakba helyeztük. A 3 mm-es aortagyűrűket a Myograf rendszer (610-M Multi Myograph System; Danish Myo Technology, Aarhus, Dánia) kádjaiban található, egyenként 200 mikrométer átmérőjű rozsdamentes acélból készült értartó villákra húztuk fel. A torakális aorta (TA) szegmenseket nyugalmi állapotban 15mN-ra feszítettük elő.

Inzulin által kiváltott relaxáció

Az első négy kádban 5x10⁻⁸M NA-nal előidézett prekontrakciót követően növekvő dózissal inzulint adagoltunk a kádakba (50-150-300-600 mU/ml) 15-15 perces különbséggel, és az inzulin által közvetített vazorelaxációt vizsgáltuk dózishatás görbék felvételével. A relaxáció mértékét százalékosan adtuk meg, az előzőleg a noradrenalin által létrehozott prekontrakciók ellazításának mértékében. Ezt követően az

Ösztrogén

A DHT kezelés megváltoztatta az aortagyűrűk relaxáló képességét. Az E₂ relaxáló képessége hiperandrogén környezetben szignifikánsan csökkent, és a D₃-vitamin hatása sem változtatott ezen. Ezzel az eredményünkkel a PCOS-ben tapasztalható szív és érrendszeri eltéréseknek az egyik fő mechanizmusára világítottunk rá.

PARP

A DHT előkezeléssel kiváltott policisztás ovárium szindróma károsító hatásai részben a PARP aktivitás fokozódásában nyilvánultak meg (petefészkek és fehérvérsejtek), és ezt a kedvezőtlen állapotot ezekben a szövetekben a D₃-vitamin kezelés teljességgel visszafordította. Ezzel szemben a DHT kezelés mellett az aorta falában az endotéliumban és a simaizom sejtekben a PARP aktivitás csökkent, ezen a D₃-vitamin már nem változtatott.

Konklúzióként megállapíthatjuk, hogy PCOS szindróma hiteles patkány modelljében, a nagyerek vaszkuláris reakciói összességükben kedvezőtlen irányba változnak, már a legkorábbi funkcionális változások idejében is, ezekre a változásokra a D₃-vitamin kezelésnek részleges javító hatása lehet.

KÖVETKEZTETÉSEK

Inzulin

Vizsgálatunkban először mutattuk ki a hiperandrogén környezetben bekövetkező csökkent inzulinfüggő vazorelaxációs képességet aortán, erre a D₃-vitaminnak nem volt hatása. Az androgén hatásra jelentkező relaxáció csökkenés, csakúgy, mint maga az inzulin által létrehozott relaxáció részben NO-függőnek bizonyult. A D₃-vitamin összességében neutrális hatású volt aortán. Ezt az inzulin által létrehozott vazorelaxáció összefüggésében azzal magyarázhatjuk, hogy lokális konstriktor prosztanoid hatások a D-vitamin kezelésre létrejött NO-független relaxáció mérsékelt javulását ellensúlyozták, kioltották.

Vazoreaktivitási eltérések

Vizsgálatainkkal elsőként mutattuk ki, hogy a PCOS modellben patkány aortán mért noradrenalin által kiváltott kontrakció fokozódást az egyidejűleg alkalmazott D₃-vitamin kezelés mérsékli, részben ellensúlyozza. Klinikai értelemben a D₃-vitaminnak a prehipertenzív elváltozások feltartóztatásában lehet szerepe. Kimutattuk, hogy az ACh által kiváltott relaxáció is károsodik PCOS-ben, ezt a D₃-vitamin kezelés részben korrigálja. Elképzelésünk szerint a korrekció lokális prosztanoid hatások miatt lehet csak részleges (L-NAME- és indometacin inkubáció) amelyek a D₃-vitamin által felerősített NO-független relaxációs kapacitást majdnem teljesen semlegesítik.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a hiperandrogén státus prehipertenzív érállapotot okoz, és a vazorelaxációs kapacitás beszűküléséhez vezethet. Ennek a PCOS klinikai megjelenésében is lehet szerepe, ez pedig a kardiovaszkuláris rizikó csökkentésére alkalmazott intervenciók korai bevetésére sarkall bennünket. D₃-vitamin kezeléssel a hiperandrogén környezet következtében létrejött vazokonstriktor aktivitás emelkedett szintjét regenerálni tudtuk. Vizsgálatunkból levonható fontos következtetés, hogy a PCOS-ban adjuváns kezelésként alkalmazott D₃-vitamin a nagyerek szintjén gátolhatja a prehipertenzív károsodások kialakulását.

aortagyűrűk felét 10⁻⁴M indometacinnal (Sigma-Aldrich) és a másik felét 10⁻⁴M L-NAME-mel (Sigma-Aldrich) inkubáltuk 20-20 percen át, majd ismételtén inzulin dózishatás görbékét vettünk fel. Az indometacinnal tudjuk, hogy ciklooxygenáz gátló, a prosztanoidok szintézisét gátolja (prosztaciklin és tromboxán egyaránt) az L-NAME viszont a nitrogénoxid (NO) szintézisének gátlását biztosítja mindhárom szintáz működését bénítva (i-NOS, e-NOS, c-NOS), így a relaxáció hatásmechanizmusát közelebbről tudtuk vizsgálni.

A vazoreaktivitás mérése

Két kádban a 124 mM K⁺-os referencia kontrakció létrehozása után 5 x 10⁻⁸M NA-os prekontrakciókat hoztunk létre, és az érszégmensek ellazuló képességét, az endotélium épségét ACh lépcsőzetesen emelkedő dózisával regisztráltuk. Ezt követően noradrenalin lépcsőzetesen emelkedő dózisu (10⁻⁹-10⁻⁶M) adagolásával hoztunk létre dózishatás görbékét és ACh lépcsőzetesen emelkedő (10⁻⁸-10⁻⁵M) dózisu adagolásával az érszégmenseket relaxáltuk. Ezek után az egyik kádat 10⁻⁴M indometacinnal, míg a másikat 10⁻⁴M L-NAME-mel inkubáltunk 20 percen keresztül, és ez után ismételtük meg a dózishatás görbék felvételét a növekvő dózisu vazokonstriktor NA, majd vazorelaxáns ACh alkalmazásával.

Ösztradiol adására bekövetkező válaszreakció

Az ösztradiolra relaxáló hatását az 5x10⁻⁸M NA adásával prekontrahált érszégmenseken mértük. Az egyes koncentrációk hatásának kialakulására 20 perces időintervallumot adtunk. Dózishatás görbékét vettünk fel, a relaxációk mértékét százalékban adva meg, a prekontrahált erek ellazulásának mértékében.

Szövettani vizsgálat

A petefészkeket és az egyéb szöveteket a kivétel napján frissen fixáltuk a szövettani vizsgálatokhoz. 4%-os formaldehidben tárolva immerziós fixációt követően haematoxin-eosin festéssel megfestve fénymikroszkópos vizsgálattal kerestük a PCOS

szöveti jegeit. Az aortafal vastagságát is szövettani vizsgálat során mértük le. Az értékeléshez Panoramic viewer szoftvert használtunk (3DHISTECH Ltd. Budapest, Magyarország).

Immunhisztokémia

Leukocitákat gyűjtöttünk a vett vénás vérből Histopaque-1083 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) alkalmazásával. A sejtszuszpenzióból metanolos fixációjú keneteket készítettünk. Az ovárium és aorta mintákat formalinnal fixálva paraffinba ágyaztuk és 5 mikrométer vastag szeleteket készítettünk. Deparaffinizáció és antigen feltárás után monoklonális egér anti-PAR antitesttel poli-(AdenozinDiFoszfát)-ribóz (PAR) került kimutatásra. A másodlagos jelölést biotinizált egér ellenes ló antitesttel érték el. Nikkellel felerősített diaminobenzidint (DAB) használtunk a jelölés vizualizálására. A poli-(ADP)-ribóz, PAR festett kenetek kiértékelésére, a PAR aktivitás jellemzésére szemikvantitatív pontozásos skálát alkalmaztunk (1-10-ig).

Statisztikai számítások

A dózishatás görbéket repeated measures ANOVA-val értékeltük ki. A diszkrét változók esetében egy utas (one-way) ANOVA-t alkalmaztunk. Post hoc tesztként a Newman-Keul's tesztet végeztük el. Szignifikánsnak egyöntetűen a $p < 0.05$ eredményeket fogadtuk el.

EREDMÉNYEK

Inzulinra adott válaszreakciók

A vizsgálataink során megállapíthattuk, hogy az inzulin dependens relaxáció a policisztás ovárium szindróma modelljében, az aortában a D-vitamin adás ellenére is szignifikánsan csökkent. Az NO függő és NO független út is sérült. A D-vitamin vazorelaxációt javító hatását összességében prosztanoid függő vazokonstrikció fokozódás neutralizálta.

Vazoreaktivitási (NA, ACh) válaszreakciók

A vazoreaktivitás elemzésekor azt tapasztaltuk, hogy a DHT-s erek vazokonstrikciós képessége noradrenalin hatására megnőtt – ezt a D-vitamin részlegesen mérsékelte, ugyanakkor a vazorelaxációs képesség csökkent és a D-vitamin ezen is valamelyest javítani tudott. Az NO-függő vazorelaxáció csökkenését a D-vitamin majdnem teljesen kompenzálta, de prosztanoid függő vazokonstriktor hatások ezt is mérsékeltek.

Ösztradiol adására kapott érválaszok

Az ösztradiol vazodilatatív hatása PCOS-ben a DHT-s aortagyűrűkön szignifikánsan csökkent, és bár a D-vitamin a noradrenalin által okozott vazokonstrikciót mérsékelte és a vazorelaxációt javította; az ösztrogén vazorelaxációs hatását a DHT-s erekben nem korrigálta.

PARP aktivitás mérése

A PARP aktivitást poli-(ADP)-ribóz immunfestéssel jelenítettük meg. A PCOS-es ováriumokban és keringő leukocitákban a PARP aktivitás megnőtt, és ezt a D-vitamin szignifikánsan csökkentette, ugyanakkor a hiperandrogén patkányokból származó aortafal endotéliumban és simaizomsejtekben a PAR festődés csökkent, és ezt a D-vitamin kezelés tovább nem befolyásolta.