

**A mikrovaszkuláris reaktivitás és az oxidatív stressz vizsgálata
hipertóniás serdülőkben és hemodializáltakban**

Ph.D. tézis

Monostori Péter Pharm.D.

Gyermekgyógyászati Klinika
Szent-Györgyi Albert Klinikai Centrum, Szegedi Tudományegyetem

Szeged

2010

RÖVIDÍTÉSEK

ACH	Acetilkin
BMI	Testtömegindex
CAT	Kataláz
E-CAT	Vörösvértest kataláz
E-MDA	Vörösvértest malondialdehid
ESA	Eritropoezis-stimuláló ágens
E-SOD	Vörösvértest szuperoxid-dizmutáz
FMD	Áramlás-mediált dilatáció
GSH	Redukált glutation
GSSG	Oxidált glutation
GSSG/GSH	Oxidált/redukált glutation hányados
Hb	Hemoglobin
HD	Hemodialízis; hemodializált
HDL	Magas denzitású lipoprotein
LDF	Lézer Doppler flowmetria (laser Doppler flowmetry)
LDI	Lézer Doppler szkener (laser Doppler imaging)
LDL	Alacsony denzitású lipoprotein
PORH	Posztokkluzív reaktív hiperémia
PWV	Pulzushullám terjedési sebesség
SOD	Szuperoxid-dizmutáz

1. BEVEZETÉS

1.1. Oxidatív stressz patológiás állapotokban

A reaktív oxigén és nitrogén vegyületek a normál sejtmetabolizmus részeként fontos szerepet játszanak számos fiziológiás folyamatban. A sejt egyensúlyt tart fenn a prooxidáns és antioxidáns anyagok között, amelyet “redox egyensúlynak” vagy “redox homeosztázisnak” neveznek. A reaktív vegyületek magas koncentrációja elleni védelemért enzimatis antioxiánsok (így a szuperoxid-dizmutáz (SOD), a kataláz (CAT), a glutation-peroxidáz és a peroxiredoxin–tioredoxin–tioredoxin-reduktáz rendszer) és nem enzimatis antioxiánsok (például a redukált glutation (GSH), az alfa-tokoferol (E-vitamin), a húgysav és más vegyületek) felelősek.

Az oxidatív stressz a redox (prooxidáns-antioxiáns) egyensúly prooxidáns irányba való eltolódását jelenti, amely a nukleinsavak, lipidek és fehérjék potenciális károsodásához vezet. A fenti biomolekulák oxidatív módosulása kimutatható számos kardiovaszkuláris (pl. hipertónia, obezitás és ateroszklerózis), renális (krónikus veseelégtelenség és végstádiumú vesebetegség) és pulmonáris kórképben (így asztmában és cisztás fibrózisban), valamint rákban és diabetesben. Ezek a módosult molekulák a betegségek patofiziológiájában szereplő oxidatív/nitrozatív károsodások biomarkerei lehetnek.

A fiatalkori hipertónia definíciója az egészséges gyermekekben meghatározott vérnyomás normál eloszlásán alapul, és az életkor, nem és testmagasság szerinti 95 percentilt meghaladó szisztolés és/vagy diasztolés vérnyomást értjük alatta (legalább három különböző alkalommal mérve). A gyermek- és serdülőkori hipertónia prevalenciája 2006-ban 3% körüli volt, és emelkedő tendenciát mutatott, amelynek hátterében részben az obezitás magas prevalenciája áll. A vérnyomás és a testsúly gyermekkori és felnőttkori értéke összefüggést mutat, amely rámutat a gyermekkori hipertónia és túlsúly jelentőségére.

A serdülőkori túlsúly prevalenciája megközelítően 5 és 20% között változik, pontos értéke geográfiai és etnikai tényezőktől, valamint magának az obezitásnak a definíciójától függ. A gyermekkori túlsúly jellemzésére leggyakrabban használt

mérőszám a testtömegindex (BMI) annak ellenére, hogy a BMI csak indirekt módon becsüli az elhízottság mértékét. Mivel gyermekekben a BMI értékét jelentősen befolyásolja az életkor és a nem, percentileket, vagy életkortól és nemtől függő határértékeket használnak a gyermekkori túlsúly és obezitás meghatározására.

A túlsúly és a hipertónia kapcsolata komplex, magában foglalja többek között a szimpatikus és a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer aktiválódását, és számos metabolikus és érrendszerre ható folyamatot (ilyen az inzulin rezisztencia, a nitrogén monoxid elérhetőség és a renális nátrium exkrécio csökkenése, valamint a lipidek és az endothelin-1 plazmaszintjének emelkedése). A fenti változások háttérében részben az obezitásban megfigyelhető hiperleptinémia és leptin rezisztencia áll. Korábbi vizsgálatainkban kimutattuk, hogy fiatalkori hipertóniában az oxidatív stressz fokozódása a testsúlytól függetlenül megfigyelhető, illetve hogy egy rövid időtartamú antihipertenzív kezelés hatására az oxidatív stressz és az endothel diszfunkció markerei eltérő módon változnak normál testsúlyú és obez hipertóniás serdülőkben. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a normál testsúllyal és a túlsúllyal társult fiatalkori hipertónia patomechanizmusa eltér.

A krónikus veseelégtelenség és a végstádiumú vesebetegség gyakorisága növekvő tendenciát mutat, amelyben szerepet játszhat az ezekhez az állapotokhoz vezető betegségekben, elsősorban a diabetesben szenvedők nagyobb száma. A klasszikus kardiovaszkuláris rizikófaktorok (pl. diabetes, hipertónia és diszlipidémia) mellett az urémiával összefüggő további kockázati tényezők is jelen vannak, így a krónikus volumenexpanzió, a gyulladás, az oxidatív stressz és az anémia. Az urémia maga is prooxidáns állapot, és az oxidatív stressz mértéke a vesefunkció romlásával együtt nő. A hemodialízis (HD) kezelés - az urémiás toxinok és a folyadékfelesleg eltávolítása révén kifejtett kedvező hatásán túl - ismétlődő oxidatív hatást jelenthet. Az anémia a krónikus veseelégtelenség és a végstádiumú vesebetegség gyakori kísérője, amely hozzájárul a HD betegek emelkedett morbiditásához és mortalitásához. Az anémia korrekciójában alapvető szerepet játszanak az eritropoiesis-stimuláló ágensek (ESA), a vas és az adjuváns vitaminok, továbbá HD betegek esetén a dialízis optimalizálása. Az ESA-kezelés kezdetén kialakuló (E-vitamin egyidejű adásával megelőzhető) prooxidáns

hatással ellentétben a hosszú távú ESA-terápia esetén antioxidáns hatásról számoltak be, amelynek a mechanizmusa nem teljesen tisztázott.

1.2. Az érrendszer vizsgálata patológiás állapotokban

A makrovaszkuláris rendszer vizsgálatára kifejlesztett számos technika közül a klinikai gyakorlatban az egyik legelterjedtebb az *artériás merevség (stiffness) vizsgálata*. A carotis-femoralis pulzushullám terjedési sebesség (PWV; “gold-standard” az artériás merevség vizsgálatában) emelkedik az obez és a komplikációmentes esszenciális hipertóniában szenvedő felnőtt személyekben, valamint HD betegekben, és független rizikótényezőként szerepel az összmortalitás, a kardiovaszkuláris morbiditás, a koronária események és a stroke előrejelzésében. Az alkari vénás okklúziós *pletizmográfiát* gyakran a kar teljes leszorítását követő felengedéssel (posztokklúzív reaktív hiperémia (PORH) teszt), illetve az arteria brachialis katéterezésével együtt használják. A módszer segítségével korábbi tanulmányokban igazolták az arteria brachialis endothel funkciójának csökkenését hipertóniás és HD-kezelt felnőttek esetén. Az *arteria brachialis áramlás-mediált dilatációjának (FMD)* vizsgálatakor az artéria átmérőjének a PORH teszt, vagy szublingvális nitroglicerinnel történő változását mérik vaszkuláris ultrahang segítségével. Az FMD csökkent obez gyermekekben és HD betegekben. Az arteria brachialis FMD csökkenése prognosztikus értékű felnőtt hipertóniás betegek emelkedett kardiovaszkuláris rizikójának becslésében.

A “mikrokeringés” definíciója elsődlegesen az érfiziológián, és nem az ér átmérőjén vagy szerkezetén alapul. A mikrokeringésbe tartozónak azokat az ereket tekintik, amelyek a növekvő nyomásra a lumen átmérőjének miogen csökkenésével válaszolnak. Ez a definíció magában foglalja a kapillárisokon és venulákon kívül a legkisebb artériákat és arteriolákat is.

A *lézer Doppler flowmetria (laser Doppler flowmetry (LDF))* és a *lézer Doppler szkener (laser Doppler imaging (LDI))* a mikrovaszkuláris funkció noninvazív vizsgálatára kifejlesztett módszer. A technika alapja a monokromatikus lézertényező mozgó vörsejtekkel való kölcsönhatásakor bekövetkező szóródása és frekvenciaeltolódása. A lézer Doppler módszerek a mikrovaszkuláris perfúziót (flux) mérik, amely a mozgó vörsejtek sebességéből és koncentrációjából származtatott mennyiség. Az LDI

esetén egy szabad lézernyaláb pásztázza végig a vizsgált felületet, amelynek eredménye a perfúzió kétdimenziós képe. Az LDF lehetővé teszi a flux folyamatos monitorizálását a bőr egy adott pontján, nagyobb szenzitivitást biztosít, és segítségével a perfúzió gyors változásai is követhetők. A technika relatíve nagy (vizsgálati hely szerinti és időbeli) variabilitása miatt a mikroerek provokációs tesztekre adott válaszát vizsgálják a bazális flux mérése helyett. Ilyen teszt a hőmérséklet változtatása (lokális vagy szisztémás melegítés vagy hűtés), a vazóaktív anyagok iontoforézissel történő bejuttatása, a PORH teszt, illetve ezek kombinációja.

Több tanulmány szerint a bőr mikrovaszkuláris rendszerének lézer Doppler módszerrel mért reaktivitása korrelál más érterületek eltérő módszerrel (pl. arteria brachialis FMD vagy transthoracalis koronária echokardiográfia segítségével) meghatározott funkciójával. A mikrovaszkuláris rendszer funkciójának csökkenése HD betegek esetén mind az endothel-dependens, mind az –independens vazodilatációt érinti. Ezzel szemben felnőtt hipertóniásokban csak az endothel-dependens reaktivitás érintett, az endothel-independens funkció megtartott. Annak ellenére, hogy az LDF módszer kifejezetten alkalmas gyermekek és serdülők vizsgálatára (a mérés egyszerű és fájdalommentes volta miatt), vizsgálatainkat megelőzően nem állt rendelkezésre adat a fiatalkori esszenciális hipertóniás betegek mikrovaszkuláris funkciójáról.

1.3. Célok

1. Fiatalkori esszenciális hipertóniában megfigyelhető-e a mikrovaszkuláris reaktivitás változása? Csökken vagy fokozódik a mikrovaszkuláris reaktivitás? Az endothel-dependens vagy az –independens reaktivitás változik?
2. Eltér-e a mikrovaszkuláris reaktivitás különböző BMI esetén serdülőkorú hipertóniásokban?
3. Korrelál-e az oxidatív stressz a mikrovaszkuláris reaktivitással fiatalkori hipertóniás és HD-kezelt betegekben?
4. Befolyásolja-e az ESA típusa és a kezelés felfüggesztése az oxidatív stresszt HD betegekben?

2. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

2.1. A mikrovaszkuláris reaktivitás vizsgálata – lézer Doppler flowmetria

A mikrovaszkuláris reaktivitási vizsgálatokat légkondicionált szobában (24 °C), délelőtt 9 óra és dél között végeztük, az alanyok éhgyomri állapotban voltak, vízszintes helyzetben. Tizenöt perces akklimatizációt követően a jobb (HD betegekben a Cimino fisztulával ellentétes oldali) alkar bőrfelszínének voláris oldalát alkohollal gyengéden megtisztítottuk. A mikrovaszkuláris perfúziót a bőr két pontján (távolság: 6-8 cm) folyamatosan monitorizáltuk egy DRT4 lézer Doppler készülék segítségével (a lézer hullámhossza: 780 nm, Moor Instruments Ltd., Axminster, UK). Az optikai szondák (DP12-V2) a melegítő szondákba (SHP2) illeszkednek, amelyek pedig az iontoforézis kamrákba illeszthetők (ION1, felület: 0.71 cm²; mindegyik Moor Instruments Ltd., Axminster, UK). Ez az elrendezés lehetővé teszi a perfúzió mérését az iontoforézis és lokális melegítési teszt segítségével vizsgált bőrfelületen. A szondákat szőrszálaktól és sérülésektől mentes bőrfelületre helyeztük. MIC2 iontoforézis készüléket (Moor) használtunk acetilkolin (ACH; endothel-dependens értágító) és nitroprusszid nátrium (SNP; endothel-independens értágító) bejuttatásához (mindkettő Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). A két anyag izotóniás sóoldattal, frissen készített 1-1%-os oldatának iontoforézise párhuzamosan, külön ionkamrák segítségével történt (1-es, illetve 2-es mérési pont). A lokális bőrhőmérsékletet SH02 készülék (Moor) segítségével az iontoforézis teszt alatt 33 °C-os állandó értéken tartottuk, majd azt követően 44 °C-ra emeltük.

Az LDF protokoll részeként 4 percig mértük a nyugalmi perfúziót, majd iontoforézist alkalmaztunk három egymást követő, növekvő dózisban (áramerősség: 20 μ A, időtartam: 20, 40 és 80 mp; amely 2,8 mC össz töltés nagyságot és 3,94 mC/cm² össz töltéssűrűséget jelent). Az iontoforézis dózisok között 4 perces, árammentes szakaszok voltak. A három dózist követő további 10 percnyi árammentes intervallum után a lokális bőrhőmérsékletet mindkét mérési ponton fokozatosan, 0,1 °C/mp ütemben 44 °C-ra emeltük. Ezt a hőmérsékletet 25 percen át tartottuk, amely maximális vazodilatációt eredményez.

A nyugalomban és a lokális melegítési teszt plató fázisában mért flux értékek meghatározását 60 mp-es intervallumok átlagolásával végeztük. Az iontoforézis dózisokra adott választ 20 mp-es intervallumok átlagolásával értékeltük. Minden perfúziót a nyugalmi érték százalékaként adtuk meg (nyugalmi érték=100%). A módszer variabilitása egészséges fiatal személyekben 15-25% között volt az iontoforézis teszt és a lokális melegítés esetében egyaránt.

Az LDF protokoll klinikai környezetben történő validálása 12 HD beteg mikrovaszkuláris reaktivitásának mérésével történt. A szakirodalomnak megfelelően mind az endothel-dependens, mind az –independens vazodilatáció jelentősen csökkent volt egészséges fiatal alanyokhoz viszonyítva (nem publikált adatok). A vizsgálati protokollt jól tolerálták az alanyok, és nem észleltünk nemkívánatos helyi (pl. fájdalom vagy kiterjedt hiperémia), vagy szisztémás hatást (vérnyomás-, pulzus- vagy légzésszám-változás) sem a betegek, sem a kontrollok esetén.

2.2. Laboratóriumi meghatározások

Az 1. vizsgálatban (Mikrovaszkuláris reaktivitás normál testsúlyú, túlsúlyos és obez hipertóniás serdülőkben) a vénás vérvétel az LDF mérések előtt történt. A 2. vizsgálatban (Eritropoezis-stimuláló ágens kezelés felfüggesztése és oxidatív stressz hemodializált betegekben) a dializáló szerelék artériás ágából nyert mintákat használtunk; a vérvétel a heti dialízisek közötti leghosszabb intervallumot követően (biokémiai meghatározások), illetve a hét második dialízise alkalmával végzett rutin vérvétel során történt (hematológiai paraméterek).

A teljes vér oxidált glutation (GSSG) és GSH mérése spektrofotometriás enzimatikus módszerrel történt. A plazma alfa-tokoferol és vörösvértest malondialdehid (E-MDA) meghatározását HPLC és látható-ultraibolya detektor segítségével végeztük. A plazma alfa-tokoferol koncentrációját a totál koleszterin plusz triglicerid szintekhez viszonyítva adjuk meg. A vörösvértest SOD (E-SOD) és CAT (E-CAT) aktivitásokat spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg; az aktivitásokat a minta spektrofotometriásan mért fehérje tartalmához viszonyítjuk. A totál koleszterin, a magas és az alacsony denzitású lipoprotein (HDL és LDL) koleszterin és a trigliceridek plazmaszintjét, valamint a hemoglobin (Hb) szinteket, a retikulociták arányát, a

transzferrin szaturáció értékét és a ferritin koncentrációkat standard laboratóriumi módszerekkel határoztuk meg.

2.3. Vizsgálati csoportok

2.3.1. Mikrovaszkuláris reaktivitás normál testsúlyú, túlsúlyos és obez hipertóniás serdülőkben (1. vizsgálat)

A hipertóniát az életkor, nem és testmagasság szerinti 95 percentilt meghaladó szisztolés és/vagy diasztolés, oszcillometriás ABPM készülékkel (Meditech ABPM-04, Budapest) mért 24 órás vérnyomásként definiáltuk. A hipertónia szekunder okai (veseparenchimás, renovaszkuláris, endokrinológiai, kardiológiai vagy neurológiai) kizárásra kerültek. Proteinuriát (>10 mg/kg/nap) vagy a vesefunkció romlását (kreatinin clearance <80 ml/perc/1,73 m²) nem észleltünk a betegekben. Az esszenciális hipertónia diagnózisának a Szegedi Tudományegyetem Gyermekgyógyászati Klinikáján történő felállítását követően 33 fő (6 és 19 év közötti) serdülőt vontunk be a vizsgálatba. Közülük 10 beteg BMI-je normális volt (normál testsúlyú hipertóniás (LH) csoport). Tizenhárom serdülő került a túlsúlyos hipertóniás (OWH) és 10 beteg az obez hipertóniás (OBH) csoportba a gyermekkori túlsúlynak és obezitásnak az International Obesity Task Force által meghatározott, életkor és nem szerinti határértékei alapján. A kontroll csoportba 19 egészséges serdülő (szegedi középiskolás) került, akiknél kardiovaszkuláris vagy renális eltérésre utaló jel nem volt található. Kizáró ok volt minden csoportban az akut betegség, a dohányzás, illetve olyan gyógyszerek szedése (a megelőző 5 napban) vagy italok fogyasztása (a megelőző napon), amelyről ismert, hogy befolyásolja a mikrovaszkuláris perfúziót. Fizikális vizsgálattal és kvalitatív vérkép alapján az alanyokban nem volt igazolható akut gyulladás vagy szisztémás fertőzés. A vizsgálatot megelőzően a betegek, a kontrollok és a szülei írásos nyilatkozatban egyeztek bele a vizsgálatban való részvételbe, amelyet a Szegedi Tudományegyetem Etikai Bizottsága jóváhagyott.

2.3.2. Eritropoezis-stimuláló ágens kezelés felfüggesztése és oxidatív stressz hemodializált betegekben (2. vizsgálat)

Huszonegy HD beteget vontunk be ebbe a vizsgálatba. A betegek heti háromszor 4 órás bikarbonát dialízise (dializáló membrán típusa: Polyflux 21L) két különböző reggeli műszakban történt (11 beteg: életkor (átlag) \pm SD 59,3 \pm 17,7 év, dialízisben töltött idő: 3,6 \pm 2,0 év; illetve 10 beteg: életkor 56,6 \pm 13,6 év, dialízisben töltött idő: 4,3 \pm 2,1 év). A single-pool Kt/V 1,4-nél nagyobb volt az irányelveknek megfelelően. A HD alatt antikoagulánsként heparint használtak. A primer diagnózisok krónikus glomerulonephritis, krónikus pyelonephritis és hipopláziás vese voltak. A vizsgálatba bevont betegek egyikénél sem szerepelt a hipertónia vagy a diabetes etiológiai tényezőként. Tizenöt beteg állt amlodipinnel, enalaprillel, metoprolollal vagy prazosinnal végzett antihipertenzív kezelés alatt. További, a betegek egy része által használt gyógyszerek a következők voltak: nátrium poliszitirén szulfonát, sevelamer, klopidogrel, acetilszalicilsav és famotidin. Minden beteg 5 mg folsavat kapott hetente egy alkalommal. A diabeteses betegeket kizártuk a vizsgálatból. Rendszeres fizikális vizsgálattal az alanyokban nem volt igazolható akut gyulladás vagy szisztémás fertőzés a vizsgálat alatt.

A vizsgálatot megelőzően betegek heti kétszeri epoetin beta kezelésben részesültek. A kezelési stratégia részeként az utóbbi 10 beteg kezelését darbepoetin alfa-ra tervezték váltani a jelen vizsgálatról függetlenül. Az epoetin beta kezelést 14 napra felfüggesztették, amelyet követően az ESA-kezelést epoetin beta (11 beteg, dózis: 5000 IU hetente kétszer) vagy darbepoetin alfa (10 beteg, dózis: 50 μ g hetente egyszer a hét első dialízise után) adásával folytatták, melyet szubkután bólus injekcióban kaptak a dialízis végén. Ha egy beteg transferrin szaturációja 30% alatt volt, 62,5 mg vas glükonát adására került sor intravénásan, öt egymást követő dialízis kezelés alkalmával. A vizsgálatot megelőzően a betegek beleegyező nyilatkozatot írtak alá, amelyet a Szegedi Tudományegyetem Etikai Bizottsága jóváhagyott.

2.4. Statisztikai analízis

Az eredményeket medián (range), illetve átlag \pm SD formában közöljük (1., illetve 2. vizsgálat). A statisztikai analíziseket GraphPad Prism 4.00 szoftver (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) segítségével végeztük. Az alkalmazott statisztikai módszerek a következők voltak: nemparaméteres Kruskal-Wallis teszt Dunn-féle többszörös összehasonlítási teszttel (1. vizsgálat), illetve ismétléses kétszemponos variancia-analízis Bonferroni-féle *post hoc* teszttel (2. vizsgálat). Mindkét vizsgálat esetén a 0,05-nél kisebb *p* értéket tekintettük szignifikánsnak.

3. EREDMÉNYEK

3.1. Mikrovaszkuláris reaktivitás normál testsúlyú, túlsúlyos és obese hipertóniás serdülőkben (1. vizsgálat)

A HDL koleszterin plazmaszintje szignifikánsan nagyobb volt az LH csoportban, és szignifikánsan alacsonyabb az OBH betegekben (mindkettő $p < 0,05$ a kontrollokhöz képest). A plazma triglicerid szintek az OWH és az OBH betegekben emelkedettek voltak a kontrollokhöz viszonyítva ($p < 0,05$, illetve $p < 0,01$). Az OBH csoportban mért plazma HDL koleszterin és triglicerid szintek az LH alanyokhoz viszonyítva is emelkedést mutattak ($p < 0,01$, illetve $p < 0,05$). Az átlagéletkor, a diasztolés vérnyomás, valamint a totál és LDL koleszterin hasonló volt a csoportokban.

A teljes vér oxidált/redukált glutation hányadosok (GSSG/GSH) szignifikánsan emelkedettek voltak mindhárom betegcsoportban ($p < 0,001$ vs kontrollok). Az OBH alanyok esetén mért GSSG/GSH hányadosok magasabbak voltak az LH csoportbeli értékeknél ($p < 0,05$). Az E-CAT aktivitása nagyobb volt az OWH betegekben, mint a kontrollokbán ($p < 0,05$). A (totál koleszterin plusz triglicerid szinthez viszonyított) plazma alfa-tokoferol és az E-MDA koncentrációja, valamint az E-SOD aktivitása hasonló volt a vizsgálati csoportokban.

Ami a lézer Doppler flowmetria méréseket illeti, az ACH (endothel-dependens értágító) iontoforézisét követően mért perfúzió növekedés nem tért el szignifikánsan a betegcsoportokban a kontrollokhöz képest. Ezzel szemben az SNP (endothel-independens értágító) második dózisa után a flux szignifikánsan kisebb mértékben nőtt

az LH csoportban, mint a kontrollokbán (482,5% (157,0-842,0%) vs 847,0% (432,0-1708,0%); $p<0,05$). A harmadik SNP dózist követően hasonló különbségek voltak láthatók a kontrollokhöz viszonyítva az LH és az OBH csoportok esetében egyaránt (797,5% (270,0-1100,0%) vs 1195,0% (674,0-1774,0%), illetve 744,0% (390,0-1207,0%) vs 1195,0% (674,0-1774,0%); mindkettő $p<0,05$).

A 44 °C-os lokális melegítés hatására a mikrovaszkuláris perfúzió növekedése az 1-es mérési pont esetében hasonló relatív flux értéknél tetőzött minden csoportban. A 2-es mérési pontnál szignifikánsan kisebb flux növekedés volt mérhető az LH és az OBH csoportokban, mint a kontrollokbán (1257,0% (585,0-1649,0%) vs 1870,0% (1029,0-2970,0%), illetve 1188,0% (693,0-1815,0%) vs 1870,0% (1029,0-2970,0%); mindkettő $p<0,05$). A vizsgálati protokollt jól tolerálták a betegek, nemkívánatos helyi vagy szisztémás hatást nem észleltünk.

3.2. Eritropoezis-stimuláló ágens kezelés felfüggesztése és oxidatív stressz hemodializált betegekben (2. vizsgálat)

A Hb szintek a 6. vizsgálati héten a kiindulási értéknél alacsonyabbak voltak mindkét csoportban ($p<0,05$), és a 14. hétre a kezdeti szintre tértek vissza. A retikulocita arány a 2. héten alacsonyabb, a 6. és a 10. héten magasabb volt, mint a vizsgálat kezdetén (mindegyik $p<0,05$). A csoportokat egymással összehasonlítva egyik paraméterben sem volt különbség. A transferrin szaturációk és a ferritin szintek nem változtak egyik csoportban sem.

A GSSG/GSH hányadosok a 2. és a 6. héten szignifikánsan emelkedettek voltak mindkét csoportban (mindegyik $p<0,001$ az alapértékhez viszonyítva), de a 14. hétre a kiindulási szintre csökkentek. Hasonló tendencia volt látható a GSSG koncentrációk esetén. A GSH szintek a 14. héten mindkét csoportban emelkedettek voltak ($p<0,001$ a kiindulási értékhez képest). Az E-MDA koncentrációk a 6. heti emelkedést követően ($p<0,01$ vs kezdeti szintek) a 14. hétre visszatértek az alapértékre. Az E-SOD aktivitás a 6. héten mindkét betegcsoportban a kiindulási szinthez képest csökkent volt ($p<0,001$), és a 14. hétre az alapértékre tért vissza. A 14. heti E-CAT aktivitások mindkét csoportban emelkedettek voltak ($p<0,001$ az alapértékhez képest).

4. KONKLÚZIÓK ÉS EREDETI FELISMERÉSEK

1. Az endothel-dependens mikrovaszkuláris reaktivitás nem mutat szignifikáns csökkenést normál testsúlyú, túlsúlyos és obez hipertóniás serdülőkben. Ez arra utal, hogy a fiatalkori esszenciális hipertónia patogenezisében az endothel-dependens mikrovaszkuláris reaktivitás romlása a vérnyomás emelkedését követően, és nem azt megelőzően alakulhat ki.
2. Az endothel-independens vazodilatáció szignifikánsan kisebb az LH és az OBH csoportokban a kontrollokhoz képest, ellentétben az OWH betegeknél tapasztaltakkal.
3. A mikrovaszkuláris reaktivitás nem korrelál az oxidatív markerek szintjével, bár az oxidatív stressz fokozódása mindhárom hipertóniás csoportban igazolható.
4. A fokozott oxidatív stressz jeleként a GSSG/GSH hányados szignifikáns emelkedése figyelhető meg HD betegek epoetin beta kezelésének felfüggesztése után.
5. A GSSG/GSH hányadosok, valamint a GSSG és E-MDA szintek szignifikánsan magasabbak, az E-SOD aktivitások pedig szignifikánsan alacsonyabbak az alapértékhez képest a darbepoetin alfa vagy epoetin beta kezelés folytatását követően 4 héttel.
6. A GSSG/GSH hányadosok, valamint a GSSG és E-MDA koncentrációk a kiindulási szintre térnek vissza a 12 hetes követés végére, párhuzamosan a GSH szintek és az E-CAT aktivitások emelkedésével.
7. A Hb és az oxidatív markerek szintjének ellentétes irányú változása, valamint a különböző ESA készítményekkel történő kezelés során az oxidatív változások időbeli lefolyásának és nagyságának hasonlósága arra utal, hogy a megfigyelt változások hátterében az anémia korrekciójával összefüggő faktorok állnak elsődlegesen, és nem az ESA direkt hatása. A hipotézis igazolására további vizsgálatok szükségesek.

5. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm feleségemnek, Dr. Farkas Ildikónak, hogy mindig velem van. Köszönöm a szeretetét, barátságát, őszinteségét, az inspirációt, a türelmét és folytonos támogatását a tudományos életben és azon túl.

Köszönet szüleimnek és rokonaimnak a kitartásukért és a megnyugtató légkörért, barátaimnak és kollégáimnak a barátságukért és a tudományos beszélgetéseikért, Szécsi Ilona és Fábiánné Nagy Ágota asszisztensöknek kiváló laboratóriumi munkájukért,

Dr. Hódi Eszternek és Dr. Máté Adriennek a mikrovaszkuláris reaktivitás mérésében való részvételükért és a hasznos beszélgetéseikért,

Dr. Szöllősiné Varga Ilonának és Dr. Hracskó Zsuzsannának az antioxidáns enzimek meghatározásában nyújtott segítségükért és tanácsaikért,

Dr. Farkas Katalinnak (Szent Imre Kórház, Budapest) és Peter Jady-nek (Moor Instruments Ltd., Axminster, UK) a lézer Doppler technika részleteibe való bevezetésért,

Dr. Karg Eszternek és Dr. Wittmann Gyulának a tudományos bátorításért, tudásukért és példamutató gondolkodásmódjukért,

Prof. Dr. Németh Ilonának, hogy első témavezetőmként kutatásaimban bátorított,

Prof. Dr. Túri Sándornak, hogy a Gyermekgyógyászati Klinikán kutatásokat folytathattam, és hogy a folyamatos tudományos konzultációkkal és a kísérletekhez szükséges minden feltétel biztosításával segített,

és a vizsgálatban résztvevő minden betegnek, kontrollnak és szüleiknek, akik nélkül ezek az eredmények nem születhettek volna meg.

Ezt a munkát az OTKA K67895 és a Magyar Nephrologiai Társaság Kutatás-fejlesztési Pályázata támogatta.

A TÉZISHEZ KAPCSOLÓDÓ CIKKEK

- I. **Monostori P**, Baráth A, Fazekas I, Hódi E, Máté A, Farkas I, Hracskó Z, Varga IS, Sümegi V, Gellén B, Bereczki C, Túri S. **Microvascular reactivity in lean, overweight, and obese hypertensive adolescents.** Eur J Pediatr. 2010; 169: 1369-1374. **IF=1,634 (2009)**
- II. **Monostori P**, Hracskó Z, Karg E, Varga IS, Kiss Z, Boros T, Kiss É, Haszon I, Papp F, Sümegi V, Bereczki C, Túri S. **Erythropoiesis-stimulating agent withdrawal and oxidative stress in hemodialysis.** Clin Nephrol. 2009; 71: 521-526. **IF=1,373**

A TÉZISHEZ KAPCSOLÓDÓ ABSZTRAKTOK

- I. **Monostori P**, Barath A, Fazekas I, Hodi E, Mate A, Hracsko Z, Karg E, Varga IS, Sumegi V, Gellen B, Bereczki C, Turi S. Examination of microvascular reactivity in juvenile essential hypertension and haemodialysis. Acta Biol Szeged. 2009; 53(Suppl 1): 60-61.
- II. Turi S, **Monostori P**, Barath A, Fazekas I, Hodi E, Mate A, Hracsko Z, Karg E, Varga IS, Sumegi V, Gellen B, Bereczki C. Examination of microvascular function in lean and overweight hypertensive adolescents. Pediatr Nephrol. 2008; 23: 1659.
- III. Turi S, **Monostori P**, Hracsko Z, Boros T, Kiss E, Karg E, Varga IS, Haszon I, Sumegi V, Bereczki C. Alteration of oxidative stress during the erythropoietin therapy and its transient withholding in haemodialyzed patients. Pediatr Nephrol. 2008; 23: 1647.
- IV. **Monostori P**, Hracskó Z, Boros T, Kiss É, Karg E, Varga IS, Haszon I, Sümegi V, Bereczki C, Túri S. The effects of darbepoetin alfa and epoetin beta on oxidative stress in chronic haemodialysis patients. NDT Plus, 2008 June; 1: ii376.
- V. **Monostori P**, Hracskó Zs, Karg E, Varga IS, Haszon I, Papp F, Sümegi V, Bereczki Cs, Túri S. Effects of a short-term suspension of erythropoietin therapy on oxidative stress during a 12-week follow-up in chronic haemodialysis patients. Pediatr Nephrol 2007; 22: 1459.

A TÉZISHEZ NEM KAPCSOLÓDÓ CIKKEK

- I. **Monostori P, Wittmann Gy, Karg E, Túri S. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples: an in depth review. J Chromatogr B 2009; 877: 3331-3346. IF=2,777**
- II. **Farkas I, Maróti Z, Katona M, Endreffy E, Monostori P, Máder K, Túri S. Increased heme oxygenase-1 expression in premature infants with respiratory distress syndrome. Eur J Pediatr. 2008; 167: 1379-1383. IF=1,416**
- III. **Baráth Á, Túri S, Németh I, Haszon I, Bereczki Cs, Monostori P. Eltérő pathomechanizmus a serdülőkori esszenciális és obesitas-indukálta hipertóniában. Metabolizmus 2007; 5: 100-105. IF=–**
- IV. **Baráth Á, Túri S, Németh I, Bereczki Cs, Gellén B, Haszon I, Monostori P. Different pathomechanisms in essential and obesity-associated hypertension in adolescents. Pediatr Nephrol. 2006; 21: 1419-1425. IF=2,007**
- V. **Monostori P, Karg E, Bereczki Cs, Gellén B, Haszon I, Túri S. Akut fizikai aktivitás hatása esszenciális hypertóniában szenvedő serdülők glutation-rendszerére. Orvostudományi Értesítő, 2006; 79: 211-216. IF=–**