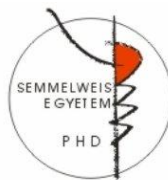


D-vitaminhiány és az androgének kardio- és cerebrovaszkuláris hatásai hím patkány koszorúereken és nőstény patkány agyi ereken

Doktori tézisek

Dr. Sziva Réka Eszter

Semmelweis Egyetem
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Témavezetők: Dr. Várbiro Szabolcs, az MTA doktora,
egyetemi docens
Dr. Horváth Eszter Mária, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Erdei Edit, Ph.D., főorvos
Dr. Sax Balázs, Ph.D., egyetemi adjunktus

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Nyirády Péter, az MTA doktora, egyetemi tanár

Tagok: Dr. Kopa Zsolt, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Sziller István, med. habil., címzetes egyetemi tanár

Budapest
2021

1. Bevezetés

Férfiak és Nők közti nemi különbségek léteznek, mióta világ a világ. Ennek oka többek között a férfi és női nemi hormonokban, az androgének és ösztrogének hatásaiban keresendő.

A D-vitamin, amelyet majdnem minden földi élőlény képes előállítani, egy evolúciós szempontból jól konzervált prohormon, melynek klasszikus szkeletális és nem-klasszikus, extraszkeletális hatásai ismertek.

Szerteágazó hatásainak kialakulásához szükség van az optimális D-vitamin bevitel biztosítására, megfelelő mennyiségben történő aktív forma szintézisére és adekvát metabolizmusra, egy szóval a D-vitamin „homeosztázis” egyensúly fenntartására. A szervezet aktuális D-vitamin ellátottsága meghatározható a 25-hidroxi-D₃-vitamin (25(OH)D₃) szint méréssel. Az egyensúly felborulása túl alacsony vagy túl magas D-vitaminszinthez vezethet – előbbi extrém gyakori, utóbbi extrém ritka az átlagpopulációban.

Az elégtelen D-vitamin ellátottság és a D-vitamin deficiencia már világszerte fontos népegészségügyi probléma.

A kardio- és cerebrovaszkuláris betegségek okozta halálozások évtizedek óta vezetnek a globális mortalitási statisztikákat. A kardiovaszkuláris rizikó nemi különbségeket mutat: a nők relatíve védettebbek, míg férfiak esetében magasabb a kockázat. E különbség okát a nemi hormonoknak tulajdonítják: nőkben az ösztrogének igazolt protektív hatásának, férfiakban az androgének befolyása feltételezhető, mivel bizonyos hiperandrogén állapotok fokozott szív-érrendszeri kockázattal járhatnak nőkben és férfiakban egyaránt (például nőkben a Policisztás Ovárium Szindróma, férfiakban exogén androgén-anabolikus szteroid használat).

Emiatt napjainkban a D-vitamin extraszkeletális hatásai közül előtérbe került a D-vitamin kardiovaszkuláris rendszerre gyakorolt hatásainak vizsgálata, ugyanakkor jelenleg kevés adattal rendelkezünk a D-vitamin hatásainak esetleges nemi különbségeiről, valamint e komplex hatások és a különböző szív-érrendszeri érrégiók, létfontosságú szerveket ellátó (szív, agy) vaszkulátúra interakciójáról.

2. Célkitűzés

Mivel jelenleg kevés ismeret áll rendelkezésre a D-vitamin, az androgének és kardiovaszkuláris rizikó összefüggésének témakörében, különösen a nemi különbségek tekintetében, célkitűzésünk a férfiszív és a női agy endokrinológiai-keringésélettani rejtélyeinek vizsgálata volt:

Kutatásaink során célunk az emberi szervezet optimális működéséért felelős két, legfontosabb szervet – a szívet és az agyat – közvetlenül vérrel ellátó és különböző érégióból származó kiserek alkalmazkodásának, változásainak, esetleges károsodásainak direkt vizsgálata volt eltérő D-vitamin ellátottság esetén, egyúttal a D-vitamin hiányállapot és tesztoszteron hatás interakcióinak vizsgálata hím és női nemben, állatkísérletes modellben. Munkacsoportunkkal az alábbi kérdésekre kerestünk válaszokat:

- 1) *Eltérő D-vitamin ellátottság – különösen a D-vitamin deficiens állapot – hatással lehet-e létfontosságú szervek (szív, agy) vérellátásáért felelős artériák kisebb szegmenseinek geometriai, érbiomechanikai és viszkoelasztikus szövettani jellemzőire, azok adaptációs mechanizmusaira?*
- 2) *A lehetséges hatások, változások, károsodások hátterében milyen kezdeti pathomechanizmusok állhatnak és léteznek-e szervek és nemek közti vagy a nemi hormonok hatásai közti esetleges különbségek?*
- 3) *A férfi nem fokozott kardiovaszkuláris rizikója miatt hím nem esetében a szív közvetlen vérellátásáért felelős koronária arteriolák vizsgálata során az oxidatív-nitratív stressz szerepet játszhat-e a feltételezett változások, károsodások létrejöttében?*
- 4) *A D-vitamin deficiencia különböző állapotmodellekben való szerepeltetése, valamint nőstény állatokban az androgén hormonhatás és a D-vitaminhiány kölcsönhatás vizsgálatának érdekében egy kiegészítő, Policisztás Ovárium Szindróma-állatmodellben a hiperandrogenizmus és D-vitamin ellátottság/hiány befolyásolja-e nőstény agyi erek morfológiai-biomechanikai-szövettani tulajdonságait?*

3. Módszerek

3.1. Állatok

Állatkísérleteinket a vonatkozó hazai és Európai Uniósi irányelveknek megfelelően végeztük (etikai engedélyszám: IRB:8/2014 (PEI/001/1548-3/2014), (PEI/001/820-2/2015)).

Krónikus, 8 hetes állatkísérleteinket ivarérett, 4 hetes, 100-140 g kiindulási súlyú 22 hím és 90-110 g kiindulási súlyú 46 nőtény Wistar-patkányon végeztük. Az állatok a nekik rendelt speciális patkánytáphoz és ivóvízhez szabadon hozzáfuthattak, élettani körülmények között éltek. A kísérlet során mindent megtettünk az állatok szenvedésének minimalizálása érdekében és a kísérlet végeztével biztosítottuk a humánus végpontot.

A hím állatokat véletlenszerűen két csoportra osztottuk és eltérő D-vitamin ellátottságot biztosítottunk:

- ♂ **VD+**: hím D-vitamin-pótolt, kontroll csoport (n=11)
- ♂ **VD-**: hím D-vitaminhiányos csoport (n=11)

A nőtény állatokat véletlenszerűen négy csoportra osztottuk, bennük szintén eltérő D-vitamin ellátottságot idéztünk elő, valamint kiegészítő alcsoportok létrehozásával hiperandrogén állapotot modelleztünk:

- ♀ **VD+/T-**: nőtény D-vitamin-pótolt, tesztoszteron-kezelésben nem részesült dupla kontroll csoport (n=12)
- ♀ **VD+/T+**: nőtény D-vitamin-pótolt, tesztoszteron-kezelésben részesült csoport (n=12)
- ♀ **VD-/T-**: nőtény D-vitaminhiányos, tesztoszteron-kezelésben nem részesült csoport (n=11)
- ♀ **VD-/T+**: nőtény D-vitaminhiányos, tesztoszteron-kezelésben részesült csoport (n=11)

3.2. Kezelési protokoll

Optimális D-vitaminbevitel biztosítását normál D-vitamin tartalmú táppal és addicionális D-vitamin szupplementációval értük el. D-vitamin hiányállapotot D-vitamin-mentes táppal értünk el. Hiperandrogén státuszt transzdermális tesztoszteron-kezeléssel alakítottunk ki.

3.3. In vitro nyomás mikroarteriográfia és számítások

A kísérlet végeztével az állatok végső testsúlyát megmértük: a hímek testsúlygyarapodása nagyobb volt a nőstényekhez képest, a nőstény csoportokban a tesztoszteron-kezelés nagyobb testsúlygyarapodást eredményezett, azonban a D-vitaminhiány sem hímekben sem nőstényekben nem befolyásolta a súlygyarapodást. Általános anesztéziában invazív vérnyomásmérést végeztünk. Hím állatok esetében mellkasmegnyitást követően bal anterior leszálló koronária artéria intramurális kis arteriola szegmenseket, míg nőstény állatok agyának eltávolítása után artéria cerebri anterior szegmenseket mikropreparáltunk. A szegmenseket 5% CO₂, 20% O₂ és 75% N₂ összetételű gázeleggyel buborékolattott, 37 °C-os normál Krebs-Ringer (nKR) oldatot tartalmazó szervfürdőbe (összetétel mM/L-ben: NaCl 119; KCl 4,7; NaH₂PO₄ 1,2; MgSO₄ 1,17; NaHCO₃ 24; CaCl₂ 2,5; glükóz 5,5 és EDTA 0,034) és szerv-pumpákhoz csatlakoztatott mikrokanülökre helyeztük. Az intraluminális nyomás változtatásával nyomás-átmérő jelleggörbe felvétel történt. A nKR-oldatot kalcium-mentes Krebs oldatra cserélve (összetétel mM/L-ben megadva: NaCl 92; KCl 4,7; NaH₂PO₄ 1,18; MgCl₂ 20; MgSO₄ 1,17; NaHCO₃ 24; glükóz 5,5; EGTA 2,0 és EDTA 0,025) az erek teljesen relaxált állapotában megismételtük a nyomás-átmérő jelleggörbe felvételt. A tranzilluminált szegmensekről videomikroszkóppal digitális képrögzítés történt, majd a külső és belső átmérőket (D_o és D_i) képanalizáló programok segítségével mértük.

Az átmérőkből, egyéb paramétereiből az erek morfológiai, geometriai és biomechanikai tulajdonságait számítottuk ki:

- Külső sugár/R_o (μm): $R_o = \frac{D_o}{2}$

- Belső sugár/R_i (μm): $R_i = \frac{D_i}{2}$

- Falvastagság/h (μm): $h = R_o - R_i$

- Falvastagság/Lumen átmérő hányados: $h - D = \frac{h}{D_i}$,

- Fal keresztmetszeti terület/A_w (μm²): $A_w = (R_o^2 - R_i^2) * \pi$

- Tangenciális falfeszülés/σ_{Tang} (kPa): $\sigma_{Tang} = \frac{p * R_i}{h}$,
p: intraluminális nyomás.

- Inkrementális elasztikus modulus/ E_{Inc} (LogkPa): $E_{\text{Inc}} = \frac{2R_i^2 * R_o}{(R_o^2 - R_i^2)} * \frac{\Delta P}{\Delta R_o}$,

ΔP : intraluminális nyomásváltozás

ΔR_o : a ΔP nyomásváltozásra bekövetkező külső sugárváltozás.

- Disztenzibilitás/ D (1/kPa): $D = \frac{\Delta V}{V * \Delta P}$,

ΔV : kezdeti V volumenhez képesti ΔP nyomásváltozásra bekövetkező lumen volumenváltozás.

- Miogén tónus: $\text{Miogén tónus (\%)} = \frac{R_{\text{Ca-free}} - R_{\text{NKR}}}{R_{\text{Ca-free}}} * 100$

3.4. Szövettan és Immunhisztokémia

A szegmensek másik része szövettani feldolgozásra került: Hematoxylin-Eosin (HE), Resorcin-fuchsin (RF) festett és natív metszetek készültek. Hím koronáriákon az oxidatív-nitratív markerek vizsgálatához immunhisztokémiai (IHC) 4-hidroxi-2-nonenál (HNE), Poli(ADP)-ribóz (PAR), 3-nitrotirozin (NT) festést és a simaizom réteg vizsgálatára α -simaizom aktin (α -SMA) festést is végeztünk. Metszetdigitalizálást követően HE-metszeteken simaizom sejtmagszámlálást, RF-metszeteken tunica media optikai denzitás vagy elasztikus rostdenzitás mérést végeztünk, IHC metszeteken pozitívan festődő területszázalékot, magyszámolást és nem-kalibrált optikai denzitás méréseket végeztünk képanalizáló programban.

3.5. Statisztikai analízis

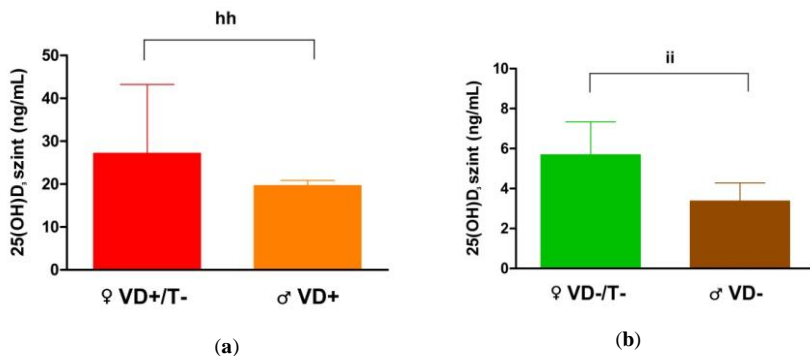
Normalitás tesztet követően, eloszlás függvényében vagy kétmintás t-próbát, vagy Mann-Whitney-U-tesztet, valamint varianciaanalízist (ANOVA) és Bonferroni vagy Tukey post hoc tesztet vagy Kruskal-Wallis és Dunn post hoc tesztet alkalmaztunk. Növekvő intraluminális nyomások esetében Repeated measures ANOVA és Bonferroni post hoc tesztet használtunk. Statisztikailag szignifikáns eltérésnek $p < 0,05$ értéket fogadtunk el. Az adatokat Átlag \pm SEM vagy Medián [IQR] formában adtuk meg.

4. Eredmények

4.1. Kezelés validálás, Vérvizsgálás

Kezeléseink sikeresen modellezték a D-vitamin deficiencia állapotát mindkét nemből (25(OH)D₃ szintek ng/mL-ben: ♂ VD+: 19,66 ± 0,81; ♂ VD-: 3,59 ± 0,21; ♀ VD+/T-: 32,328 ± 4,49; ♀ VD+/T+: 33,106 ± 4,46; ♀ VD-/T-: 6,044 ± 0,63; ♀ VD-/T+: 6,006 ± 0,68). Transzdermális tesztoszteron-kezeléssel nőstényekben biokémiai hiperandrogenizmust értünk el (szérum össz-T szintek ng/mL-ben: ♀ VD+/T-: 0,311 ± 0,16; ♀ VD+/T+: 4,292 ± 0,56; ♀ VD-/T-: 0,720 ± 0,16; ♀ VD-/T+: 5,495 ± 0,56).

Ugyanazon D-vitamin-pótlás protokoll szignifikánsan magasabb 25(OH)D₃ szinteket eredményezett nőstényekben a hímekhez képest, míg a D-vitamin-mentes táplálás hímekben szignifikánsan alacsonyabb 25(OH)D₃ szinteket okozott a nőstényekhez képest [1. ábra (a) és (b)].



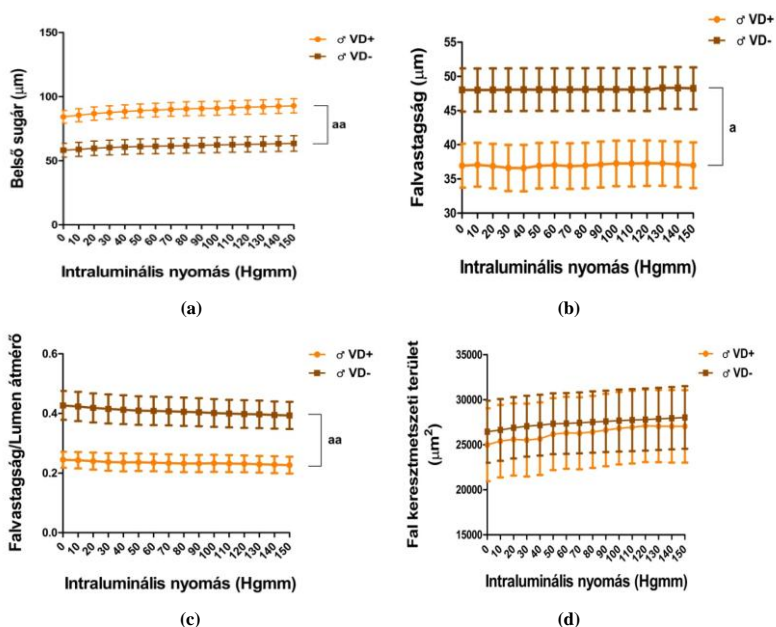
1. ábra. 8. heti 25(OH)D₃ szintek (ng/mL) a D-vitamin-pótlott (VD+) és D-vitamin hiányos (VD-) nőstény és hím csoportokban (a) Nőstény és hím D-vitamin-pótlott csoportok 25(OH)D₃ szintje (n=10-11, y-tengely: 0-50 ng/mL), ♀ VD+/T- vs. ♂ VD+: hh: p<0,01. (b) Nőstény és hím D-vitamin hiányos csoportok 25(OH)D₃ szintje (n=10-10, y-tengely: 0-10 ng/mL), ♀ VD-/T- vs. ♂ VD-: ii: p<0,01.. Mann-Whitney-U-teszt. Medián [IQR].

A mért vérvizsgálóértékekben a hím csoportok és a nőstény csoportok között sem mutatkozott szignifikáns különbség.

4.2. Koszorúér arteriola szegmensek vizsgált jellemzői

4.2.1. Arteriola geometria

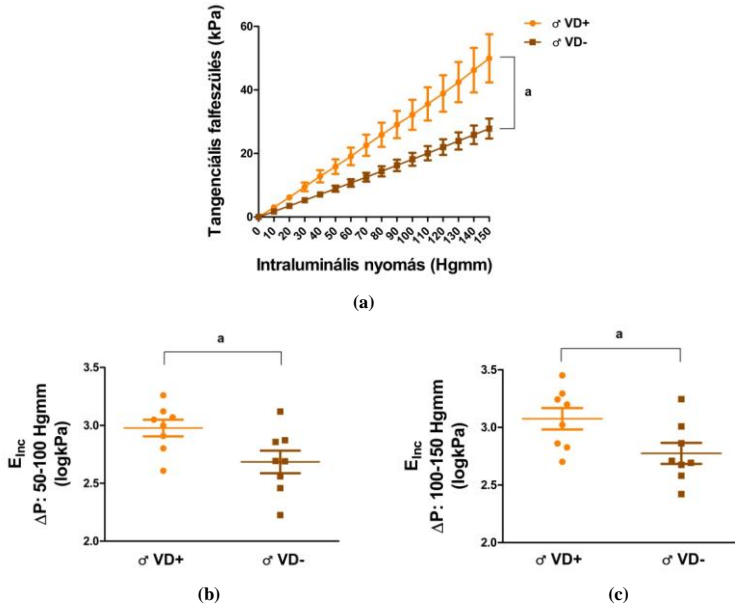
Hím D-vitamin deficiens csoportban szignifikánsan kisebb volt a belső sugár [2. ábra (a)], szignifikánsan nagyobb falvastagság és falvastagság/lumen átmérő hányados mutatkozott [2. ábra (b) és (c)], míg a fal keresztmetszeti területben nem volt különbség a két csoport között [2. ábra (d)].



2. ábra. Hím koronária arteriola szegmensek geometriai tulajdonságai. (a) Belső sugár (μm , $n=8-8$); (b) Falvastagság (μm , $n=8-8$); (c) Falvastagság/lumen átmérő hányados ($n=8-8$) és (d) Fal keresztmetszeti terület (μm^2 , $n=7-7$) kalcium-mentes oldatban 0-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Bonferroni. Átlag \pm SEM. ♂ VD+ vs. ♂ VD-: a: $p<0,05$; aa: $p<0,01$.

4.2.2. Arteriola elaszticitás

A tangenciális fal feszülés, valamint az inkrementális elasztikus modulus szignifikánsan csökkent a hím D-vitamin deficiens csoportban [3. *ábra (a), (b) és (c)*].

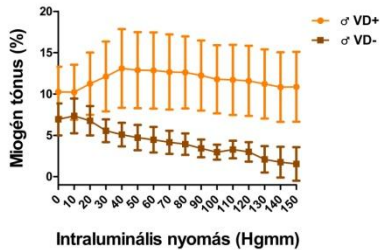


3. *ábra.* Hím koronária arteriola szegmensek elaszticitás tulajdonságai. (a) Tangenciális fal feszülés (kPa) 0-150 Hgmm nyomástartományon; (b-c) Inkrementális elasztikus modulus (logkPa, n=8-8) (b) 50-100 és (c) 100-150 Hgmm intraluminális nyomástartományokon passzív állapotban. Repeated measures ANOVA, Bonferroni. Kétmintás t-próba. Átlag \pm SEM. ♂ VD+ vs. ♂ VD-: a: $p < 0,05$.

A disztenziabilitásban nem mutatkozott szignifikáns különbség a két csoport között.

4.2.3. Miogén tónus

Hím D-vitamin deficiens koronária arteriolák magasabb nyomáson nem voltak képesek tartani a miogén tónusukat, habár ez a különbség nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét, azonban egy csökkenő tendencia megfigyelhető [4. ábra].

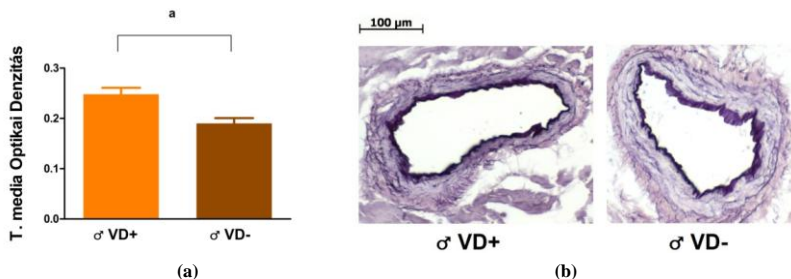


4. ábra. Hím koronária arteriola szegmensek spontán tónusa (%; n=6-6). Repeated measures ANOVA, Bonferroni. Átlag \pm SEM. n. s.

4.2.4. Szövettan

HE-festett metszeteken a tunica media réteg simaizom sejtmagok számában és az RF-festett metszeteken vizsgált tunica intima/tunica media területszázalékban nem mutatkozott különbség.

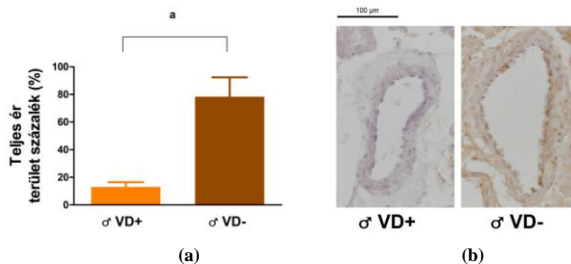
Elasztikus rostfestett metszeteken a tunica media réteg optikai denzitása szignifikánsan alacsonyabb volt a hím D-vitamin deficiens csoportból származó erekben [5. ábra (a) és (b)].



5. ábra. Hím koronária arteriolák szövettani tulajdonságai. (a) Tunica media optikai denzitás (n=4-4) RF-festett metszeteken vizsgálva. Mann-Whitney-U-teszt. Medián [IQR]. σ VD+ vs. σ VD-: a: p < 0.05; (b) Reprezentatív képek Resorcin-Fuchsin-festett hím patkány koronária arteriola szegmensekről csoportonként. Fekete skála: 100 μ m.

4.2.5. Immunhisztokémia

Egy oxidatív stressz és lipid peroxidációs marker (HNE) szintjében szignifikáns emelkedés igazolódott a hím D-vitamin deficiens csoportban [6. *ábra* (a), (b)]. Nem mutatkozott szignifikáns különbség egyéb oxidatív-nitratív markerekben (PAR, NT) és az α -simaizom aktin (α -SMA) expresszióban.

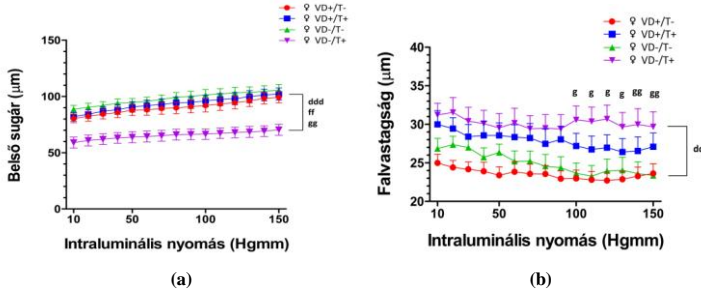


6. *ábra.* Anti-4-hidroxi-2-nonenál (HNE) immunhisztokémiai festés eredményei. (a) Anti-HNE antitestre pozitívan festődő területszázalék. Mann-Whitney-U-teszt. Medián [IQR], n=5-4. ♂ VD+ vs. ♂ VD-: a: $p < 0,05$; (b) Reprezentatív képek hím patkány koronária arteriola szegmensek HNE immunhisztokémiai festődéséről. Fekete skála: 100 μ m.

4.3. Agyi artéria szegmensek vizsgált jellemzői

4.3.1. Artéria szegmens geometria

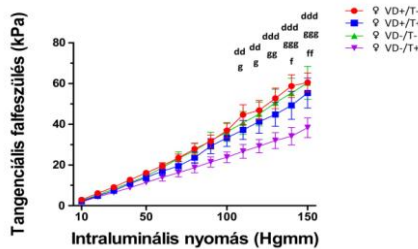
Nőstény D-vitamin deficiens, tesztoszteron-kezelt (♀ VD-/T+) állatokból származó agyi érszegmenseknek szignifikánsan kisebb belső sugara és szignifikánsan nagyobb falvastagsága volt mindhárom másik csoporthoz képest [7. ábra (a) és (b)].



7. ábra. Artéria cerebri anterior arteriola szegmensek geometriai tulajdonságai. (a) Belső sugár (µm, n=11/csoport); (b) Falvastagság (µm, n=11/csoport) kalcium-mentes oldatban 10-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag ± SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: dd: p<0,01; ddd: p<0,001; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T+: ff: p<0,01; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD-/T-: g: p<0,05, gg: p<0,01.

4.3.2. Artéria szegmens elaszticitás

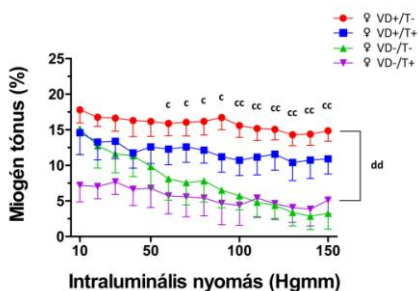
D-vitamin deficiens, tesztoszteron-kezelt nőstény (♀ VD-/T+) csoportban szignifikánsan kisebb tangenciális falfeszülés mutatkozott három másik csoporthoz képest [8. ábra], míg az inkrementális elasztikus modulusban és a disztenziabilitásban nem mutatkozott szignifikáns különbség a csoportok között.



8. ábra. Artéria cerebri anterior szegmensek tangenciális falfeszülése (kPa, n=11/csoport) kalcium-mentes oldatban 10-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag ± SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: dd: p<0,01, ddd: p<0,001; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD-/T-: g: p<0,05, gg: p<0,01, ggg: p<0,001; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T+: f: p<0,05, ff: p<0,01.

4.3.3. Miogén tónus

D-vitamin deficiens és hiperandrogén állapot (♀ VD-/T+) nőstény agyi erekben szignifikánsan csökkent miogén tónust eredményezett, valamint magasabb intraluminális nyomásokon a D-vitamin deficiens tesztoszteron-mentes csoportban is szignifikánsan csökkent miogén tónus mutatkozott a dupla kontroll (♀ VD+/T-) csoporthoz képest [9. ábra], a görbe jellege hasonló a hím D-vitaminhiányos koronáriák miogén tónusához [9. ábra és 4. ábra].

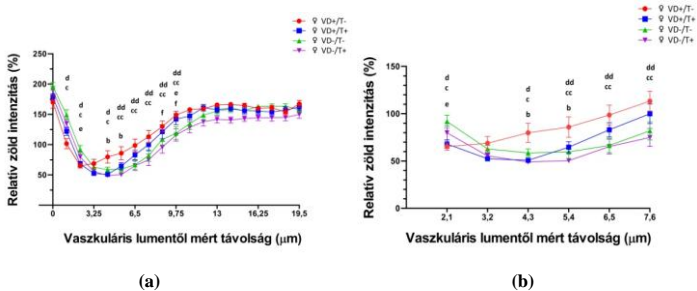


9. ábra. Artéria cerebri anterior szegmensek miogén tónusa (%; n=11/csoport) kalcium-mentes oldatban 10-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag ± SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: dd: p<0,01; ♀ VD-/T- vs. ♀ VD+/T-: c: p<0,05, cc: p<0,01.

4.3.4. Szövettan

RF-festett metszeteken a relatív zöld intenzitás szignifikánsan csökkent a belső elasztikus membrán rétegben D-vitaminhiányos csoportokban, függetlenül a tesztoszteron-kezeléstől (♀ VD-/T+ és ♀ VD-/T-). A tesztoszteron-kezelés is befolyásolta a réteg felépítését: Tesztoszteron-kezelt D-vitamin-pótoló csoportban (♀ VD+/T+) szignifikánsan csökkent a zöld intenzitás a dupla kontroll (♀ VD+/T-), a D-vitaminhiányos tesztoszteron-kezelésben nem részesült (♀ VD-/T-) és tesztoszteron-kezelt csoportokhoz képest (♀ VD-/T+).

A relatív zöld intenzitás ellentétje a viola színűre festődött elasztikus rostok denzitásának, tehát mindkét károsító hatás jelenléte – a D-vitamin deficiencia és a tesztoszteron-kezelés is – növelte a belső elasztikus membrán denzitását [10. ábra (a) és (b)].



10. ábra. Artéria cerebri anterior szegmensek elasztikus membrán denzitása (%), n=6/csoport) **(a)** Relatív zöld intenzitás (%) az endotheliális felszíntől radiális irányba mérve. **(b)** Relatív zöld intenzitás a belső elasztikus membránban. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag ± SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: **d**: p<0,05, **dd**: p<0,01; ♀ VD-/T- vs. ♀ VD+/T-: **c**: p<0,05, **cc**: p<0,01; ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD+/T-: **b**: p<0,05; ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T-: **e**: p<0,05; ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T+: **f**: p<0,05.

Az agyi arteriolák keresztmetszeti területében nem mutatkozott szignifikáns különbség a csoportok között.

5. Következtetések

Kísérleteink során az alábbi kérdésekre kerestünk válaszokat:

- 1) *Eltérő D-vitamin ellátottság – különösen a D-vitamin deficiens állapot – hatással lehet-e létfontosságú szervek (szív, agy) vérellátásáért felelős artériák kisebb szegmenseinek geometriai, érbiomechanikai és viszkoelasztikus szövettani jellemzőire, azok adaptációs mechanizmusaira?*

A D-vitaminhiány hím koronária erekben csökkent belső sugarat, megnövekedett falvastagságot és falvastagság-lumenátmérő hányadost eredményezett, változatlan fal keresztmetszeti területtel. Nőstény D-vitaminhiányos hiperandrogén agyi erekben is csökkent belső sugár, megnövekedett falvastagság mutatkozott változatlan fal keresztmetszeti területtel. Funkcionális jellemzőket tekintve hím koronáriákban csökkent a tangenciális feszülés és az inkrementális elasztikus modulus, míg nőstény agyi erekben szintén csökkent tangenciális feszülés, azonban változatlan inkrementális modulus, és csökkent miogén tónus volt azonosítható. D-vitaminhiányos nőstény agyi erekben e változások csak részben jelentkeztek.

Eredményeink belső eutrófiás remodelling kialakulását bizonyítják nemtől és érégtől függetlenül, amelyet nemtől függően részben eltérő funkcionális károsodások kísértek. Változatlan vérnyomás mellett az elváltozások prehipertenzív eltéréseknek tekinthetők.

- 2) *A lehetséges hatások, változások, károsodások háttérében milyen kezdeti pathomechanizmusok állhatnak és léteznek-e szervek és nemek közti vagy a nemi hormonok hatásai közti esetleges különbségek?*

Szövettani vizsgálatok során hím D-vitaminhiányos koronária erekben a tunica media réteg Resorcin-Fuchsin optikai denzitása csökkent, azonban a simaizom sejtmagszámban és α -SMA expresszióban nem volt különbség. Nőstény agyi erekben a D-vitamin hiányállapot és a hiperandrogén állapot együtt és külön-külön is az erek belső elasztikus membrán dezitálásának növekedését eredményezte.

Tehát az elasztikus komponensek a két nemben eltérő módon változtak: feltételezhető, hogy a két nemben és a kétfajta érégióban különbözik a pathomechanizmus: hím nemben elasztikus komponensek csökkenése, míg nőnemben a kóros elasztin felhalmozódás okozhatta az azonosított morfológiai és funkcionális változásokat.

- 3) *A férfi nem fokozott kardiovaszkuláris rizikója miatt hím nem esetében a szív közvetlen vérellátásáért felelős koronária arteriolák vizsgálata során az oxidatív-nitratív stressz szerepet játszhat-e a feltételezett változások, károsodások létrejöttében?*

Hím D-vitaminhiányos koszorúerek szegmenseinek oxidatív-nitratív paramétereit vizsgálva egy lipid peroxidációs marker, a HNE szintje szignifikánsan megemelkedett, míg a PAR és NT szintekben nem mutatkozott különbség. Az azonosított változások háttérében feltételezhető, hogy hím nemből az iniciális lipid peroxidáció és oxidatív károsodás is szerepet játszik a pathomechanizmusban.

- 4) *A D-vitamin deficiencia különböző állatmodellekben való szerepeltetése, valamint nőstény állatokban az androgén hormonhatás és a D-vitaminhiány kölcsönhatás vizsgálatának érdekében egy kiegészítő, Policisztás Ovárium Szindróma-állatmodellben a hiperandrogenizmus és D-vitamin ellátottság/-hiány befolyásolja-e nőstény agyi erek morfológiai-biomechanikai-szöveti tulajdonságait?*

D-vitaminhiányos hiperandrogén nőstény agyi erekben morfológiai remodelling és funkcionális károsodások jelentkeztek, míg D-vitaminhiányos nőstényekben e változások csak részben mutatkoztak (miogén tónus eszkkenés, belső elasztikus membrándenitáció fokozódás). D-vitamin-pótoló hiperandrogén nőstényekben egyedül a belső elasztikus membrándenitáció fokozódás volt kimutatható.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a D-vitamin és az androgén hormonhatások közt kapcsolat áll fenn. D-vitaminhiány és hiperandrogenizmus együttes fennállása női nemből markáns morfológiai-funkcionális károsodásokat eredményezett agyi kisereken, míg megfelelő D-vitaminszintek esetében – a hiperandrogén állapot ellenére – ezen elváltozások nem vagy minimális mértékben jelentkeztek.

Feltételezhető női nemből a D-vitaminhiány és a hiperandrogén állapot additív negatív hatása.

Összegzésképpen szeretném felhívni a figyelmet a D-vitamin státusz meghatározásának (25(OH)D₃ szint mérés), valamint a meglévő D-vitamin hiányállapot rendezésének fontosságára mindkét nemből!

6. Saját publikációk jegyzéke

Disszertáció alapját képező közlemények:

- 1) **Sziva RE**, Fontányi Z, Pál É, Hadjadj L, Monori-Kiss A, Horváth EM, Benkő R, Magyar A, Heinzlmann A, Benyó Z, Nádasy GL, Várbíró S. (2020) Vitamin D Deficiency Induces Elevated Oxidative and Biomechanical Damage in Coronary Arterioles in Male Rats. *Antioxidants* (Basel), 9(10): 997.
IF = 5,014 *
- 2) Hadjadj L, Pál É, Monori-Kiss A, **Sziva RE**, Korsós-Novák Á, Horváth EM, Benkő R, Magyar A, Magyar P, Benyó Z, Nádasy GL, Várbíró S. (2019) Vitamin D deficiency and androgen excess result eutrophic remodeling and reduced myogenic adaptation in small cerebral arterioles in female rats. *Gynecol Endocrinol*, 35(6): 529-534.
IF = 1,571

Disszertáció témájától független közlemények:

- Lajtai K, Tarszabó R, Bányai B, Péterffy B, Gerszi D, Ruisanchez É, **Sziva RE**, Korsós-Novák Á, Benkő R, Hadjadj L, Benyó Z, Horváth EM, Masszi G, Várbíró S. (2021) Effect of Vitamin D Status on Vascular Function of the Aorta in a Rat Model of PCOS. *Oxid Med Cell Longev*, 2021: 8865979
IF = 5,076 *
- Sipos M, Péterffy B, **Sziva RE**, Magyar P, Hadjadj L, Bányai B, Süli A, Soltész-Katona E, Gerszi D, Kiss J, Szekeres M, Nádasy GL, Horváth EM, Várbíró S. (2021) Vitamin D Deficiency Cause Gender Specific Alterations of Renal Arterial Function in a Rodent Model. *Nutrients*, 13(2): 704
IF = 4,546 *

- Lajtai K, Nagy CT, Tarszabó R, Benkő R, Hadjadj L, **Sziva RE**, Gerszi D, Bányai B, Ferdinandy P, Nádasy GL, Giricz Z, Horváth EM, Várbíró S. (2019) Effects of Vitamin D Deficiency on Proliferation and Autophagy of Ovarian and Liver Tissues in a Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome. *Biomolecules*, 9(9): 471.
IF = 4,082
- Hadjadj L, Monori-Kiss A, Horváth EM, Heinzlmann A, Magyar A, **Sziva RE**, Miklós Z, Pál É, Gál J, Szabó I, Benyó Z, Nádasy GL, Várbíró S. (2019) Geometric, elastic and contractile-relaxation changes in coronary arterioles induced by Vitamin D deficiency in normal and hyperandrogenic female rats. *Microvasc Res*, 122: 78-84.
IF = 2,730
- Hadjadj L, Várbíró S, Horváth EM, Monori-Kiss A, Pál É, Karvaly GB, Heinzlmann A, Magyar A, Szabó I, **Sziva RE**, Benyó Z, Buday M, Nádasy GL. (2018) Insulin resistance in an animal model of polycystic ovary disease is aggravated by vitamin D deficiency: Vascular consequences. *Diab Vasc Dis Res*, 15(4): 294-301.
IF = 2,357

ÖSSZESÍTETT IMPAKT FAKTOR (2021.04.16.):

E IF = 25,376

(*: Várható IF értékek)