

***A TROMBOCITA FUNKCIÓ ÉS AZ OXIDATÍV STRESSZ
VIZSGÁLATA PERIFÉRIÁS ÉRBETEGEKEN***

PHD TÉZISEK

Kürthy Mária

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Vezető: Prof. Dr. Komoly Sámuel egyetemi tanár
Program és témavezető: **Prof. Dr. Róth Erzsébet**

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Sebészeti Oktató és Kutató Intézet
Pécs, 2008

Tartalomjegyzék:

Rövidítések jegyzéke:

ADP	adenozin difoszfát
ATP	adenozin trifoszfát
CABG	coronary artery bypass grafting
CAT	kataláz
COX	ciklooxygenáz
DAG	diacilglicerol
DNS	dezoxiribonukleinsav
DTNB	5,5-ditiobisz-2-nitrobenzoesav
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
GP	glikoprotein
GPx	glutathion peroxidáz
GSH	redukált glutathion
HDL	magas denzitású lipoprotein
ICAM-1	intercelluláris adhéziós molekula-1
IP ₃	inozitol trifoszfát
IR	inzulin rezisztencia
LDL	alacsony denzitású lipoprotein
MLC	myosin light chain kinase
mRNS	messenger RNS
NO	nitrogén monoxid
NSAID	nem szteroid gyulladásgátló gyógyszerek
OCS	open canalicular system
P47	pleckstrin
PAD	peripheral arterial disease
PAF	platelet activating factor
PAI-1	plazminogén aktivátor inhibitor-1
PDGF	platelet derived growth factor
PGG ₂	prostaglandin G ₂
PGH ₂	prostaglandin H ₂
PGI ₂	prostaglandin I ₂ ,
PIP ₂	foszfatidil difoszfát
PLA ₂	Foszfolipáz A ₂
TCT	trombocita
PMA	phorbol-12-mirisztát-13-acetát
PPP	platelet poor plasma
PRP	trombocita dús plazma (platelet rich plasma)
RNS	reaktív nitrogén species
ROS	reaktív oxigén species
SE	Standard error of mean
SOD	szuperoxid dizmutáz
T ₁ DM	1-es típusú diabétesz mellitusz
T ₂ DM	2-es típusú diabétesz mellitusz
TGF	transforming growth factor
TIA	transient ischemic attack
TRIS	2-amino-2-hidroxi-metil-propán-1,3-diol,
TS	tromboxán szintáz
TXA ₂	tromboxán A ₂
Xox	xantin oxidáz
vWF	von Willebrand faktor

1. BEVEZETÉS:

1. 1. A perifériás artériás érbetegség:

A perifériás artériás érbetegség (peripheral arterial disease: PAD) az átlagéletkor emelkedésével az emberiség egyre nagyobb hányadát érinti.

Magyarországon az összes halálozási ok 51%-a érbetegség eredetű. A PAD 20%-ban fordul elő az ötven év feletti felnőtt lakosság körében. Hazánkban évi 270000-es angiológiai ambuláns forgalom mellett 42 ezer az érbetegség miatt kórházban ápolott betegek száma és ebből 34000 beteg kerül műtétre. Országosan évente 6-7000-re tehető az amputációk száma.

A perifériás artériás obliteratív arterioszklerózisnak, a koronária szklerózisnak és a karotisrendszer obliteratív megbetegedésének alapját azonos komplex kórfolyamatok képezik. Így nem meglepő, ha a PAD-ban szenvedő betegek fokozott mértékben vannak kitéve a kardiovaszkuláris és cerebrovaszkuláris történéseknek. A PAD sürgősségi, vagy elektív rekonstrukciós műtétei során jelentős mértékű iszkémia reperfüziós (I/R) károsodással is számolni kell. A súlyosan iszkémiás végtag keringésének helyreállítása mindmáig kockázatos. A reperfüziós károsodások kivédése, és a szöveti oxidatív stressz csökkentése alapvetően fontos a teljes klinikai restitúció eléréséhez.

Diabétesz mellitusban szenvedő betegeknél a PAD előfordulása is gyakoribb, mint a nem diabéteszesek betegek esetében. A diabétesztől kísért perifériás artériás érbetegségek még súlyosabb következményekkel járnak, mint ahogy az metabolikusan egészséges személyeknél tapasztalható. Arra azonban csak elvétve találtunk adatokat, hogy vannak-e különbségek az 1-es és 2-es típusú diabéteszes (T₁DM, T₂DM) perifériás érbeteggek trombocita (TCT) funkciója, illetve prooxidáns/antioxidáns státusza között.

1. 2. A trombociták általános jellemzői fiziológiás és patofiziológiás körülmények között

A trombociták a hemosztázis rendszer fő komponensei. Szerepet játszanak hemosztázis fenntartásában a gyulladás és az immunválasz modulálásában, a sebgyógyulásban, és a szöveti regenerációban. Baktericid hatással is rendelkeznek, valamint fagocitózisra is képesek, de a trombusképződéssel járó betegségek patomechanizmusában is fontos szerepet töltenek be.

A trombocita aggregáció legfontosabb aktivátorai, az adenosin difoszfát (ADP), a kollagén, trombin, az 5-hidroxitriptamin (5-HT) és a tromboxán A₂ (TXA₂).

A tromboxán szintézis plasztikus növekedését írták le, többek között instabil anginában, ami arra utal, hogy a vérlemezkék aggregációját a spontán iszkémia is fokozza.

ADP-függő aggregáció stabil anginában fokozottabb, és az akut koronária szindróma, valamint az angina velejárója az is, hogy az NO donorok aggregáció gátló hatása gátolt, vagy meg is szűnik. Érelmeszesedés, koszorúsér betegség, cukorbetegség, magasvérnyomás betegség, hiperkoleszterinémia, dohányzás fokozott trombocita aggregációhoz vezet.

Diabéteszes betegek koszorúsér betegsége extenzivebb és súlyosabb, mint ahogy az a metabolikusan egészséges pácienseknél tapasztalható. Az endotélium normális esetben kontroll alatt tartja a trombociták reaktivitást a COX₂, a PGI₂, illetve a prosztanoid szintetizáló rendszer egyensúlyán keresztül. A gyulladásban levő endotélium azonban a trombociták kitapadását segíti elő, melyhez endoteliális oldalon az intracelluláris adhéziós molekula - 1 (intercellular adhesion molecule: ICAM-1: ICAM-1), trombocita oldalon pedig az $\alpha_2\beta_3$ integrin sejtfelszíni expressziója is hozzájárul. Az adhézió során az aktivált trombociták inflammatórikus és mitogén faktorok egész arzenálját juttatják

mikrokörnyezetükbe, befolyásolva ezzel az endoteliális sejtek kemotaktikus, adhezív és proteolitikus sajátosságait. Patológiás esetben a TCT gyorsan reagál az endotélium sejtjeinek változásaira (plakk ruptúra, „fatty streak”) és a szubendoteliális rétegek expozíciójára. Familiáris hiperkoleszterinémiás betegek trombocitái egy sor agonistára érzékenyebben reagálnak. Hiperkoleszterinémiás betegek magas trombomodulin szinttel rendelkeznek (ugyanazt a jelenséget esszenciális hipertenzióban is leírták, csakúgy, mint a fokozott trombin képzést). A β -thrombomodulin szint emelkedése felgyorsítja a vérlemezkék „turnover”-ét.

A hiperkoleszterinémiás betegek megváltozott TCT-funkciójának felfedezése során kimutatták, hogy az LDL koleszterin prokoaguláns hatású.

Összefoglalóan megállapítható, hogy számos betegség jár együtt TCT hiperaggregabilitással, amikoris a trombociták számára olyan környezet alakul ki, melyben a fiziológias szabályzó mechanizmusok nem, vagy eltérően működnek.

A trombocita funkció tanulmányozása a vaszkulaturát érintő kórképekben, ígéretes prevenciós és terápiás eredményeket hozhat, ezért is vállalkoztunk jelen munkánkban a TCT funkció és a megváltozott antioxidáns/prooxidáns státusz kölcsönhatásának tanulmányozására perifériás verőérbetegeken.

1. 3. Az iszkémia reperfüziós károsodások biológiája

Az I/R károsodás releváns probléma trombózis, embólia, miokardiális infarktus, sztrók, koszorúsér „bypass” műtétek, ballon angioplasztika, trombolízis, alsó végtagi revaszkularizációs beavatkozás és minden olyan eset után, amikor az érpálya egy szegmense kizáródik a keringésből (vagy sebészeti úton kizárják), majd újból megnyílik, illetve megnyitják. Az érpálya elzáródását és következményes iszkémiát okozhatja embólia, sztenotikus arteriopátia, vagy trauma következtében kialakuló artériás trombózis, artéria spazmus, külső kompresszió, de létrejöhet anatómiai rendellenesség következtében is. Az erek ellátási területén az elzáródás ideje alatt iszkémia és acidózis alakul ki, mely az érintett terület sejtjeit súlyosan károsítja, vagy elpusztítja. A megmaradt szövetek alkalmazkodnak az oxigénhiányhoz, metabolizmusukat aerobról anaerobra állítva át, de végül ez a stratégia is szövetkárosodáshoz és pusztuláshoz vezethet. Az akut és a krónikus iszkémia során a szöveti károsodás mértéke függ a hipoxia időtartamától, az érintett szövetek mennyiségétől, és a páciens szisztémás artériás nyomásától.

Az elzáródott erekben a véráramlás helyreállítása mégsem veszélytelen, mivel ez elsősorban az érszakasz ellátási területén, de a szervezet egészére nézve is, térfogati, nyomási és metabolikus terhelést eredményez. A molekuláris patofiziológias kaszkád fő komponense a neutrofil aktiváció, és az ennek következtében megnövekedett szabadgyök produkció (reaktív oxigén és nitrogén species: ROS és NOS), valamint az érintett sejtekben az intracelluláris Ca^{2+} -szint növekedése. A reperfüzió korai periódusában fokozódik a proinflammatorikus citokinek, termelődése. Ezek együttesen fenyegetik a kulcsfontosságú makromolekulák (proteinek, lipidek és nukleinsavak) károsítása révén az egész szervezet integritását. Az ún. „oxigén paradoxon”, ennek a folyamatnak egyik legfontosabb patológiás velejárója, melynek kialakításában az oxigén szabadgyökök jelentős szereppel bírnak. A folyamat kimenetelét nagymértékben befolyásolja az antioxidáns-prooxidáns egyensúly megbomlásának mértéke.

A keringés újraindulásával tovább fokozódó magas intracelluláris Ca^{2+} szint a mitokondriumokban csökkenti az oxigén fiziológiásan domináló négyelektronos redukcióját. A normális körülmények között 2-3 %-ban jelen lévő egyelektronos redukció vízzé a többszörösére fokozódik. Így nagy mennyiségű, reakcióképes oxigén vegyületek (ROS): szuperoxid gyök (O_2^-), hidrogén-peroxid (H_2O_2) és hidroxil gyök (OH^\cdot) keletkezik, melyek létfontosságú enzimek és

receptorok működését befolyásolják. A többszörösen telítetlen zsírsavak károsítása révén fokozott lipidperoxidációt indítanak el, melynek következtében zsírsav peroxil gyökök és lipid peroxidok képződnek. Az önfenntartó reakció eredményeként lipid-lipid, lipid-protein, protein-protein diszulfid híd keresztkötések jönnek létre, illetve protein- és zsírsavhasadás történik. A folyamatokat tovább komplikálja az endogén antioxidánsok (pl szuperoxid dizmutáz, redukált glutation, stb) elégtelen mennyisége és aktivitása.

A végeredmény a kompartmentalizációt biztosító membránok integritásának elvesztése, a kontraktilis apparátus károsodása, a mitokondrium membrán energiatermelésének változása és az iontranszport működés sérülése. A károsodást fokozza a lipázok által felszabadított, de a légzési láncba bekapcsolódni nem tudó zsírsavak detergens hatása. A szövettani képet jellemzi a mitokondriális ödéma, a kromatin összecsapódás és a glikogén granulomok depléciója.

2. AZ ÉRTEKEZÉS CÉLKITŰZÉSEI:

Jelen dolgozat fókuszában a perifériás artériás érbetegek trombocita funkciójának, valamint prooxidáns/antioxidáns státusának vizsgálata áll. Vizsgálataink első sorozatában ezt sürgősségi (12 beteg) és elektív (10 beteg) érműtétek perioperatív időszakában monitoroztuk, és összefüggéseket kerestünk a trombocita funkció változása, valamint a műtétet követő antioxidáns/prooxidáns státuszban bekövetkező eltérések között. Az alapbetegséget mindkét csoportban számos társbetegség is kísérte (magasvérnyomásbetegség, diabétesz mellitus, dohányzás okozta tüdőkárosodás).

Ezért külön vizsgálatban tanulmányoztuk olyan perifériás artériás érbetegek trombocita funkcióját és antioxidáns prooxidáns státusát (összesen 46 beteg), akiknek egyestípusú (T₁DM; 24 beteg), illetve kettéstípusú diabétesz mellitus (T₂DM; 22 beteg) is társult a PAD mellé.

2. 1. Prospektív randomizált vizsgálatunk **első sorozatában** arra kerestünk választ, hogy a több órája fennálló, az alsó végtagot érintő iszkémia miatt sürgősségi revaszkularizációs verőér műtetre kerülő betegeken (**Akut** csoport) hogyan változik a beteg trombocita funkció, kétféle mérési technika (vérlemezkes plazmában transzmittancia, teljes vérben impedancia méréseken alapuló technika) alkalmazása mellett.

Ugyanezen betegeknél monitoroztuk a fehérvérsejtek szabadgyök termelését, valamint a betegek antioxidáns/prooxidáns státusát. A méréseket a műtét előtt, a műtét után 2 és 24 órával, valamint 1 hét múlva is elvégeztük, és a kapott eredményeket összehasonlítottuk tervezett revaszkularizációs műtetre kerülő betegek (**Elektív csoport**) megfelelő adataival. Kontrollként egészséges önkéntes véradókon mért értékeket használtuk.

Vizsgáltuk továbbá, hogy a műtét után mikor, és milyen mértékben áll helyre a fiziológiás trombocita funkció a két különböző betegcsoportban. Vizsgáltuk, hogy a trombocita funkció rendeződése egyúttjár-e az oxidatív stressz megszűnésével.

2. 2. Vizsgálataink **második sorozatában** célul tűztük ki, hogy 1-es és 2-es típusú, diabéteszben szenvedő perifériás artériás érbetegeken tanulmányozzuk a trombocita funkció és az antioxidáns/prooxidáns státusz változását, és ezek esetleges egymásra hatását.

Vizsgáltuk továbbá, hogy hosszú ideje fennálló T₁DM és T₂DM esetén van-e a diabétesz típusától függő különbség a trombocita funkcióban és az antioxidáns/prooxidáns státuszban perifériás artériás érbetegeken.

3. A TROMBOCITA FUNKCIÓ ÉS AZ OXIDATÍV STRESSZ MONITOROZÁSA ALSÓVÉGTAGI REVASZKULARIZÁCIÓS MŰTÉTEK SORÁN

3. 1. A vizsgálatokba bevont betegek:

A dolgozatban bemutatott vizsgálatokat a nemzetközi etikai szabályoknak megfelelően, a Magyar Egészségügyi Minisztérium 35/2005 (VIII.16) rendeletét betartva, a Pécsi Orvostudományi és Egészségtudományi Központ Regionális Kutatás-Etikai Bizottsága engedélyével végeztük. Az egészséges önkéntesek, akik az Országos Vérellátó Szolgálat Pécsi Regionális Központjának véradói voltak, szintén írásban egyeztek bele a vizsgálatokba.

A vizsgálatban résztvevő betegek a Baranya Megyei Kórház Sebészeti Tanszékén kerültek műtétre, a laboratóriumi méréseket a Sebészeti Oktató és Kutató Intézetében végeztük. Prospektív, randomizált, nyílt tanulmányunk első csoportjába felnőtt, kritikus végtagiszkémia miatt alsó végtagi revaszkularizációs műtétre kerülő betegeket vontunk be (**Akut, n = 12; 9 férfi, 3 nő**). A betegek átlagéletkora $58,1 \pm 7,3$ év volt. Az iszkémia oka 8 esetben embólia, egy esetben infrarenalis aorta aneurizma ruptura a többi esetben az ok femoralis szintű akut artériás trombózis volt. A másik betegcsoportot obliteratív artériás betegség következtében a femorális artéria szuperficiális régiójában kialakult, angiográfiai vizsgálatokkal és Doppler méréssel igazolt végtagiszkémia miatti elektív műtétre kerülő betegek alkották (**Elektív; n=10, 6 férfi és 4 nő**) átlagéletkor: $61,2 \pm 9,72$ év). Az iszkémia ideje $42,8 \pm 16,3$ percig tartott. **Kontroll** csoport a vizsgálatokba bevont **10 egészséges önkéntes** véradó volt.

3. 2. Mintavételi protokoll:

Perifériás vérmintákat vettünk, közvetlenül a műtét előtt, majd a műtétet követően 2 és 24 óra múlva, illetve 1 hét után. Az egészséges csoportban csak egy vérmintát vettünk.

3. 3. Alkalmazott módszerek:

- A trombocita funkció vizsgálata vérlemezkedés plazmában (PRP)

A trombocitákat differenciál centrifugálással különítettük el, alacsony fordulatszámon (120 g). Felülúszóként vérlemezkében gazdag plazmát (PRP) kaptunk. Ezt eltávolítva (ügyelve arra, hogy kizárólag trombocitákat izoláljunk), a maradékot magas fordulatszámon tovább centrifugáltuk (1000 g). A keletkezett felülúszó a trombocita szegény plazma (PPP), mely a mérések kontrolljául szolgált. A méréseket négycsatornás Carat TX4 aggregométerrel (Carat Diagnostic kft, Budapest), a minták folyamatos kevertetése mellett ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1000 rpm) végeztük, 450-450 μl térfogatban, a készülék használati utasítását követve. A PPP transzmisszióját 0%-nak, a PRP-ét 100%-nak véve adtuk meg az egyes mintákban az aggregáció mértékét, a maximális aggregáció (100%) %-ában kifejezve. Induktorként adenozin difoszfátot (ADP 5 és 10 μM) és kollagént (2 $\mu\text{g/ml}$) használtunk. A megadott normálérték az ADP (5 és 10 μM) esetében 62-92%, a kollagén (2 $\mu\text{g/ml}$) esetében 64-92% volt.

-A trombocita funkció vizsgálata teljes vérben:

Teljes vérben az Ingerman-Wojenski, és Silver által kifejlesztett, impedancia mérésen alapuló módszerrel vizsgáltuk a trombocita aggregációt, Chrono-Log típusú lumino-aggregométerrel. A mérésekhez trinátrium citráttal alvadást gátló, fiziológiás sóoldattal 1:1 arányban hígított (0.5 ml:0.5 ml) vénás vért használtunk. Az aggregációs görbe kialakulását

az induktor hozzáadása után 6 percig követtük kétsatornás direktíró készülékkel, 1 cm/perc papírsebesség mellett. Az aggregáció mértékét Ohmban fejeztük ki, a készülék belső kalibrációját használva viszonyításként, melyet minden esetben $20 \Omega = 40 \text{ mm-re}$ állítottunk be. Induktorként ADP-t ($5 \mu\text{M}$) és kollagént ($2 \mu\text{g/ml}$)használtunk.

- Prooxidánsok vizsgálata:

- Szabadgyök termelés meghatározása teljes vérből

A szabadgyök termelést trinátriumcitráttal alvadásgátolt teljes vérben vizsgáltuk, kemiluminometriás, kinetikus módszerrel lumino aggregométer segítségével (Chrono-Log). A szabadgyök képződést $0,2 \mu\text{g/ml}$ forbol-12-mirisztát-13-acetáttal (PMA), indukáltuk, miután regisztráltuk a minta háttér lumineszcenciáját. A keletkezett szabadgyököket luminol ($3,33 \mu\text{g/ml}$) hozzáadásával tettük mérhetővé, az értékeket kétsatornás direktíró segítségével rögzítettük. A kapott diagrammok alapján meghatároztuk az indukció és aktiváció között eltelt időt, a szabadgyök termelési görbe felszálló szárának meredekségét (arbitrális egység/sec) és a gyöktermelés fehérvérsejt számra vonatkoztatott maximumát (maximális szabadgyök produkció: arbitrális egység/ mm^3 -enkénti fehérvérsejt szám).

- Malondialdehid (MDA) meghatározás

A vörösvértestmembrán és a plazma MDA tartalmát, mint a lipidperoxidáció markerét standard fotometriás módszerrel, tiobarbitursav jelenlétében határoztuk meg.

- Mieloperoxidáz meghatározása plazmában:

Egy újabban megjelent tanulmány szerint a magas MPO szint jobb prediktora perifériás artériás érbetegekben a fokozott kardiovaszkuláris veszélyeztetettségnek, mint a C-reaktív protein. Standard fotometriás módszerrel határoztuk meg a mennyiségét.

- Antioxidánsok vizsgálata:

- Szuperoxid dizmutáz enzim aktivitás mérése hemolizátumban

A szuperoxid dizmutázok a legősibb fémtartalmú endogén antioxidáns enzimek, melyek rezet, cinket, mangánt, vasat és nikkelt tartalmazhatnak kofaktorként. Prokarióta és eukarióta szervezetekben egyaránt megtalálhatók.

A mérés alapelve, hogy a szövetekben, vérben, plazmában található SOD enzim gátolja az adrenalin átalakulását adrenochrommá (színes, fotometrálnálható komplex), mely standard kinetikus fotometriás módszerrel könnyen mérhető. A gátlás mértékéből (optimálisan 50%-os) a benne levő enzim mennyisége kiszámítható. Valójában azt határoztuk meg, hogy a mintánkban levő enzim aktivitása milyen koncentrációjú standard SOD oldat aktivitásának felelt meg.

- Redukált glutathion (GSH) meghatározás teljes vérből, és plazma proteinek szulfhidril csoportjainak (totál-thiol csoport) meghatározása

A GSH jelentős antioxidáns kapacitással rendelkezik, így pl regenerálni képes bizonyos tokoferol vegyületeket is. A plazma albuminja főleg thiol csoportjai révén a legjelentősebb extracelluláris antioxidáns molekula, melynek antioxidáns kapacitását számos körülmény befolyásolhatja. A plazmafehérjék antioxidáns kapacitását jellemeztük a plazma szulfhidril csoport koncentrációjának mérésével. Mind a GSH meghatározáshoz, mind a plazma proteinek szulfhidril csoportjainak meghatározásához standard fotometriás módszereket használtunk, melyeket 5,5'-dithiobis-2-nitro-benzoosav (DTNB) jelenlétében végeztünk.

3. 4. Statisztika:

A mérési eredményeket átlag \pm SE formában fejeztük ki. A kiindulási értékhez viszonyított eltéréseket egymintás Student-féle t-próbával számoltuk, míg a csoportok közötti különbséget kétmintás t-teszttel és ANOVA vizsgálattal határoztuk meg. A különbségeket $p < 0.05$ értéknél tekintettük szignifikánsnak.

3. 5. A vizsgálatok első sorozatának eredményei:

3. 5. 1. Trombocita aggregáció változása

3. 5. 1. 1. Aggregáció mérés vérlemezkedús plazmában:

Az izolált trombocitákon végzett aggregáció mérések lehetővé teszik, hogy a vér többi sejtjes elemének hatásától függetlenül vizsgáljuk a trombocita funkciót, és ellenőrizzük az aggregációgátló terápia hatékonyságát.

- Az ADP vel indukált aggregáció PRP-n

A **Kontroll** csoportban az ADP-vel indukált aggregáció mértéke a normál értéknek megfelelő volt (61-91%).

A betegcsoportokban a vizsgált időpontokban (műtét előtt, műtét után 2 órával, 24 óra múlva és 1 héttel később) a maximális aggregáció a két betegcsoportban nem mutatott különbséget egymáshoz képest, de mindkét esetben szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a **Kontroll** vérmintákban mért, és nem érte el a normál érték alsó határát. Azt eredmények alapján az aggregációgátló terápia a trombociták szintjén hatékonyak bizonyult.

- Kollagénnel indukált aggregáció PRP-n

Egészséges önkéntesek kollagénnel indukált aggregációja a normálértéknek megfelelő (64-92%) volt. A perifériás érbetegek értékei minden vizsgált időpontban ennél szignifikánsan alacsonyabbak voltak. A műtét után mindkét betegcsoportban átmeneti, nem szignifikáns csökkenést észleltünk a kiindulási értékhez képest. A vizsgálat egy hete alatt ez az érték az **Elektív** csoportban nem változott, míg az **Akut** csoportban visszaállt a műtét előtti szintre. A vizsgálatból megállapítható, hogy az aggregáció gátló terápia az izolált thrombocyták szintjén mindkét csoportban hatékonyak, és megfelelőnek bizonyult

3.5.1.2. Aggregáció mérés teljes vérben

-ADP-vel indukált aggregáció:

Az izolált trombocitákon a **Kontroll** csoport és a betegcsoportok között mért szignifikáns különbség teljes vérben már egyáltalán nem volt kimutatható. Az **Akut** csoportban a műtét előtt, a műtét után közvetlenül, és 24 óra múlva tapasztaltunk némi ingadozást az aggregáció mértékében, de a **Kontroll** csoporthoz képest a különbség már nem volt szignifikáns. Egy héttel a műtét után azonban szignifikáns, nagy mértékű aggregáció fokozódást mértünk, az összes korábban mért értékhez képest ($p < 0.001$).

A **Kontroll** csoportban az induktor hozzáadása és az aggregáció megindulása között egy perc telt el, míg az **Akut csoportban** a műtét előtt és a műtét után az induktor hozzáadása

után szinte azonnal megindult az aggregáció. Ugyan ezt tapasztaltuk a műtét után egy héttel is, ekkor azonban a görbe meredeksége is jelentősen nőtt

Az **Elektív** csoportban csak kismértékű, statisztikailag nem szignifikáns aggregáció fokozódás volt mérhető 1 héttel a műtét után

-Kollagénnel indukált aggregáció:

Az **Akut** csoportban mért aggregáció a műtét után kismértékű csökkenést mutatott a műtét előtt mért értékhez képest. A műtét után egy héttel azonban, az ADP-vel indukált aggregációhoz hasonlóan, az **Akut** csoport betegeinél jelentős, és statisztikailag szignifikáns aggregáció fokozódást tapasztaltunk, a csoporton belül valamennyi korábban mért értékéhez képest. A kollagénnel indukált aggregáció mértéke minden vizsgált időpontban szignifikánsan magasabb volt, mint a **Kontroll** és **Elektív** csoportokban mért érték ($p < 0.001$).

Az **Elektív** csoportban nem észleltünk hasonló változást.

3. 5. 2. Prooxidánsok:

- PMA-val indukált szabadgyök produkció

Az egységnyi fehérvérsejtszámra korrigált szabadgyök produkció tekintetében jelentős különbséget tapasztaltunk a két betegcsoport között. A hosszan fennálló iszkémia hatására az **Akut** csoportban már a műtét előtt szignifikánsan magasabb értékeket mértünk a gyöktermelést jellemző valamennyi általunk vizsgált paraméterben. A posztoperatív időszakban, pedig még ehhez a magas értékhez képest is fokozódott a keringő sejtek egységnyi fehérvérsejtszámra korrigált szabadgyök termelése. Ugyanakkor ebben a csoportban a fehérvérsejtszám is magasabb volt a normálértéknél és szignifikánsan különbözött a **Kontroll** csoport értékeitől. Így ebben a csoportban nem csak a magasabb fehérvérsejtszám miatt volt fokozottabb a szabadgyöktermelés, hanem az egyes fehérvérsejtek szabadgyök produkciója is emelkedett volt.

Az **Elektív** csoportban a kontroll csoporthoz képest, a fehérvérsejtszám, és a PMA-val indukált szabadgyök produkciót jellemző paraméterekben statisztikailag szignifikáns különbséget csak egy héttel a műtét után tapasztaltunk. A szabadgyök produkció indukálása és keletkezése között eltelt idő, minden időpontban csaknem megegyezett a **Kontroll** csoportban mérttel. A gyöktermelési görbe felszálló szárának meredeksége, és a gyöktermelés maximum értéke azonban, a **Kontroll** csoportban mérténél szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,05$, $p < 0,01$) egy héttel a műtét után.

Az **Akut** betegcsoportban az **Elektív**hez képest sokkal aktívabb, az indukáló impulzusra érzékenyebb és számban is több fehérvérsejt jelenlétével kell számolni.

- Hemolizátum és plazma MDA koncentráció vizsgálatának eredményei:

A többszörösen telítetlen zsírsavak oxigén szabadgyökök által okozott peroxidációja során keletkező egyik végtermék, a malondialdehid, mellyel a lipid peroxidáció mértékét jellemeztük. Hemolizátumban csak az **Elektív** csoport esetében találtunk szignifikáns emelkedést a műtét után a kiindulási értékhez ($p < 0.05$), és a **Kontroll** csoportban mért értékhez képest is ($p < 0.05$). Az **Akut** csoportban, a vizsgálati periódusban nem történt változás a hemolizátum MDA szintjében. Ebben a csoportban az MDA szint már a műtét előtt alacsonyabb volt, mint az **Elektív** csoportban mért, és **Kontroll** csoportban mérttől sem különbözött, és a műtét alatt is végig ezen az alacsony szinten maradt. Vizsgálatunkban a plazma MDA szintje változott szignifikánsan, a műtét után az **Akut**, és az **Elektív**,

csoportban is magasabb volt, mint a **Kontroll** csoportban mért ($p < 0.05$), de az elektív csoportban egy hét múlva visszatért a kiindulási értékre.

- Mieloperoxidáz szint:

A mieloperoxidáz szintet rutin vizsgálatokban nem szokásos meghatározni, de egy 2003-as tanulmány szerint a mellkasi fájdalomra panaszkodó betegeknél a miokardiális infarktus jó prediktora megemelkedett szintje. Egy újabban megjelent tanulmány szerint a magas MPO szint jobb prediktora perifériás artériás érbetegekben a fokozott kardiovaszkuláris veszélyeztetettségnek, mint a C-reaktív protein.

A jelen vizsgálatban is, mindkét beteg-csoportban szignifikánsan magasabb volt az MPO szint, mint a **Kontroll** csoportban. Az iszkémia és a korai reperfüzió alatt kismértékű csökkenést tapasztaltunk, mely csak az **Elektív** csoportban volt szignifikáns ($p < 0,01$). A műtét után egy héttel mindkét csoportban visszaállt a műtét előtt mért szintre

3. 5. 3. Antioxidánsok változása:

- Superoxid dizmutáz aktivitás:

A betegcsoportokban a SOD aktivitás már a műtét előtt szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a **Kontroll** csoportban. Az **Akut** csoportban pedig még az **Elektív** csoportban mértnél is szignifikánsan alacsonyabb értékeket detektáltunk ($p < 0,05$), melyek 24 órával a műtét után tovább csökkentek ($p < 0,05$ vs. műtét előtt, és $p < 0,001$ vs. **Kontroll**).

- A redukált glutathion mennyisége (GSH) és a vérplazma szulfhidril (-SH) csoportjainak koncentrációja

A GSH műtét előtti értékében a három csoport között nem volt különbség. A műtét után mindkét betegcsoportban átmeneti csökkenést tapasztaltunk. Egy héttel a műtét után azonban visszaállt a műtét előtti érték

A plazma totál -SH koncentrációja a GSH-szintekhez hasonlóan változott.

3. 6. Eredmények összefoglalása és következtetések:

A korábban iszkémiás szervek, és szövetek vérellátásának helyreállítása komplikációk egész sorát indítja el, melyek alapvetően két kategóriába sorolhatók: az egyik a regionális válasz, mely a volt iszkémiás szöveteket érinti, a másik, mely az iszkémiától távoli szervek, és szövetek károsodását okozza, többszervi elégtelenséget okozhat, az egész szervezetet veszélyezteteti és halálos kimenetelű lehet.

Annak ellenére, hogy az iszkémia-reperfüziós károsodás jelenségét csaknem ötven éve leírták, nincs pontos ismeretünk arról, hogy miként mediálódik, illetve hogyan lehet megelőzni, vagy kezelni.

Egyetértés van azonban abban a tekintetben, hogy a vázizom I/R sérülése direkt módon korrelál az iszkémia időtartamával és súlyosságával és az érintett szövetek mennyiségével.

Számos vizsgálatban tanulmányozták perifériás revaszkularizációs érműtétek során az aggregáció gátló terápia és az antikoagulánsokkal történő kezelés hatékonyságát, de ezen vizsgálatok többségében Doppler ultrahang mérésekkel és angiográfiával ellenőrizték a

műtét és a terápia effectivitását, így a trombocita funkcióról és a gyulladásoos reakciók lefolyásáról nem szolgáltatnak megfelelő adatokat.

Több mint 1400 beteget vizsgáltak multicentrumos vizsgálat során, az alsóvégtagot érintő kritikus végtagiszkémia miatti sztent graft beültetése utáni terápia hatékonyságának ellenőrzésére. Béta adrenerg receptor blokkoló, sztatin és aggregáció gátló kezelés hatékonyságát vizsgálták az egy éves mortalitásra. Egyedül a statinkezelés javította szignifikáns módon a túlélést.

Abban a néhány vizsgálatban, mely kritikus végtagiszkémia során célul tűzte ki a trombocita funkció monitorozását, arra a következtetésre jutottak, hogy az aspirin kezelés a proatherogén kemokin expressziót, és a TCT aggregáció markereit nem képes csökkenteni ezeknél a betegeknél.

Vizsgálataink középpontjában a revaszkularizációs perifériás érműtétek által előidézett I/R károsodás állt. Az aggregábilítás monitorozására, ADP-t és a kollagént használtunk induktorként.

Vizsgálataink újnak tekinthetők abban a tekintetben, hogy a TCT funkciót, trombocitadús plazmában és teljes vérben párhuzamosan monitoroztuk, a teljes hospitalizációs fázis alatt.

Esetünkben lényeges különbséget tapasztaltunk a teljes vérben és a trombocitadús plazmában mért aggregábilítás között. Vizsgálataink alapján azt a következtetést vontuk le, hogy izolált trombocitákon az aggregáció gátló szerek hatékonyságát specifikusan a TCT-re vonatkozóan tudjuk tesztelni, teljes vérben pedig, a vér más sejtes elemeinek és a környezet (a vérplazma elemei, enzimek, antioxidáns és prooxidáns plazmaproteineknek) trombocita funkcióra gyakorolt moduláló hatását vizsgálhatjuk.

Vizsgálataink alapján jól látható, hogy az alkalmazott aggregáció gátló terápia kuratív hatása a trombociták szintjén mindkét betegcsoportban érvényesült, de teljes vérben ez a gátló hatás már nem volt kimutatható. Az így végzett vizsgálatok alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy az **Akut** csoport esetében a teljes vérben mért trombocita aggregáció fokozódást elsősorban nem az aggregáció gátló terápia elégtelen volta okozta. A két preparátum között az a lényeges különbség, hogy az egyikben az összes sejtes véralkotó, míg a másikban csak a trombocita volt jelen. Eredményeinkben az volt a meglepő, hogy amíg a PRP-ben mért értékek megfelelő aggregáció gátlást mutattak mindkét betegcsoportban, addig az **Akut** csoportba tartozó betegek teljes vérében mind az ADP-vel mind a kollagénnel indukált aggregációban szignifikáns és nagymértékű aggregáció fokozódást tapasztaltunk egy héttel a műtét után.

A jelenség hátterében, az antioxidáns prooxidáns egyensúly zavara állhat, hiszen a teljes artériás elzáródást követő hosszú iszkémia, majd a rákövetkező reperfüzió a fennálló krónikus betegséggel együtt hatalmas stresszt jelent nem csak az érintett végtag, hanem az egész szervezet számára. A fehérvérsejtszám az **Akut** csoportban minden vizsgált időpontban a kóros érték határán volt, de az **Elektív** csoportban is mértünk magas értékeket, pl a műtét után 24 órával. Az **Akut** csoportban, a teljes vérben mért szabadgyök produkció valamennyi mért és számított paramétere azt mutatta, hogy már a műtét előtti mintában, a PMA hozzáadást követően a **Kontroll** csoportban mérthez képest jelentősen fokozódott a válaszkészség. A reakcióidő szignifikáns csökkenése, a gyöktermelési görbe felszálló szárának fokozott meredeksége, a fehérvérsejtek oxidatív ágensek iránti érzékenysége mind a fokozódását jelezte.

Ezt a jelenséget, sokkal kisebb mértékben az **Elektív** csoportban is tapasztaltuk, a maximális szabadgyök produkció tekintetében. Feltételezzük, hogy az általunk mért PMA-val indukált szabadgyök produkció orozslánrészét a fehérvérsejtek NADPH oxidáz enzime termeli. A fokozott szabadgyök produkció azonban nem egyedül felelős az antioxidáns prooxidáns egyensúly megbomlásáért. Fontos szerep tulajdonítható a SOD enzim aktivitásában bekövetkező jelentős csökkenésnek, mindkét betegcsoportban, már a műtét előtt is. Az **Akut**

csoport értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak, nem csak a **Kontroll**, hanem az **Elektív** csoportban mérthez képest is, a műtét hatására, pedig ez az alacsony érték még tovább csökkent. A SOD-szint kismértékű csökkenését az **Elektív** csoportban is megfigyelhettük 24 órával a műtét után, de ez a kiindulási értékhez képest nem, csak a kontroll csoport értékeihez képest volt szignifikáns.

Vizsgálataink alapján valószínűnek látszik, hogy a SOD deficienciencia szerepet játszik a szabadgyök produkció jelentős fokozódásában, és az **Akut** csoportban a műtét után egy héttel tapasztalható fokozott aggregabilitásban. Fontos itt megemlíteni azt a legújabb megfigyelést, hogy a magyar lakosság diabéteszes populációja körében a kataláz enzim olyan mutációját mutatták ki, amely az enzim elégtelen működését okozza. Pipinos és munkatársai pedig perifériás artériás érbetegek gastrocnemius izmában irták le a kontrollhoz képest szignifikánsan alacsonyabb SOD aktivitást.

A prooxidáns környezet hatásaként aktiválódott lipid peroxidáció mértékét általában a keletkezett MDA mennyiségével jellemezzük. Esetünkben ez a marker vörösvértest hemolizátumban és szérumban eltérően viselkedett. Hemolizátumban az **Akut** csoport vörösvérsejtjeinek MDA szintje nem különbözött a **Kontroll**tól, és minden vizsgált időpontban szignifikánsan alacsonyabb volt, az **Elektív** csoportban mért értéknél. A plazmában mért érték viszont szignifikánsan magasabb volt az **Akut** csoportban, mint a **Kontroll** és **Elektív** csoportban. Ennek az ellentmondásnak a feloldására próbáltunk összefüggést keresni más, vörösvértestekkel kapcsolatos egyéb paraméterek változásaival. A vörösvérsejtszámban nem találtunk szignifikáns különbséget a három csoport között, és a hemoglobin koncentráció is csak a műtét után 24 órával mutatott kismértékű, bár szignifikáns csökkenést az **Akut** csoportban. A jelenség hátterében a vörösvértest membrán foszfolipid/koleszterin arányának megváltozását, valószínűsítjük.

Irodalmi adat, hogy a hosszan fennálló ateroszklerózis hatására a lipid membránok struktúrája átépül, kevesebb többszörösen telítetlen zsírsavat tartalmaz, és rigidebbé válik.

Így feltevésünk szerint a MDA, mint a többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációjának nyomjelzője, ezekben az esetekben „ál negatív” eredményt ad, mivel a membránban már nincs olyan mennyiségű többszörösen telítetlen zsírsav, melynek a peroxidációja kimutatható lenne. A plazma MDA szintje mindkét betegcsoportban magasabb volt, mint a **Kontroll** csoportban. Míg a műtét után az **Elektív** csoportban csak átmeneti emelkedést tapasztaltunk, addig az **Akut** csoportban még egy hét múlva sem rendeződött a plazma MDA szintje. A plazmában mért fokozott lipid peroxidáció szintén fontos komponens lehetett a teljes vérben mért kórosan magas aggregációban.

Az antioxidáns védelem két fontos komponense, az intracelluláris GSH és a plazmában levő szulfhidril csoportok összessége, különösen az albumin –SH-csoportjai. Műtét előtti szintjük nem különbözött a három csoportban. A műtét beavatkozás azonban átmeneti, kismértékű, ám szignifikáns csökkenést okozott mindkét paraméter esetében. Irodalmi adatok igazolják, hogy az inhalációs narkotikumok fokozzák az oxidatív stresszt, és bizonyos helyi érzéstelenítő szerek metabolizmusuk során befolyásolhatják a GSH szintet. A sebészi trauma maga is csökkenti a GSH-szintet humán vázizomban

Az állatkísérletek és humán vizsgálatok szerint az érsebészeti beavatkozások I/R károsodást, a keringő sejtek (elsősorban neutrofilek) aktivációját és gyulladást okoznak indítanak el nem csak a beavatkozás helyén, hanem az egész szervezetben. A beavatkozások többsége szklerotikus érrendszert érint, gyakran diabétesz mellitusz, és hipertónia jelenlétével is számolni kell. Ezek az állapotok mind fokozott szabadgyök kiáramlással járnak, amit a sebészeti beavatkozás okozta I/R sérülés csak tovább fokoz.

Az aktivált trombocita döntő szerepet játszik az ateroszklerózis kialakulásában és valószínűleg fokozza az érsebészeti beavatkozások kockázatát is. Ezzel együtt kevés olyan adat áll rendelkezésre, ami magyarázná a betegség rossz prognózisát. Néhány ilyen támpont,

a komplement rendszer reperfüzió alatti aktiválódása, a leukocyta-TCT interakció, és a fokozott endotelin kiáramlás.

Jelen vizsgálataink eredményei az antioxidáns prooxidáns egyensúly megbomlására hívják fel a figyelmet, melynek legfőbb következménye, különösen hosszan fennálló iszkémia esetén, hogy a hatékony, izolált trombociták szintjén kimutatható TCT aggregáció gátlás ellenére is fokozott TCT aggregációs készséggel kell számolnunk.

A TCT aggregáció gátlása fontos, és hasznos a súlyos komplikációk elkerüléséhez, de a többi keringő sejt és a környezet állapotában beállott változásokat is figyelembe kell venni, mint amilyen a háttérben permanensen zajló, és az idő múlásával egyre fokozódó szabadgyök-produkció, a kórosan alacsony SOD szint, melyet a lipid peroxidáció állandósult, megemelkedett szintje is súlyosbít. A fokozott MPO aktivitás, a gyulladással járó folyamatok felerősödését jelzi. Mindezek együtt olyan környezetet teremthetnek, melyek a trombusképződés és reokklúzió felé vihetik el a folyamatokat.

4. A TROMBOCITA FUNKCIÓ ÉS AZ OXIDATÍV STRESSZ MONITOROZÁSA DIABÉTESZES PERIFÉRIÁS ÉRBETEGEKEN

4. 1. Bevezetés

Napjainkban az egészségügyi világszervezet, a WHO, két fő formáját különbözteti meg a diabétesz mellitusnak. Ha a magas vércukorszint oka a hasnyálmirigy Langerhans szigeteiben levő β -sejtek destrukciója és elégtelen inzulin termelése, mely lehet veleszületett, és/vagy autoimmun reakció miatti elégtelenség, akkor 1-es típusú (T_1DM) diabéteszről beszélünk. A diabéteszes betegek 10%-át teszi ki ez az abszolút inzulinhiánnyal járó betegség. Ha a hiperglikémia a nyugati életstílus és táplálkozási szokások, valamint genetikai hajlam együttes következményeként alakul ki, és inzulin rezisztenciával jár együtt, akkor 2-es típusú diabéteszről (T_2DM) van szó.

A T_2DM heterogén, multifaktoros, poligenetikus betegség, melyet az inzulin szekréció elégtelensége, relatív inzulin hiány és inzulin rezisztencia jellemez, és magas vércukorszinttel párosul. Jellemzője még a vérplazma magas szabadzsírsav (FFA) szintje és gyakran jár együtt hipertóniával. A T_2DM betegség megjelenése napjainkban csaknem eléri a járvány szintjét. Ha a jelenlegi trend nem változik, 2025-re több mint 300 millió diabéteszes beteg él majd a Földön.

A diabétesz mellitus önálló rizikó tényezője a kardiovaszkuláris morbiditásnak és mortalitásnak. A diabétesz mikroangiopátiához köthető szövődményei (nefropátia, retinopátia, neuropátia) mellett a makroangiopátiás szövődmények legtöbbször, mint amilyen a koszorúerek, a nyaki verőerek és a perifériás artériák betegségei, egyre jobban előtérbe kerülnek, mivel legjobban ezek az érterületek vannak kitéve az ateroszklerózis károsító hatásának. Míg a mikroangiopátiára javítólag hat a szigorú glikémiás kontroll, addig erre a nagyerek tekintetében nincs egyértelmű bizonyíték.

Epidemiológiai evidencia a diabétesz mellitus és a PAD társulása. A diabétesz jelenlétének időtartama korrelál a PAD súlyosságával. A diabéteszes betegek körében gyakoribb az infrapoplitalis artériás okklúzió, és náluk az intavaszkuláris kalcifikáció is súlyosabb, mint a nem diabéteszes betegeknél. A diabétesz jelenléte férfiakban 3,5-szörösére, míg nőkben 8,6-szorosára növeli az intermittáló klaudikáció gyakoriságát, és a végtag amputáció is gyakoribb diabéteszes, mint a nem diabéteszes betegeknél. Egyes szerzők szerint a diabéteszes betegek alsóvégtagi amputációjának relatív rizikója a nem diabéteszes populációhoz képest 12,4 (95%, 10,9-14,9), és 65 év felett ez a szám csaknem megduplázódik.

Hosszú évekbe telik, amíg az inzulin rezisztens állapotból kialakul a T₂DM, mivel az inzulin rezisztenciát a hasnyálmirigy fokozott inzulintermeléssel még kompenzálni tudja. A hiperinzulinémia árán még évekig fenntartható a normális vércukorszint, melynek nyomán kompenzált inzulinrezisztencia alakul ki, ami végül a hasnyálmirigy fokozatos kimerülését követően a metabolikus eltérések megjelenésétől 10-12 év is eltelhet, mire a betegséget diagnosztizálják. Ilyenkor már csak a kialakult diabéteszt lehet detektálni, ekkorra általában már valamilyen szövődmény is jelen van, leggyakrabban a neuropátia. A diabétesszel együtt járó hiperglikémia talaján kifejlődnek a mikroangiopátiás szövődmények (neuropátia, retinopátia, nefropátia és erektilis diszfunkció), melyek kialakulásában nagy szerepet játszik a redukáló monoszacharidok és az amino csoportot tartalmazó makromolekulák között lezajló, Louis Camille Maillard által 1912-ben leírt, nem enzimatisz glikoziláció, és a glükóz autooxidációja. Mindkét esetben nagy mennyiségű oxigén eredetű szabadgyök képződik. Míg az inzulinfüggő szövetek nem jutnak megfelelő tápanyaghoz, addig az inzulintól független módon metabolizáló szövetekben (retina, szemlencse, endotélium és az idegek), a fokozott glükóz expozíció hatására megnő az intracelluláris szorbitol és fruktóz szint, mely ozmotikus stresszt jelent a sejt számára. Ennek oka, a magas glükóz szint mellett aktiválódó alternatív cukorlebontási út két kulcsenzimének (aldóz redukáz és a szorbitol dehidrogenáz) fokozott működése. Ugyanakkor az aldóz redukáz enzimnek a túlműködése fokozott szabadgyök produkcióval is jár, mivel kofaktorként ugyanazt a nikotinamid adenin dinukleotid fosztátot (NADPH-t) használja, melyet a GSH regenerációját végző glutation redukáz, és az endotélium függő simaizom relaxációért felelős NO-szintáz. A magas vércukor- és szabadzsírsav-szint számos módon fokozza a szabadgyök produkciót. Csökkentik a NO biológiai hozzáférhetőségét és a prosztaciklin szintézist, ugyanakkor fokozzák a lipoxigenáz, a ciklooxygenáz (COX) és a NADPH oxidáz aktivitást, ami mitokondriális diszfunkcióhoz vezet.

Az endotélium, a szemlencse, a neuronok, és a **vérlemezkék** is az inzulintól független módon veszik fel a cukrot, működésük szabályozásában mégis alapvető szerepet játszik az inzulin. A szénhidrát, és lipidanyagcserére gyakorolt hatásán kívül az inzulin befolyásolja a simaizom tónust az angiogenezist és a hemosztázist is. Direkt vazodilatátor hatását sokan vitatják, bár a vázizom nutritív ereire gyakorolt hatása bizonyított. A vázizomban az inzulin nem csak a véráramlást, hanem a vértérfogatot is növeli, így valódi vazodilatátor hormonnak tekinthető. Az inzulin vazodilatátor hatása mellett, bizonyos körülmények között vazokonstriktor hatást is kifejthet. Az előbbit eNOS – függő, az utóbbit endotelin függő módon, valamint a MAP kináz rendszeren keresztül érvényesíti. Az inzulin trombocita aggregációra gyakorolt hatása mögött a cAMP és cGMP fokozó hatás áll, mely ép endotélium esetén az NO produkció fokozódásához vezet, mely aggregáció gátló hatást eredményez, és a felszabaduló vazoaktív anyagok a simaizom relaxációhoz is hozzájárulnak

4. 2. Anyagok és módszerek:

4. 2. 1. Betegek

Vizsgálatainkba a Baranya Megyei Kórház perifériás érbeteg ambulanciáján megjelent betegek közül (összesen 46 beteg, a következő megoszlásban: 24 T₁DM (18 férfi, 6 nő); átlagéletkoruk 69,0 ± 2,3 év), valamint 22 T₂DM (18 férfi, 4 nő; átlagéletkoruk 65,7 ± 3,7 év)) beteget vontunk be. Egészséges kontrollként 11 anonim véradó vérért használtuk (8 férfi, 3 nő; átlagéletkoruk 33,0 ± 6,7 év). Valamennyi beteg és önkéntes véradó írásban egyezett bele a vizsgálatok elvégzésébe.

Antidiabetikus kezelésként a T₁DM betegek inzulint kaptak, pontosan meghatározva az alkalmazás körülményeit. A T₂DM betegek, két kivétellel, akik előrehaladott diabéteszük miatt inzulint kaptak, kombinált orális antidiabetikus terápiában részesültek. Aggregációgátlót valamennyi beteg kapott. Antikoaguláns szerként a T₁DM csoportban 4 beteg Syncumart, 14 beteg, pedig alacsony molekulatömegű heparint (LMWH) kapott. A T₂DM csoportban aggregációgátlót valamennyi beteg szedett. Antikoaguláns szerként a T₁DM betegek közül 4 Syncumart, 10 beteg, pedig LMWH kezelést kapott. A betegcsoportok gyógyszerelésében alapvető különbség csak az antidiabetikus terápiában volt. A társbetegségek aránya a két csoportban megegyezett, és a dohányosok aránya sem különbözött szignifikánsan.

4. 2. 2. Módszerek:

Az alkalmazott módszerek megegyeztek a 3.3. pontban leírtakkal, azzal a különbséggel, hogy a diabéteszes betegek és az egészséges önkéntesek esetében vérvételre csak egyszer került sor.

4. 3. Statisztika:

Eredményeinket a mérések átlaga \pm SD formátumban adtuk meg. A minták összehasonlítására Student-féle egy- és kétmintás t-tesztet alkalmaztunk. A különbséget akkor tekintettük szignifikánsnak, ha a p érték kisebb volt, mint 0,05.

A görbe alatti területeket Microcal/Origin 6.0 professional program segítségével számítottuk ki. Ugyanezzel a programmal vizsgáltuk a vércukorszintek és a teljes vérben ADP-vel, illetve a kollagénnel indukált aggregáció görbe alatti területei közötti korrelációt.

4. 4. Eredmények

4. 4. 1. *A perifériás diabéteszes artériás érbetegek klinikai kémiai vizsgálatának eredményei*

A betegek vércukor, triglicerid értékei lényegesen magasabbak voltak a normálértéknél. Az átlagos koleszterin szint a normálértéken belül volt, bár a csoport betegei között a normálértéknél magasabb értékek is előfordultak. A fokozott aggregabilitás rizikótényezőjeként kell említenünk a mindkét csoportban megemelkedett fibrinogén szintet is, mely az általunk vizsgált betegek esetében is magasabb volt a normál értéknél.

A T₁DM csoportban volt a legmagasabb a fehérvérsejtszám ($11,2 \pm 1,3 \times 10^4$ sejt/ μl^3). Értéke szignifikánsan különbözött a Kontroll csoportban mérttől ($6,71 \pm 0,32 \times 10^4$ sejt/ μl^3), ($p < 0,01$). A T₂DM csoportban a fehérvérsejtszám $8,92 \pm 0,99 \times 10^4$ sejt/ μl^3 volt, és ez az érték nem különbözött szignifikánsan a másik két csoportban mérttől.

4. 4. 2. *A trombocita aggregáció vizsgálatok eredményei izolált trombocitákon*

Megközelítőleg azonos trombocitaszám mellett jelentős különbségeket tapasztaltunk a betegcsoportok és a **Kontroll** csoport között az 5 μM ADP-vel indukált aggregációban.

A betegcsoportokban az ADP-vel indukált aggregáció mértéke, és az aggregációs görbe felszálló szárának meredeksége alacsonyabb volt, mint a kontroll csoportban mért. A 10 μM ADP-vel indukált aggregáció ezzel csaknem teljesen megegyező eredményre vezetett. Megítélésünk szerint mindez az aggregáció gátló terápia hatékonyságának köszönhető.

A kollagénnel indukált aggregáció is szignifikánsan alacsonyabb volt a két betegcsoportban, mint a **Kontroll** csoportban ($p < 0.01$) mért. A T₂DM csoportban a maximális aggregáció és a végső aggregáció magasabb értéket mutatott, mint a T₁DM csoportban, de a különbség nem volt szignifikáns, az aggregációs görbe felszálló szárának meredeksége esetében tapasztalt különbség viszont szignifikánsnak bizonyult.

4. 4. 3. Trombocita aggregáció vizsgálatok teljes vérben

Az impedancia mérésen alapuló aggregáció mérési technika kevésbé használatos, szemben az izolált trombocitákon végzett vizsgálatokkal. Saját méréseink azonban arra irányították rá a figyelmet, hogy a két mérés párhuzamos alkalmazása hasznos, új eredményeket hozhat.

A teljes vérben ADP-vel indukált aggregációban azt a fajta csökkent aggregabilitást, amit izolált trombocitákon mértünk, már nem tapasztaltuk. Az ADP-vel indukált aggregáció átlaga a két betegcsoportban az induktor hozzáadása utáni 6. percben csaknem a duplája a kontroll csoportban mértnek. A különbség azonban statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak. Ezért minden esetben meghatároztuk a görbe alatti területeket

A görbe alatti területek (AUC) értékei alapján szignifikáns különbséget találtunk a kontroll és a diabéteszes betegek ADP-vel indukált aggregációja között. A két diabéteszes csoport aggregációja azonban nem különbözött egymástól.

A kollagén szinte azonos mértékű aggregációt indukált a T₂DM és a Kontroll csoportban. A T₁DM csoportban az aggregáció mértéke meghaladta a Kontroll és T₂DM csoportban mért értékeket.

A vizsgálatok során korrelációt számoltunk a teljes vérben detektált görbe alatti területek és a betegek vércukor értékei között mind az ADP-vel, mind a kollagénnel indukált aggregáció esetében.

Szignifikáns lineáris korrelációt találtunk T₁DM betegek teljes vérében az ADP-vel indukált aggregáció során detektált görbe alatti terület és a betegek vércukorértékei között ($p < 0,005$, $R^2 = 0,6551$, $y = 3,338x - 11,378$).

A többi csoportban ilyen összefüggést nem találtunk.

4. 4. 4. Prooxidánsok vizsgálatának eredményei:

- PMA-val indukált szabadgyök termelés:

A kontroll csoportban a fehérvérsejtszámra korrigált szabadgyök produkció minimálisnak bizonyult ($9,072 \pm 2,36$ AU/ 10^3 fehérvérsejtszám). A legintenzívebb szabadgyök termelést a T₁DM csoportban mértük. A T₁DM csoportban a gyöktermelés maximuma hússzorosa volt a kontroll csoportban mértnek, míg a T₂DM csoportban ez az érték csak ötszörös volt.

A betegcsoportokban a gyöktermelés indukálása és keltkezése között eltelt idő rövidült, és a gyöktermelési görbe felszálló szárának meredeksége nőtt a Kontroll csoportban mérthez képest, de a különbségek nem bizonyultak statisztikailag szignifikánsnak.

- MDA szint hemolizátumban:

A három csoport MDA szintje között statisztikailag szignifikáns különbség nem volt.

4. 4. 5. Antioxidánsok vizsgálatának eredményei:

A klinikai vizsgálatok második sorozatában az antioxidáns rendszert a SOD és GSH értékekkel jellemeztük.

Mindkét betegcsoportban csökkent SOD aktivitást tapasztaltunk, mely különösen a T₁DM csoportban volt kifejezett. A diabétesz által okozott szisztémás oxidatív stressz és oxidatív károsodás kialakulásában fontos komponens az elégtelen SOD működés, mely a mi vizsgálatunkban is megmutatkozott. Vizsgálataink szerint a SOD aktivitás csökkenése a diabétesz típusától független. Egyes kutatók szerint a patológiás helyzetekben tapasztalható elégtelen SOD működés hátterében a kofaktor hiány is szerepet játszik.

A T₁DM csoport GSH szintje kis mértékben, de szignifikánsan alacsonyabb, mint a T₂DM csoportban mért. A Kontroll és a T₂DM csoportban a GSH szint nem különbözött.

4. 4. 6. Eredmények összefoglalása és következtetések:

A diabétesz mellitusz legfőbb jellemzői az éhgyomri hiperglikémia, és az ateroszklerotikus szövődmények magas kockázata, mely a koszorúsereket, az agyi keringést és a perifériás ereket egyaránt érinti. A diabétesz mellituszt protrombotikus állapotként is jellemzik. Számos közlemény emeli ki az aggregációgátló terápia fontosságát az iszkémiás események elkerülésében, mégis a diabéteszes betegek a mai napig fokozott rizikójú csoportot képeznek az iszkémiás események tekintetében. Evidenciákat találunk arra nézve is, hogy a fokozott trombózishajlam már az inzulinrezisztencia állapotában is jelen van. Hátterében a fibrinolitikus faktorok csökkenése és a fibrinolízis inhibitorok koncentrációjának növekedése áll. A XII-es és VII-es koagulációs faktorok fokozott mennyisége szintén asszociálódik az inzulin rezisztenciával.

A plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) szintjének növekedését azonban nem a hiperglikémia, hanem a magas triglicerid szint szabályozza a PAI-1 gén promoter régióján keresztül mediálódik. Az endotélium diszfunkció, mely csökkent NO produkcióval és elégtelen NO-mediált vazodilatációval jár, szintén kíséri az inzulin rezisztenciának. Hátterében az elégtelen NO produkció és prosztaciklin szintézis áll. Ezekon felül a vérlemezkék rezisztenciája is nő (más okból) az endotélium aggregációgátló hatásával szemben. Így az endotélium és a trombociták felől is a trombusképzést támogató mechanizmusok kerülnek előtérbe. Ugyanakkor bizonyos véralvadási faktorok szintje is emelkedett.

A hiperglikémia és az általa okozott nem enzimatisz glikoziláció befolyásolja a fibrin molekulák struktúráját és funkcióját is, mely denzebb és a fibrinolitikus stimuluskkal szemben rezisztensebb alvadékokat eredményez.

Az Aszpirin a trombózis profilaxisában leggyakrabban és legeredményesebben használt antitrombotikus gyógyszer, mely irreverzibilisen gátolja a TXA₂ keletkezését. A TXA₂ keletkezése azonban nem az egyetlen mechanizmus, ami a vérlemezke aggregációt indukálja. A magas ADP, adrenalin koncentráció, és a fokozott véráramlási sebességből adódó nyíróerő szintén trombocita aggregációhoz vezet. Így nem meglepő, amikor olyan adatokat találunk, hogy az Aszpirinnel kezelt betegeknek csak 25%-a válaszol megfelelő módon a terápiára.

A vizsgálatainkba bevont diabéteszes perifériás artériás érbetegeket a Baranya Megyei Kórház Érsebészeti Osztályának ambuláns betegek közül random módon választottuk.

Jelen vizsgálatainkat úgy folytattuk le, hogy a betegek a megszokott gyógyszereik hatása alatt álltak. Aggregációgátlót (mono-, vagy kombinációs terápiában) valamennyi beteg szedett, valamint mindkét diabéteszes csoportban a betegek több mint fele antikoaguláns terápiában is részesült. A trombocitafunkció heparin jelenlétében történő változásairól több mint 30 évre visszamenőleg találunk meglehetősen ellentmondásos közléseket. Egészséges önkénteseken Heinrich és munkatársai kimutatták, hogy a frakcionálatlan heparin aktiválja a trombocitákat, míg az alacsony molekulatömegű heparin aggregáció fokozó hatása 3000 dalton alatt megszűnik.

Mi tulajdonképpen az alkalmazott terápia hatékonyságát monitoroztuk izolált trombocitákon és teljes vérben.

A beválogatott betegek metabolikus státusát jellemezte, hogy, éhgyomri vércukor, és triglicerid szintjük meghaladta a normálértékeket. Az izolált vérlemezkéken végzett vizsgálataink jól demonstrálták, hogy az aggregáció gátló terápia a trombociták szintjén hatékonynak bizonyult, hiszen mind az ADP-vel, mind a kollagénnel indukált aggregáció tekintetében szignifikáns aggregáció gátlást detektáltunk a Kontroll csoporthoz képest, bár a csökkenés mértéke a T₂DM csoportban kisebb mértékű volt, mint a T₁DM csoportban. Az aggregációs görbe felszálló szárának meredeksége pedig szignifikánsan magasabb volt a T₂DM csoportban, mint ahogy azt a T₁DM csoportban detektáltuk.

Teljes vérben végzett aggregáció méréseink alapján azonban nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni a három csoport között, sem az ADP-vel, sem a kollagénnel indukált aggregáció tekintetében, így az aggregáció gátló terápia hatékonysága teljes vérben nem volt igazolható.

A mai napig is vita övezi azt a kérdést, hogy van-e direkt asszociáció a vércukorszint, és a trombocita aggregáció között. Jelen vizsgálatunkban pozitív szignifikáns korrelációt mutattunk ki az ADP-vel indukált aggregációs görbe alatti terület és az éhgyomri vércukorszint között, T₁DM betegeknél.

A kapott eredmények így arra engednek következtetni, hogy a teljes vérben mért fokozott aggregábilásért nem az aggregáció gátló terápia elégtelen volta a felelős, hiszen a trombociták szintjén megfelelő aggregáció gátlást mutattunk ki. Sokkal inkább feltételezhető a megváltozott környezet szerepe az aggregáció fokozódásban. Vallas J és munkatársai vizsgálták az aszpirin rezisztencia hátterében zajló folyamatokat és megállapították, hogy a vérlemezkék reaktivitása vaszkuláris betegek és iszkémiás szívbetegek vörösvértesteinek jelenlétében fokozódik.

A megemelkedett fehérvérsejt szám, a fehérvérsejtek fokozott szabadgyök termelése szintén szerepet játszhat az aggregáció gátlás mindkét betegcsoportban detektált hiányának. Csiszár és munkatársai 2002-ben leírtak egy nem enzimikus, oxidáció-függő szintézis utat, mely során az arachidonsavból a TXA₂-höz hasonló vazokonstriktor és proaggregációs hatású izoprosztán vegyület keletkezik. A szerzők feltételezik, hogy a COX-tól független izoprosztán szintézis felelős bizonyos mértékig az aszpirin rezisztenciáért.

A reaktív oxigén intermedierek az LDL oxidációja révén is fokozni képesek a TCT aggregációt. A SOD általunk is detektált csökkent aktivitása, mely a fehérvérsejtek ROS termelését már nem tudja semlegesíteni, szintén hozzájárul az aggregáció fokozódásához. Ugyancsak ehhez járul hozzá a plazma magas fibrinogén szintje a másodlagos hemosztázis aktivitás fokozódása által, és valószínűleg számos más általunk nem vizsgált faktor is közreműködik a diabéteszes perifériás érbetegek teljes vérben mért fokozott aggregábilásához, és általában a betegség rossz prognózisához.

Különösen fontosnak tartjuk ebben a tekintetben a T₁DM csoportban mért különösen magas ROS produkciót, mely nem különbözött a súlyos, hosszan fennálló végtagiszkémia miatt rekanalizációs műtétre került betegcsoportban mértől (Akut csoport), akiknek vizsgálatát a jelen dolgozat első része foglalja össze.

A perifériás okkluzív betegségek legfőbb klinikai tüneteinek (klaudikáció, a nyugalmi fájdalom és a szöveti károsodás) hátterében a beteg, beszűkült artériák lelassult véráramlása, és a szövetek rossz oxigenizációja következtében kialakult mitokondriális diszfunkció áll, melynek következménye az elégtelen ATP és fokozott szabadgyök produkció, valamint a lokális gyulladási reakció, melyet a hiperglikémia csak súlyosbít.

Diabéteszes betegekben számos védőfehérje hiányát, vagy elégtelen működését mutatták ki. Ilyen például a hősokk protein 70 (HSP-70) expressziója, és a jelen dolgozatban is kimutatott SOD aktivitás csökkenés. A SOD működés helyreállításán és a HSP-70 szint expressziójának fokozása révén ható hidroxilamin származék, az Arimoclomol ezen az úton fejti ki protektív hatását a diabétesz számos szövődményével szemben, mint amilyen a neuropátia, retinopátia és az inzulin rezisztencia. Experimentális modellekben SOD mimetikus hatású tempol védelmet nyújt a diabétesz okozta vesekárosodással szemben genetikusan hipertóniás, diabéteszes patkányokban.

A vérlemezkék védelmében az érfal simaizomzatban és a plazmában jelenlevő HSP-20 vesz részt, melynek *in vivo* és *in vitro* is jelentős aggregációgátló hatása van. Jelen vizsgálatunkkal rámutattunk arra, hogy a trombociták rendkívül bonyolult kölcsönhatásban vannak környezetükkel. A trombocitákkal kapcsolatban levő sejtek állapotváltozásai jelentősen befolyásolják működésüket, ugyanakkor a trombociták is hatnak autokrin és parakrin módon egymásra, a környezetükben levő keringő sejtekre és az érfalat felépítő sejtek működésére. Mindezek fényében úgy érezzük, hogy jelenleg érvényben lévő (elsősorban Aszpirin alapú) aggregáció gátló terápia átgondolásra szorul.

5. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ EREDMÉNYEI:

1. Elsőként mértük perifériás artériás érbetegek trombocita funkcióját és antioxidáns / prooxidáns státusát párhuzamosan sürgősségi és elektív revaszkularizációs érműtétek perioperatív időszakában a műtétet követő első hét végéig. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az izolált trombocitákon mért aggregáció gátlás még nem jelent védettséget, mert a vér más keringő sejtjeinek moduláló hatása felülírja az aggregációgátló terápia hatását.

2. Kimutattuk, hogy sürgősségi érműtétek után egy héttel jelentős és statisztikailag is szignifikáns aggregáció fokozódás lép fel, mely mind az ADP-vel mind a kollagénnel indukált aggregációban megnyilvánul. Az ADP-vel indukált aggregáció esetében az aggregáció mértéke az esetek többségében meghaladja a normál tartomány felső határát. A jelenséget a szabadgyök termelés permanens fokozódása és az antioxidáns enzimek (elsősorban a SOD) aktivitásának szignifikáns csökkenése kíséri.

3. Kimutattuk, hogy a revaszkularizációs érműtétek perioperatív időszakában, hogy a hosszan fennálló iszkémia elsősorban a SOD aktivitást meríti ki, és a kritikus végtagszékémia miatt rekonstrukciós érműtetre kerülő perifériás érbetegek keringő sejtjeinek PMA-val indukált szabadgyök produkciója folyamatosan nő. Kimutattuk továbbá, hogy a hosszan fennálló iszkémia után revaszkularizációs műtetre kerülő betegek esetében a keringés helyreállítása nem jár együtt az antioxidáns / prooxidáns egyensúly helyreállításával, hiszen a műtétet követően még egy hétig a PMA-val indukált szabadgyök produkció lényegesen meghaladja a Kontroll csoportban mért értéket, és az antioxidáns enzimek aktivitása sem áll helyre.

4. Elsőként monitoroztuk diabéteszes, T₁DM és T₂DM, perifériás érbetegek trombocita funkcióját párhuzamosan teljes vérben és trombocitadús plazmában. Jelentős különbséget

találtunk a két betegcsoport között. Az ADP-vel indukált aggregációra, a teljes vérben mért görbe alatti területek alapján mindkét betegcsoport fokozottabb aggregációval válaszolt, mint a Kontroll csoport. Ezen kívül korrelációt mutattunk ki az éhgyomri vércukorszint és az ADP-vel teljes vérben indukált aggregációs görbék görbe alatti területei között. A Kollagénnel indukált aggregációra a T₁DM csoport érzékenyebb volt.

5. Diabéteszes perifériás érbetegeken először mutattunk ki szignifikáns és jelentős SOD deficienciát, mely a diabétesz típusától függetlennek bizonyult.

6. A PMA – val indukált gyöktermelést mindkét betegcsoportban a Kontroll csoporthoz képest szignifikánsan fokozottabbnak találtuk. Új eredménynek tekinthető, hogy ebben a tekintetben szignifikáns különbség mutatkozott a két diabéteszes betegcsoport között. A T₁DM csoport betegeinek szabadgyök produkciója több mint háromszorosa volt a T₂DM csoporténak.

6. ATÉMÁVAL KAPCSOLATOS PUBLIKÁCIÓK:

6. 1. Közlemények:

1. **Kürthy M**, Mogyorósi T, Nagy K, Kukorelli T, Jednákovits A, Tálosi L, Bíró K.
Effect of BRX-220 against peripheral neuropathy and insulin resistance in diabetic rat models.
Ann N Y Acad Sci. 2002 Jun;967:482-9. **IF: 1,682**
2. Róth E, Jancsó G., Szántó Z., **Kürthy M**.
Endogén adaptáció a diabétesz tükrében.
Metabolizmus 1. (3) 169-175. 2003
3. Arató E., Kollár L., **Kürthy M**., Jancsó G., Róth E., Merkli H., Pál E., Litter I.:
Az alsó végtagi revaszkularizációs szindrómáról.
Érbetegségek 2004; 11: 115-121.
4. Arató E, **Kürthy M**, Jancsó G, Kasza G, Rozsos I, Merkli H, Pál E, Kollár L, Róth E.
The revascularisation syndrome of the lower limbs
Perfusion 18 (5) 1-8 2005. **IF: 0.2**
5. Arató E, **Kürthy M**, Jancsó G, Sínay L, Fehér I, Kollár L, Róth E.
Monitoring of prooxidant-antioxidant state following limb revascularisation surgery
Journal of Vascular Research 43 (1): 45-45 2006. **IF: 2,61**
6. Arató E, **Kürthy M**, Jancsó G, Sínay L, Kasza G, Verzar Z, Benko L, Cserepes B, Kollár L, Róth E.
Oxidative stress and leukocyte activation after lower limb revascularization surgery
Magyar Seb. 2006 Feb;59(1):50-7.
7. Lantos J, Csontos C, **Kürthy M**, Ferencz S, Róth E: Monitoring of oxidative stress during treatment of burn injury.
Eur. Surg. Res. 2007; 39(S1):81. **IF: 0,755**
8. **Maria Kürthy**, Endre Arató, Gábor Jancsó¹, László Sínay, Zsófia Verzar, Barbara Cserepes, János Lantos, Sándor Ferencz, Szabolcs Bertok, Andrea Ferencz, Lajos Kollár, Elisabeth Roth
Duration of hypoxia influences platelet function due to free radical production in revascularization surgery of lower limb
Perfusion 2007; 20 (6) 187-194. **IF: 0,2**
9. Arató E, **Kürthy M**, Jancsó G, Sínay L, Kasza G, Menyhei G, Shafiei M, Varga Z, Bertalan A, Verzar Zs, Kollár L, Róth E
Az alsóvégtagi compartment szindróma kórtana és diagnosztikai lehetőségei
Magyar Sebészet, 2007; 6: 301-306
10. E. Arató, G. Jancsó, L. Sínay, **M. Kürthy**, J. Lantos, S. Ferencz, S. Horváth, M. Shafiei, G. Kasza, Z. Verzar, L. Kollár, E. Róth, G. Wéber and G. Menyhei
Reperfusion injury and inflammatory responses following acute lower limb revascularization surgery
Clinical Hemorheology and Microcirculation 2008 39. 79–85 **IF: 0,977**

11. Sinay L, Kürthy M, Horváth S, Arató E, Shafiei M, Lantos J, Ferencz S, Bátor A, Balatonyi B, Verzár Z, Süto B, Kollár L, Wéber G, Roth E, Jancsó G.
Ischaemic postconditioning reduces peroxide formation, cytokine expression and leukocyte activation in reperfusion injury after abdominal aortic surgery in rat model.
Clinical Hemorheology and Microcirculation 2008;40 (2):133-42. **IF: 0,977**

8. 2. A témával kapcsolatos absztraktok:

- 1. Kürthy M, Arató E, Jancsó G, Gasz B, Kollár L, Róth E**
A thrombocyták funkciója és az antioxidáns státusz vizsgálata akut verőér elzáródást követően.
Érbetegségek S1. 2005. 5.
- 2. Kürthy M, Arató E, Jancsó G, Lantos J, Fehér I., Kollár L, Róth E.**
Egyes és kettéstípusú diabéteszes perifériás érbetegek trombocita funkciója és szabadgyök termelése; in vitro inzulin hatása
Cardiologia Hungarica 35 Supplementum A. A23.
- 3. Kürthy M, Arató E, Jancsó G, Lantos J, Fehér I, Ferencz A, Róth E:**
Thrombocyte function and free radical production of type 1 and type 2 diabetic patients; the effect of insulin in vitro
Diabetologia 48. Supplement 1. A 411 2005. **IF: 5.337**
- 5. Kürthy M, Arató E, Jancsó G, Lantos J, Ferencz A, Fehér I, Róth E, Kollár L**
In vitro inzulin hatása 1-es és 2-es típusú, perifériás érszövődményekkel komplikált diabéteszes betegek trombocyták funkciójára és szabadgyök termelésére.
Érbetegségek 2005. Suppl. 2. 39.
- 6. Kürthy M, Arató E, Jancsó G, Lantos J, Cserepes B, Ferencz S, Roth E.**
Thrombocyte function following revascularisation surgery of lower limb
Eur. Surg Res. 38. S(1) (P41) 131. **IF: 0,706**
- 7. Kürthy M, Arató E, Jancsó G, Lantos J, Cserepes B, Ferencz S, Sinay L, Róth E.**
Thrombocyte function in the perioperative phase of acute and elective peripheral revascularisation surgery
Experimental and Clinical Cardiology 11. (3) A35. 256. 2006.
- 8. Kürthy Mária, Dr Arató Endre, Dr Jancsó Gábor, Dr Lantos János, Dr Ferencz Sándor, Dr Bertók Szabolcs, Dr Ferencz Andrea, Dr Cserepes Barbara, Dr Horváth Szabolcs, Prof Dr Kollár Lajos, Prof Dr Róth Erzsébet**
Az antioxidáns –prooxidáns státusz és a trombocita funkció monitorozása alsóvégtagi revaszkularizációs műtétek során.
Érbetegségek S1, 7. 2007.
- 9. Maria Kurthy, Endre Arato, Gabor Jancso, Barbara Cserepes, Janos Lantos, Sandor Ferencz, Szabolcs Bertok, Andrea Ferencz, Erzsébet Roth**
Thrombocyte function and oxidative stress markers in blood of type 1 and type 2 diabetic patients and healthy subjects: the in vitro effects of insulin
Diabetologia 50. S1 S298. 2007. **IF: 5,337**

- 10.** Arató E, **Kürthy M**, Jancsó G, Kasza G, Sinay L, Fehér I, Kollár L, Róth E.
Az antioxidáns prooxidáns státusz változása akut alsó végtagi revaszkularizációs műtéteket követően.
Magyar Sebészet 58. 279. 2005.
- 11.** **M Kürthy**, E. Arato, G. Jancso, J. Lantos, S. Ferencz, E. Bojtor, L. Sinay, L. Koller, E. Roth
Oxidative stress markers and thrombocyte function in type -1 and type-2 diabetic patients and in vitro effects of insulin
Journal of Vascular Research 45 (Suppl. 2) 85. 2008. **IF: 2,46**
- 12.** Rozsos I, Sinay L, Kasza G, Litter I, **Kürthy M**, Weisdorn R, Róth E, Kollár L
A diabetic foot szindrómás betegek hemorheológiai nyomomkövetése
Érbetegségek Suppl. 2. 38.2005.
- 13.** Arató E, **Kürthy M**, Jancsó G, Kasza G, Sinay L, Rozsos I, Kollár L, Róth E
Az oxidatív stressz szerepe az alsóvégtagi revaszkularizációs szindrómában
Érbetegségek 2005. Suppl. 2. 39.
- 14.** Lantos J, Csontos C, Kürthy M, Füredi R, Róth E.
The time course of leucocyte activation markers after burn injury.
Eur. Surg. Res. 38. S(1) (P45) 134 **IF: 0,706**
- 15.** Dr Sinay László, Dr Arató Endre, Dr Kasza Gábor, Dr Jancsó Gábor, **Kürthy Mária**, Dr Bertalan Andrea, Dr Verzár Zsófia, Prof. Dr Kollár Lajos
Mikrocirkuláció megítélése compartment szindrómában rekesznyomás mérésével és szöveti oxigénszaturáció meghatározásával.
Érbetegségek S1, 7. 2007.
- 16.** Dr Ferencz Sándor, **Kürthy Mária**, Dr Bertók Szabolcs, Dr Horváth Szabolcs, Prof Dr Róth Erzsébet, Prof Dr Wéber György
Érbetegségek progressziójának követése: trombocita aggregáció, szabadgyök termelés és antioxidáns enzimek kapacitásának mérése alsóvégtag amputált betegeknél.
Érbetegségek S1, 7. 2007.
- 17.** Dr. István Miklós, **Kürthy Mária**, Dr. Lantos János, Dr. Róth Erzsébet
Klinikai adatok, trombocitafunkciós vizsgálatok, valamint antioxidáns státusz elemzése orális antikoaguláns terápiában részesülő betegeknél. Érbetegségek S1, 7. 2007.
- 18.** Dr Lantos János, Dr Csontos Csaba, Dr Mühl Diana, **Kürthy Mária**, Dr Ferencs Sándor, Dr Róth Erzsébet
Fehérvérsejtek szabadgyök-termelésének és adhéziós molekula kifejeződésének vizsgálata égett és szeptikus betegeknél. Érbetegségek S1, 7. 2007.
- 19.** Sinay L, Arató E, Horváth Sz, **Kürthy M**, Bátor A, Németh G, Balatonyi B, Róth E, Kollár L, Jancsó G. Hasi aorta okklúziót követő korai intermittáló reperfüzió hatása a reperfüziós károsodásra kísérletes és klinikai modellen. Érbetegségek, 2007/Suppl 2; 16

20. Arató E, Sinay L, Kasza G, M Shafiei, Varga Z, Kollár L, **Kürthy M**, Jancsó G, Róth E. Alsóvégtagi rekonstruktív érműtétek során adott E-vitamin hatása a reperfüziós károsodásokra.

Érbetegségek, 2007/Suppl 2; 24

21. E. Arato, L. Sinay, **M. Kürthy**, G. Kasza, G weber, L. Kollar, E. Roth, Leukocyte activation and redox changes following aorto-bi-iliac bypass surgery 57th European Society for Cardiovascular Surgery Barcelona, Spain, April. 24-27. 2008. Interactive Cardio Vascular and Thoracic Surgery 7 (1) 2008.

22. J. Lantos, Cs Csontos, D Muhl, V. Foldi, S. Szentes, L. Bogar, **M. Kürthy**, G. Weber, E. Roth

Comparative study of phagocyte function in critically ill patients: respiratory burst and adhesion molecule expression

Journal of Vascular Research 45 (supplement 2) 96. 2008. **IF: 2,63**

A dolgozattal kapcsolatos közlemények összesített impakt faktora: **7,39**

A dolgozattal kapcsolatos absztraktok összesített impakt faktora: **17,18**

Kumulatív impakt faktor: 25,57

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS:

Hálás szívvel, és nagy szeretettel köszönöm Róth professzorasszonynak a munkám során nyújtott felbecsülhetetlen segítségét és támogatását, mely nem csak a szakmai kérdésekre, hanem minden létező problémámra kiterjedt.

Nagyon nagy szeretettel mondok köszönetet Dr Arató Endrének a Baranya Megyei Kórház főorvosának, és Dr Jancsó Gábornak, munkatársaimnak, akikről nyugodtan mondhatom, hogy a közös szakmai munka és az együttes gondolkodás során igazi jó barátaim lettek, amire nagyon büszke vagyok. Itt szeretném megköszönni Tóthné Fajtik Csilla fáradhatatlan, és lekiismeretes aszisztensi munkáját, mellyel nagymértékben hozzájárult a laboratóriumi munkák sikeréhez.

Szeretném megköszönni Wéber György professzor úrnak, aki Róth professzor asszonytól vette át az intézet vezetését, hogy lehetőséget adott a munka töretlen folytatásához.

Nagyon sok segítséget kaptam a Sebészeti Oktató és Kutató intézetben dolgozó valamennyi munkatársamtól, mégis szeretném kiemelni Dr Lantos János hasznos tanácsait, és segítségét, valamint Bakainé Matus Ilonának, titkárónknak az adminisztratív munkákban nyújtott segítséget.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni Férjemnek, fiaimnak és szüleimnek azt a sok szeretetet és türelmet, amivel támogatták munkámat és minden törekvésemet.